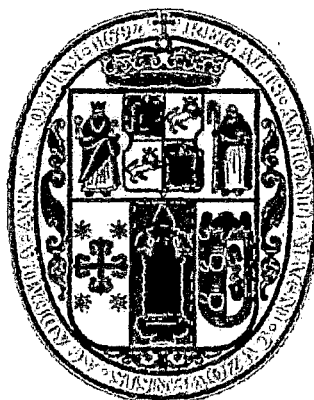


**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO  
ABAD DEL CUSCO**

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, FÍSICAS, MATEMÁTICAS, FARMACIA E  
INFORMÁTICA

CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIUROLITIÁSICO E INFLUENCIA EN  
LA FUNCIÓN RENAL DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL  
70 % DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. EN LITIASIS RENAL  
INDUCIDA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN”.**

**TESIS PRESENTADA POR:**

Br. LIZ SUIMER AMAO.

Br. DORIS RIMACHI DAZA.

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO.**

**ASESORA:**

M.Cs. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ.

**CUSCO – PERÚ**

**2013**

**TESIS AUSPICIADA POR EL CONSEJO DE INVESTIGACIÓN DE LA UNSAAC**

## DEDICATORIA

*A Nelly, mi madre, no he conocido el límite del inmenso amor, entrega y sacrificio que das día a día por nosotros, venciendo toda adversidad que la vida te ponga en frente. Eres para mi un gran ejemplo de lucha constante y valentía.*

*A Fernando, mi padre, desde niña observé la pasión y ternura con la que cultivabas cada flor de tu jardín, esperando ansiosamente que al fin un día florescan triunfantes. Así cuidas de nosotras 4, tus más preciadas flores, que hoy cual flor en capullo están listas para ver el mundo, esperando ser tu mas grande orgullo .*

*A mis hermanas: Azul , eres una fuente infinita de amor y ternura. Azucena mi ejemplo de fe y perseverancia . Anita, fragil y fuerte a la vez, cuidaste de nosotras siempre. Les debo a ustedes gran parte de lo que soy ahora.*

*A Carlos: Llegaste a mi vida para llenarla cada día de felicidad, amor, ternura y comprensión, soñar con un futuro juntos, hace que todo valga la pena.*

*Liz Suimer Amao.*

*A DIOS por ser la luz que guía mi camino, por darme fuerzas en los momentos más difíciles y por ser mi gran amigo.*

*A mis amados padres Eliceo R. y Anacleta D., por el apoyo incondicional y gran amor que me dan en todos los momentos de mi vida, gracias papitos los amo.*

*A mis queridos hermanos: David, Zenaida y Elvis, por su apoyo, comprensión y por tenerlos cuando más los necesito.*

*A mis tíos(as), primos(as) por la motivación que me brindan para seguir adelante.*

**DORIS**

## *AGRADECIMIENTOS*

*Estaremos eternamente agradecidas*

*A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Gracias por acogernos en sus aulas y hacer que cumplamos con esta gran meta.*

*Al Instituto de investigación de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Gracias por su apoyo y colaboración.*

*A la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica y a todos los docentes por la formación profesional que nos brindaron.*

*A nuestra estimada asesora la M.Cs. Carla del Carpio Jiménez, Gracias por brindarnos su apoyo, confianza y aliento en los momentos difíciles durante el desarrollo del presente trabajo de investigación.*

*A todos los docentes integrantes del jurado, por las revisiones realizadas para la buena elaboración y presentación del presente trabajo de investigación.*

*Finalmente, agradecer infinitamente a cada una de las personas y amigos que intervinieron en el desarrollo del presente trabajo, Gracias por el tiempo que nos regalaron, y por compartir sus experiencias y conocimientos.*

## ÍNDICE

Resumen.....	V
Abstract.....	VI
Introducción .....	VII
Presentación.....	VII

### CAPÍTULO I

#### GENERALIDADES

1.1 Planteamiento del problema.....	10
1.2 Formulación del problema de investigación .....	11
1.3 Objetivos.....	11
1.3.1 Objetivo general.....	11
1.3.2 Objetivos específicos.....	11
1.4 Justificación e importancia.....	12
1.5 Hipótesis.....	13

### CAPÍTULO II

#### MARCO TEÓRICO- CONCEPTUAL

2.1 Visión histórica .....	15
2.2 Antecedentes .....	16
2.2.1 En el ámbito internacional.....	16
2.2.2 En al ámbito nacional.....	31
2.3 Bases teórico científicas.....	32
2.4 Anatomía abdomino - pélvica de la rata.....	34
2.5 Descripción de la urolitiasis .....	34
2.6 Litogénesis urinaria.....	37
2.10 Diagnóstico de la litiasis .....	47
2.7 Etapas implicadas en el proceso de cristalización.....	40
2.8 Clasificación de los cálculos renales.....	44
2.9 Manifestaciones clínicas de la litiasis renal .....	46
2.11 Tratamiento de la litiasis renal.....	47
2.12 Compuesto inductor de la litiasis renal oxálica.....	50
2.12.1 Etilenglicol.....	50

2.12.2 Cloruro de amonio .....	53
<b>2.13 Parámetros normales de laboratorio en ratas .....</b>	<b>54</b>
<b>2.14 Glosario de términos .....</b>	<b>56</b>

### CAPÍTULO III

#### MATERIALES Y MÉTODOS

<b>3.1. Materiales biológicos.....</b>	<b>59</b>
3.1.1. Muestra vegetal .....	59
3.1.2. Animales de experimentación.....	59
<b>3.2. Materiales e instrumentos de laboratorio.....</b>	<b>59</b>
<b>3.3. Lugar de ejecución .....</b>	<b>61</b>
<b>3.4. Tipo de estudio .....</b>	<b>61</b>
<b>3.5. Diseño de la investigación .....</b>	<b>62</b>
3.5.2 Evaluación del efecto antiurolitiásico .....	62
3.5.3 Evaluación de la influencia sobre la función renal .....	64
<b>3.6. Identificación, definición y operacionalización de variables .....</b>	<b>66</b>
3.6.1 variables implicadas .....	66
3.6.1.1 Variable independiente.....	66
3.6.1.2 Variables dependientes.....	66
3.6.2 Variables no implicadas .....	71
<b>3.6.3. Criterios de inclusión y exclusión .....</b>	<b>72</b>
<b>3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....</b>	<b>73</b>
<b>3.8 Técnicas para el procesamiento y análisis de datos.....</b>	<b>73</b>
<b>3.11. Análisis farmacológico.....</b>	<b>76</b>
3.11.1. Inducción de la litiasis renal en animales de experimentación- protocolo experimental .....	76
3.11.2. Preparación de solución madre de extracto seco de <i>Mikania cordifolia (l.f.) willdenow.</i> .....	77
3.11.3. Del efecto sobre la función renal .....	77
3.11.4. Del efecto antiurolitiásico .....	80

### CAPÍTULO IV

#### RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

<b>Conclusiones .....</b>	<b>106</b>
<b>Referencias bibliográficas .....</b>	<b>111</b>

## ANEXOS

ANEXO 1. Elección de las dosis de extracto seco de <i>M. cordifolia</i> .....	118
ANEXO 2. Tipo de alimentación de los animales de experimentación. ....	119
ANEXO 3: Identificación botánica .....	120
ANEXO 4: Certificado sanitario de los animales de experimentación emitido	121
ANEXO 5: Protocolo para inducción de litiasis. ....	122
ANEXO 6: Ruta metabólica de formación de Oxalato a partir de Etilenglicol...	124
ANEXO 7: Dosaje de electrolitos en orina, por fotometría de llama.....	125
ANEXO 8: Determinación cuantitativa de creatinina.....	127
ANEXO 9: Ficha de recolección de datos para determinación de A. oxálico ....	129
ANEXO 12: Cálculo de dosis para la administración del extracto.....	130
ANEXO 13: Pruebas de análisis fitoquímico cualitativo .....	131
ANEXO 14: Resultados del análisis histopatológico .....	148
ANEXO 15: Fotos del análisis histopatológico .....	149
ANEXO 16: Resumen fotográfico .....	153

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Compuestos químicos encontrados en el género <i>Mikania</i> .....	20
FIGURA 2. Estructuras química de los principales compuestos de <i>M. micrantha</i> .....	22
FIGURA 3. <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow.....	33
FIGURA 4. Cavidad abdómino - pélvica de la rata. ....	34
FIGURA 5. Inhibidores de la cristalización para sales cálcicas.....	39
FIGURA 6. Ilustración de la nucleación homogénea.....	41
FIGURA 7. Ilustración de la nucleación heterogénea.....	42
FIGURA 8. Ilustración del crecimiento cristalino.....	43
FIGURA 9. Agregado primario de oxalato cálcico monohidrato.....	43
FIGURA 10. Ilustración de la agregación secundaria.....	44
FIGURA 11. Estructura química del etilenglicol. ....	50
FIGURA 12. Metabolismo del etilenglicol.....	51
FIGURA 13. Resultado de la administración del extracto de <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow. Vía oral. Sobre el flujo urinario.....	88
FIGURA 14. Resultado de la administración del extracto de <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow. Vía oral. Sobre la depuración de creatinina.....	91
FIGURA 15. Resultado de la administración del extracto de <i>M. cordifolia</i> (L.f.) Willdenow. Vía oral. Sobre la concentración de ácido oxálico en orina.....	99
FIGURA 16. Microfotografía de la tinción hematoxilina - eosina del grupo testigo negativo.....	149
FIGURA 17. Microfotografía de la tinción hematoxilina - eosina del grupo testigo positivo.....	149
FIGURA 18. Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo testigo positivo	150
FIGURA 19. Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo testigo negativo	150
FIGURA 20. Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo Mikania 300 (14)	151
FIGURA 21. Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo Mikania 500 (14)	151
FIGURA 22. Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo Mikania 300 (21)	152



## LISTA DE TABLAS

TABLA N°1.A. Valores de referencia de creatinina en suero de ratas.....	54
TABLA N°1.B. Valores de referencia de electrolitos en suero de ratas.....	54
TABLA N°2.A. Valores de referencia de creatinina en suero de ratas.....	54
TABLA N°2.B. Valores de referencia de electrolitos en suero de ratas.....	55
TABLA N°3. Resultado del porcentaje de rendimiento.....	84
TABLA N°4. Resultado del análisis fitoquímico cualitativo.....	85
TABLA N°5. Resultado del tratamiento sobre el flujo urinario en ratas.....	87
TABLA N°6. ANOVA del resultado del tratamiento sobre el flujo urinario.....	87
TABLA N°7. Resultado post-prueba de tukey sobre el flujo urinario.....	88
TABLA N°8. Resultado del tratamiento sobre la depuración de creatinina.....	90
TABLA N°9. ANOVA del resultado del tratamiento sobre la depuración de creatinina.....	90
TABLA N°10. Resultado post-prueba de tukey en grupos, para la comparación de la depuración de creatinina .....	91
TABLA N°11. Resultado del tratamiento sobre las cargas filtradas de sodio y potasio.....	94
TABLA N°12. ANOVA del resultado del tratamiento de la carga filtrada de sodio	95
TABLA N°13. ANOVA del resultado del tratamiento sobre la carga filtrada de potasio.....	95
TABLA N°14. Resultado post-prueba de tukey, para la carga filtrada de potasio	95
TABLA N°15. Resultado post-prueba de tukey para la comparación de la carga filtrada de sodio.....	96
TABLA N°16. Resultado del tratamiento sobre la concentración de ácido oxálico en orina.....	98
TABLA N°17. ANOVA del resultado del tratamiento sobre la concentración de ácido oxálico en orina.....	98
TABLA N°18. Resultado post-prueba de tukey para la comparación de la concentración de ácido oxálico en orina.....	99
TABLA N°19. Resultado del tratamiento sobre el pH urinario.....	102
TABLA N°20. ANOVA del resultado del tratamiento sobre el pH urinario.....	102

## LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. Componentes de aceites esenciales de <i>M. micrantha</i> .....	23
CUADRO 2. Usos etnomedicinales y propiedades curativas que se les asignan a <i>M. micrantha</i> .....	27
CUADRO 3. Marcadores y factores de riesgo de la urolitiasis.....	35
CUADRO 4. Factores de riesgo de la urolitiasis.....	36
CUADRO 5. Identificación, definición y operacionalización de variables.....	74

## ABREVIATURAS

<b>ANOVA</b>	: Análisis de varianza.
<b>Da</b>	: Dalton.
<b>DL</b>	: Dosis letal.
<b>g/mol</b>	: Gramo/ mol
<b>IV</b>	: Intravenoso.
<b>IM</b>	: Intramuscular.
<b>mEq</b>	: Miliequivalente.
<b>mg/dl</b>	: Miligramo/ decilitro.
<b>mg/L</b>	: Miligramo/ litro.
<b>M</b>	: Molar.
<b>N</b>	: Normalidad.
<b>pH</b>	: Potencial de hidrogeniones
<b>RLU</b>	: Riesgo litógeno urinario.
<b>UV</b>	: Ultra violeta.
<b>VO</b>	: Vía oral.

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de tipo antiurolitiásico y la influencia en la función renal del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia*. (L.f.) Willdenow administrado por vía oral en ratas Holtzman previa inducción de litiasis renal por el método de hiperoxaluria (inducida con solución de etilenglicol al 0.75% y cloruro de amonio al 0.5% durante 21 días). Se planteó un estudio cuasi experimental con postprueba únicamente y grupos intactos. Se utilizaron 42 ratas albinas hembras las cuales fueron distribuidas en 6 grupos (n=7): de los cuales un grupo se tomó como testigo negativo y a los otros 5 se les indujo la litiasis renal. Una vez inducida la litiasis se tomó un grupo como testigo positivo y a los otros 4 se les administraron tratamiento con el extracto de la planta en estudio, a las dosis de 300 y 500 mg/ kg de peso, ambas durante 14 días y 21 días. Concluido el tiempo de tratamiento, se obtuvieron las muestras de sangre, orina y tejido renal. Se midieron los siguientes indicadores: flujo urinario, creatinina en suero y orina, sodio y potasio en suero y orina, pH en orina, ácido oxálico en orina y se realizó el estudio histológico del tejido renal. El análisis de resultados indicó que el tratamiento con el extracto de la planta en estudio a las dosis de 300 mg/Kg durante 21 días y 500 mg/Kg durante 14 y 21 días, incrementan el flujo urinario en un 75%, 77.78% y 66.69% respectivamente; y la depuración de creatinina en un 50.93%, 52.03% y 54.16% respectivamente, de forma significativa respecto al grupo testigo positivo; así mismo disminuye los niveles de ácido oxálico en orina en un 48%, 80% y 66.1%( a las dosis de 300 mg/Kg durante 21 días y 500 mg/Kg durante 14 y 21 días respectivamente) de forma significativa respecto al grupo testigo positivo. Los resultados del análisis histopatológico indican que a las dosis de 300 mg/Kg durante 21 días y 500 mg/Kg durante 14 días, la presencia de microcristales es escasa, mientras que a la dosis de 500 mg/Kg de peso durante 21 no se evidencia presencia de microcristales en el tejido renal. Se concluye que el extracto seco hidroalcohólico preparado de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia*. (L.f.) Willdenow. Presenta efecto antiurolitiasico y mejora la función renal a la dosis de 500 mg/kg de peso desde los 14 días de tratamiento y a la dosis de 300 mg/kg a los 21 días de tratamiento.

Palabras clave: *Mikania cordifolia*. (L.f.) Willdenow, antiurolitiasico, función renal, hiperoxaluria, etilenglicol.

## ABSTRACT

The present study aims to assess the effect of type antiurolitiásico and renal function influence of the hydroalcoholic dry extract of *Mikania cordifolia* (Lf) Willdenow orally administered prior Holtzman rats for nephrolithiasis induction by the method of hyperoxaluria (ethylene glycol solution induced with 0.75% ammonium chloride and 0.5% for 21 days). It proposed a quasi-experimental study and intact groups posttest only. We used 42 female albino rats which were divided into 6 groups (n = 7): in which a group was taken as negative control and the other 5 were induced nephrolithiasis. Once induced urolithiasis took as a positive control group and the other four were given treatment with the extract of the plant under study, at the doses of 300 and 500 mg / kg, both for 14 days and 21 days. Concluded the time of treatment, the samples were obtained from blood, urine and renal tissue. Following indicators were measured: urine flow, serum and urine creatinine, sodium and potassium in serum and urine, urine pH, oxalic acid in urine and performed the renal tissue histology. The analysis of results indicated that the treatment with the abstract from the plant under consideration to the 300-mg doses Kg during 21 days and 500 mg Kg during 14 and 21 days, increment the urinary flow in a 75 %, 77,78 % and 66,69 % respectively; And the creatinine clearance in a 50,93 %, 52,03 % and 54,16 % respectively, meaningfully in relation to the positive control group; Likewise decrease the levels of oxalic acid in urine in a 48 %, 80 % and 66,1 % (to the 300-mg doses Kg during 21 days and 500 mg Kg during 14 and 21 days respectively) meaningfully in relation to the positive control group. Histopathological analysis results indicate that at doses of 300 mg / Kg for 21 days and 500 mg / Kg for 14 days, the presence of micro crystals is low, whereas at the dose of 500 mg / kg body weight for 21 no evidenced the presence of microcrystals in renal tissue. Was concluded that the dry extract prepared of *Mikania cordifolia* (Lf) Willdenow. presents antiurolitiásico effect, improves renal function at the dose of 500 mg / kg from day 14 treatment and the dose of 300 mg / kg at 21 days of treatment.

Keywords: *Mikania cordifolia*. (Lf) Willdenow, antiurolitiásico, renal function, hyperoxaluria, ethylene glycol.

## INTRODUCCIÓN

La urolitiasis se caracteriza por la formación de agregados policristalinos con una matriz orgánica dentro de las vías urinarias superiores (parénquima renal, cálices, pelvis renal y uréteres). Un cálculo urinario es una estructura sólida que se origina como consecuencia de alteraciones en el balance físico-químico y/o urodinámico del aparato urinario. Las cifras de prevalencia en la población de esta patología oscilan entre un 8 a 15 % a nivel mundial, por lo que constituye un problema de salud importante, por su alta morbilidad y elevado coste socioeconómico, razón por la cual el estudio de su terapia y prevención es importante (Castrillo, 2003; Guillén, 2009). El tratamiento disponible es costoso, invasivo y presenta una tasa de recidivas alta es así que a los 5 años de un primer episodio litiásico, un 50% de los pacientes han recaído; a los 25 años la cifra puede llegar a ser de 90%; es por esto que, la mayoría de la población opta por tratamientos herbolarios, como alternativa terapéutica, económica y confiable (Estevez 2009). Entre las terapias alternativas destaca el uso de plantas medicinales. Muchas especies de la familia *Asteraceae* son ampliamente utilizadas en la medicina popular, en general al género *Mikania* se le atribuye propiedades diuréticas, expectorantes, broncodilatadoras, antiofídico, antirreumática, antiinflamatoria, analgésica, etc., por lo que el género ha demostrado ser una fuente prolija de metabolitos donde se destaca la presencia de: alcaloides, lactonas sesquiterpénicas, diterpenos, cumarinas, flavonoides, entre otros. (González, 2011). El presente trabajo de investigación pretende evaluar el efecto de tipo antiurolitiásico y la influencia en la función renal del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia*. (L.f.) Wildenow, administrado por vía oral en ratas Holtzman previa inducción de litiasis renal por el método de hiperoxaluria (Administración de etilenglicol al 0.75% y cloruro de amonio al 0.5% durante 21 días), por ser un método poco invasivo, y en el cual podemos evaluar distintos parámetros como: la función renal ( balance hidroelectrolítico, depuración de creatinina endógena, flujo urinario) el ácido oxálico en orina, la alteración de la morfología del tejido renal así como la presencia-ausencia de cálculos renales (técnicas histológicas).

## PRESENTACIÓN

Este estudio tiene por objeto investigar el efecto antiurolitiásico y la influencia en la función renal del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. en litiasis renal inducida en animales de experimentación. Para ello, se emplea un marco teórico y conceptual, que en términos generales, estará dado por el enfoque científico y/o experimental; de tal manera que se pueda observar en ratas Holtzman cómo se produce el efecto antiurolitiásico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. En este sentido, con este texto se busca contribuir a la satisfacción de la necesidad de información; para lo que se realiza una síntesis de los conocimientos adquiridos durante el desarrollo de la investigación, complementada con la recopilación de fuentes bibliográficas, e incluye detalles del diseño y manejo experimental, siendo ambos aspectos imprescindibles en la determinación del efecto antiurolitiásico y la influencia en la función renal de la especie en estudio.

Es necesario destacar en esta oportunidad la valiosa contribución que ha realizado El Consejo de Investigación de la UNSAAC, gracias al apoyo económico que ha permitido la culminación de la investigación.

**LAS INVESTIGADORAS.**

# **CAPÍTULO I**

# **GENERALIDADES**



## 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La urolitiasis es una patología que afecta hasta el 15% de la población mundial, encontrando que aproximadamente el 77% de los individuos afectados por esta enfermedad están incluidos en los grupos productivos de la población, lo cual produce un impacto socioeconómico importante (Guillén 2009). Su incidencia se encuentra en aumento y se estima un riesgo de 12% en hombres y 6% en mujeres de sufrir un episodio durante el largo de su vida (Orozco, 2010). El paciente litiasico sufre episodios repetidos de dolor, con riesgo de problemas potencialmente serios como infección, sepsis, cirugía, etc. (Guerra 2005).

En la actualidad se reconocen una serie de factores epidemiológicos favorecedores de la formación de cálculos, unos dependientes del propio individuo (herencia, raza, edad, sexo) y otros en relación con factores medio-ambientales (hábitos dietéticos, factores climáticos y estacionales, distribución geográfica, profesión y nivel socioeconómico). La influencia de ambos factores epidemiológicos debe tenerse en cuenta en cada caso de formación de cálculos. (Muñoz, 2004). En las sociedades occidentales las litiasis están compuestas por cálculos de oxalato de calcio (31%), fosfato de calcio (8%), oxalato de calcio más fosfato de calcio (43%), ácido úrico (6%), estruvita o fosfato amonio de magnesio (4%) y cistina (6%). La evaluación clínica del paciente con litiasis renal incluye una historia clínica, examen físico, estudio de imágenes y laboratorio en sangre y orina (Orozco, 2010).

El objetivo del tratamiento de la litiasis urinaria es la eliminación de los cálculos con la menor morbilidad y al menor coste (Piñero, 2008). Los tratamientos quirúrgico y litotripsia tienen un costo elevado; en un estudio se concluye que hasta un 12.78 % de pacientes sometidos a tratamiento quirúrgico presentaron algún tipo de complicación post operatoria (Perez 2008), además la tasa de recidivas después de un tratamiento quirúrgico puede llegar a un 90 % de los pacientes a los 25 años del tratamiento (Estevez 2009). Dentro del tratamiento farmacológico más utilizado en esta afección está el citrato de potasio, que es un potente inhibidor de la formación de cálculos renales, pero presenta una alta tasa de problemas gastrointestinales en los pacientes a los que se les administra dicho fármaco (Charles, 1987). Debido a ello se opta por tratamientos herbolarios como alternativa confiable y segura ya que no es invasiva, tiene fácil acceso y es económica.

En el caso de la litiasis renal se han descrito más de 70 especies vegetales con actividad antilitiásica, entre las que se destacan plantas con acción diurética y antiséptica, así como aquellas que contengan saponinas (Estevez 2009). Entre las plantas utilizadas tradicionalmente en el tratamiento de la litiasis renal destaca *Mikania cordifolia*. (L.f.) Willdenow (Huaco), no contando con estudios que respalden dicha actividad farmacológica, por lo tanto, es importante ampliar estos estudios y determinar si esta especie es efectiva en esta enfermedad.

## 1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿El extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. presentará efecto antiurolitiásico y tendrá alguna influencia sobre la función renal en litiasis renal inducida en animales de experimentación?

## 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antiurolitiásico y la influencia en la función renal del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow en litiasis renal inducida en animales de experimentación.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obtener el extracto seco hidroalcohólico al 70 % de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow, determinar el porcentaje de rendimiento y realizar el análisis fitoquímico cualitativo.
2. Realizar la inducción de litiasis renal en ratas, mediante el método de hiperoxaluria inducida con solución de etilenglicol al 0.75% y cloruro de amonio al 0.5%.
3. Evaluar la morfología renal así como la presencia y ausencia de cálculos renales oxálicos, una vez que la litiasis renal fue inducida y tratada con el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.

4. Determinar la concentración de ácido oxálico en orina, una vez que la litiasis renal sea inducida (etilenglicol 0.75 % cloruro de amonio al 0.5%) y tratada con el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
5. Evaluar el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre el flujo urinario.
6. Evaluar el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre las cargas filtradas de sodio y potasio.
7. Evaluar el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre la filtración glomerular (depuración de creatinina).
8. Evaluar el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre el pH urinario.

## **1.4 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA**

### **1.4.1 POR EL CONOCIMIENTO**

Las cifras de prevalencia en la población de esta patología oscilan entre un 8 a 15 % a nivel mundial, por lo que constituye un problema de salud importante, por su alta morbilidad y elevado coste socioeconómico, razón por la cual el estudio de su terapia y prevención es importante (Castrillo, 2003; Guillén, 2009). El tratamiento disponible es costoso, invasivo y presenta una tasa de recidivas alta es así que a los 5 años de un primer episodio litíásico, un 50% de los pacientes han recaído; a los 25 años la cifra puede llegar a ser de 90%; es por esto que, la mayoría de la gente opta por tratamientos herbolarios, como alternativa terapéutica confiable.

En este contexto, las plantas medicinales se pueden tornar en una fuente de moléculas innovadoras con mecanismos de acción diferenciados de otros y con mejor relación riesgo/beneficio que los tratamientos disponibles.

La presente investigación contribuirá aportando de una forma cognoscitiva, al determinar si el extracto hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.

posee efecto antiurolitiásica e influencia sobre la función renal , en litiasis renal inducida en animales de experimentación.

#### 1.4.2 APLICABILIDAD

***Mikania cordifolia*** (L.f.) Willdenow. Tiene propiedades medicinales y es usada en medicina popular, lo que la hace potencialmente útil para la elaboración de medicamentos fitoterápicos, sin embargo existen datos incompletos respecto a las acciones biológicas que puede llevar a cabo los extractos de la misma; por ello resulta de interés determinar si el extracto hidroalcohólico de ***Mikania cordifolia*** (L.f.) Willdenow. Posee actividad antiurolitiásica e influencia sobre la función renal de este modo contribuir a la revalorización de la flora autóctona peruana, para su mejor aprovechamiento medicinal.

#### 1.4.3 ECONÓMICA

La incidencia anual de la litiasis renal es de 0.3% generando un elevado número de consultas médicas e ingresos hospitalarios, con gran repercusión económica y social. El tratamiento disponible es costoso. Entre las plantas utilizadas tradicionalmente por su efecto antilitiásico destaca ***Mikania cordifolia*** (L.f.) Willdenow. especie ampliamente utilizada por nuestra población tanto nativa como urbana y sobre la cual aún no se han realizado estudios para evaluar esta actividad terapéutica; por lo que consideramos importante este trabajo de investigación.

Los tallos de ***Mikania cordifolia*** (L.f.) Willdenow. pueden servir como una fuente potencial para la producción de fitofármacos antiurolitiasicos de bajo costo, tanto porque genera trabajo rural, así como puestos de trabajo (derivados de su cultivo, transporte y transformación), como también podrían producirse extractos que sustituyan a otras alternativas de tratamiento tanto quirúrgicas como farmacológicas.

#### 1.5 HIPÓTESIS

El extracto seco hidroalcohólico al 70% de ***Mikania cordifolia*** (L.f.) Willdenow. presenta efecto antiurolitiásico y mejora la función renal (incremento de la depuración de creatinina, incremento del flujo urinario e incremento de las cargas filtradas de sodio y potasio) en litiasis renal inducida en animales de experimentación.

# **CAPÍTULO II**

## **MARCO TEÓRICO- CONCEPTUAL**

## 2.1 VISIÓN HISTÓRICA

Hipócrates relaciona los dolores lumbares, la hematuria y la piuria con la presencia de cálculos renales; asimismo comenta la posible formación de un absceso renal con tumefacción en la región lumbar secundario a una posible litiasis (Mohamed, 1994).

En los siglos siguientes (V a.C. — 1 d.C.), el naturista Pilinio y Areteo de Capadocia, entre otros intentan la disolución de los cálculos, mediante preparaciones alcalinas como la cal viva, cenizas de caparzones de caracoles etc. En este mismo período Amonius de Alejandría, describe una técnica para la fragmentación de los cálculos vesicales. Celso (siglo 1 d.C.) describe su talla celsiana perineal (Mohamed, 1994).

Desde el siglo II y hasta el siglo VII aparecen algunos cirujanos como Antillus que modifica la talla de Celso, recomendando la realización de la incisión sobre el cuello vesical y no sobre el cuerpo de la vejiga. Paul de Egea aconseja la incisión longitudinal oblícua a la izquierda del rafe medio. A partir del siglo VII, los médicos árabes intentaron complementar los conocimientos sobre la litiasis. Así Rhazes (Ruíz Marcellán JF, 1988), estudió la naturaleza y composición de los cálculos, clasificándolos en varios tipos. Este mismo autor escribió sobre el tratamiento de la litiasis dando una serie de normas dietéticas y la administración de diuréticos.

Avicena citó un gran número de sustancias para disolver los cálculos vesicales, como las cenizas de vidrio, de escorpión y raíz de berza común. Abulcasis enseña la cirugía y describe con detalle la talla y como practicarla en la mujer. Abulcasis, médico cordobés, fallecido hacia 1013, experto cirujano de la “piedra”, describe la forma de realizar la talla vesical y confecciona instrumentos para realizar la litotricia (Mohamed, 1994). En Occidente desde el siglo VII al XV, destaca la escuela de Salerno donde la cirugía reemprende una nueva ascensión. Autores como Guillaume y Latrane, describen y preconizan la talla de Celso. Guy de Chauliac en su libro de la gran cirugía también recuerda los principios de la talla de Celso (Somacarrera Nuñez, 1977). En España destaca la figura de Gutiérrez de Toledo, que describe los fomentos para mitigar el dolor y dilatar la vía urinaria como tratamiento del mal de piedra. El insigne médico y cirujano español Francisco Díaz en su Tratado de Urología “Enfermedades de los riñones, vejiga y camosidades de la verga”, publicado en 1588 dedicó los capítulos IV,V ,VI,VII,y VIII, al estudio de la litiasis (Maganto Pavon 1990).

## 2.2 ANTECEDENTES

### 2.2.1 EN EL ÁMBITO INTERNACIONAL

#### 2.2.1.1 ANTECEDENTES BOTÁNICOS

##### A. DE LA FAMILIA ASTERACEAE

**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo "***Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow. y Mikania micrantha (Asteraceae)***". Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García". En donde señala que: La familia Asteraceae, corresponde al Orden Asterales, Suborden Asteridae, y está caracterizada por sus inflorescencias racimosas en capítulos, con flores individuales epíginas rodeadas de varias hileras de brácteas involucrales, sobre el receptáculo común en que remata el escapo o rama florífera.

Los orígenes de este grupo de plantas se remontan a 300 años a.C. ya que fue Teofrasto (372-288 a.C.) quien las describió en su obra De Historia plantarum. No obstante la familia recién fue fundada con el nombre de Compositae (nom. cons. Etnom. alt.) Por Paul D. Giseke en 1792.

##### B. DEL GÉNERO MIKANIA

**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo "***Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow. y Mikania micrantha (Asteraceae)***". Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García". En donde señala que: el género Mikania es el mayor en cuanto a número de especies de la tribu Eupatorieae y fue descrito por Willdenow en 1804, recibiendo este nombre en homenaje al profesor Joseph Gottfried Mikan. Comprende hierbas perennes o arbustos, generalmente volubles, raras veces erectos, de hojas opuestas generalmente pecioladas. Capítulos dispuestos en panojas de racimos, de corimbos, de espigas o, rara vez, de cimas, compuestos de 4 flores y un involucro

compuesto de 4 filarias que son envueltas por una bráctea subinvolucral. Corolas blancas, rosadas o verdosas amarillentas.

**C. DE LA ESPECIE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.**

**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo "*Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. y *Mikania micrantha* (Asteraceae). Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García". En donde señala que: Esta especie es una enredadera con tallos jóvenes delgados, hexacostados, tomentosos a glabros; los basales gruesos, hasta de 2-3cm de diámetro. Hojas opuestas, pecioladas, con pecíolos de 1,5-5cm de largo y láminas aovadas o acorazonadas, de ápice agudo, denticuladas, levemente discolores. Estípulas setiformes inconspicuas o ausentes. Capítulos ordenados en cimas corimbiformes compuestas, terminales y axilares. Bractéolas pubescentes, angostamente elípticas. Brácteas involucrales lanceoladas, pubescentes, agudas. Flores blancas, bilabiadas, y limbo corolino infundibuliforme dividido en lóbulos lanceolados con márgenes ondulados de distinta longitud.

**LEÓN GÓMEZ, CALIXTO (2000)** del Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma de México, publicó el artículo "**Manual para la Identificación de Lianas en el Campo**" El trabajo se llevó a cabo en la región de Los Tuxtlas, principalmente en los alrededores de la Estación de Biología Tropical. En esta región se determinó la existencia de 100 especies de lianas correspondientes. Se procedió a censar a las lianas marcándolas con un cartón aluminado en donde señala que *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow presenta. **TALLO:** redondo y acostillado, torcido y tortuoso. Nudos muy evidentes, circundantes y prominentes. **CORTEZA:** Rugosa por lenticelas; de color gris oscuro a café grisáceo. **RAMAS JÓVENES:** Hojas cordiformes, pelosas en ambas superficies margen entero o aserrado. **FENOLOGÍA:** Florece de enero a diciembre, fructifica de enero a diciembre.



**PENSIERO, JOSÉ (2004)** del área etnobotánica de la Universidad del Litoral, Argentina, publicó el artículo “Proyectos de Investigación Aplicada a los recursos Forestales Nativos (PIARFON), “Alternativas de sustentabilidad del bosque nativo del Espinal”. En donde señala que: *Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow*. Es una liana de 2-8 m de alto. Tallos volubles, de sección hexagonal, con costillas conspicuas más o menos tomentosas. Hojas simples, opuestas, de lámina ovada, acorazonada y borde ondulado–dentado o semientero, densamente pubescentes, de 3-15 cm de largo (incluyendo el pecíolo) por otro tanto de ancho. Capítulos numerosas, dispuestos en cimas corimbiformes terminales y axilares. Flores perfectas, blancas, actinomorfas. Corola gamopétala de 4-6 mm de largo. Fruto cipsela, de 3-4 mm de largo, glabra o con pelos cortos sobre las costillas. Pappus blancuzco, amarillento o rosado pálido.

#### **2.2.1.2 ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS.**

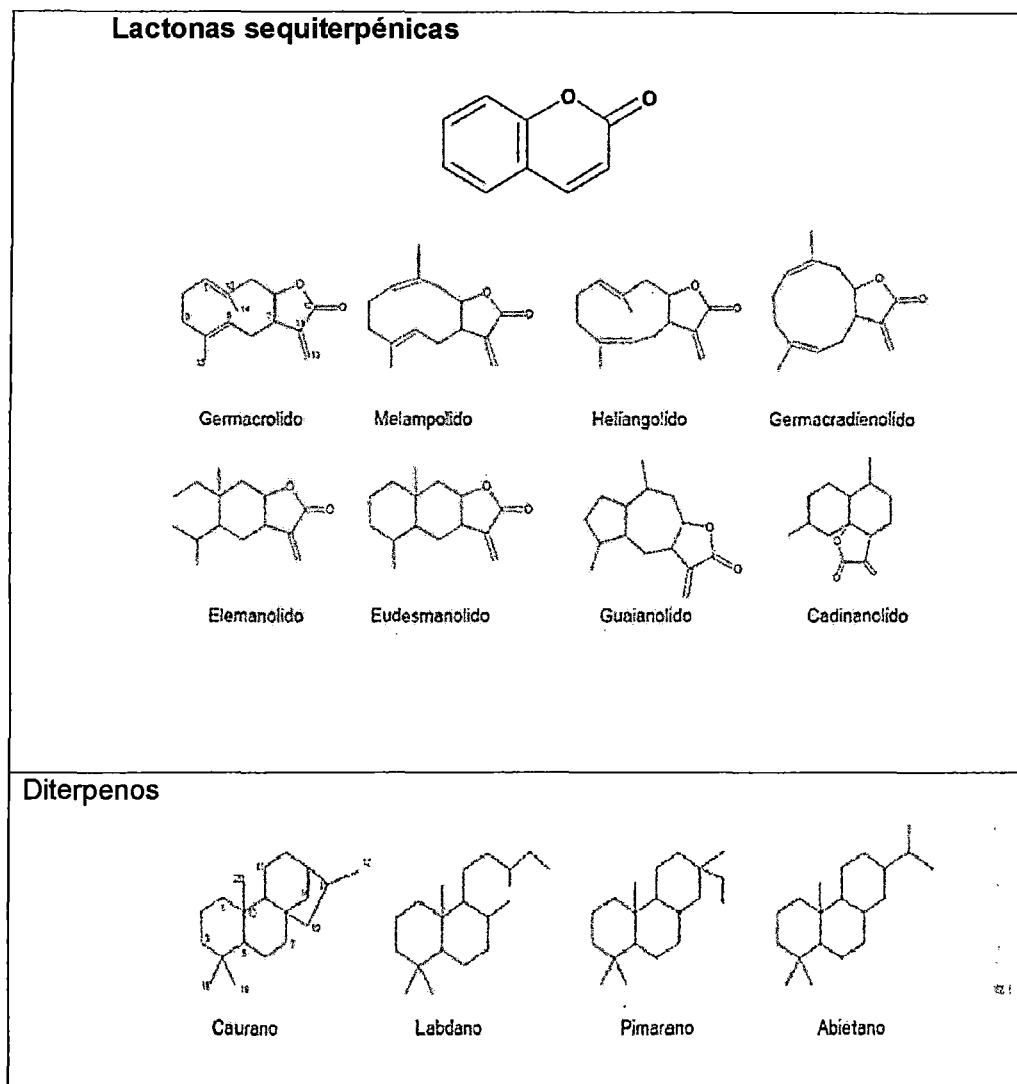
**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo “*Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow*. y *Mikania micrantha (Asteraceae)*. Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García”. En donde señala que: Esta familia incluye una cantidad de especies útiles desde diversos puntos de vista. El uso etnobotánico de muchas de ellas ha ayudado al progreso y sustento de gran número de pueblos en todo el mundo satisfaciendo sus necesidades de alimento, forraje, leña, medicinas, etc. Desde el punto de vista estrictamente económico, unas 40 especies tienen importancia directa en alimentación humana (hortalizas y “semillas” oleaginosas) e indirectamente por productos obtenidos por la industria. Otras especies silvestres tienen potencial nutricional, muchas son de interés tecnológico u ornamental, y centenares rinden metabolitos secundarios de uso farmacéutico o industrial o aportan néctar y polen para la producción apícola, forraje para la producción ganadera, etc. Muchas son pioneras u oportunistas, y gran número resultan malezas de cultivos y/o tóxicas para el ganado. Además, numerosas especies tienen un rol destacado en la estructura y funcionamiento de los ecosistemas.

### 2.2.1.3 ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS

**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo "*Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. y *Mikania micrantha* (Asteraceae). Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García". En donde señala que: Entre las clases de compuestos químicos encontrados en el género *Mikania* se destaca la presencia de lactonas sesquiterpénicas y diterpenos (**FIGURA N°1**), en una revisión sobre el género, refiere la ocurrencia de lactonas u otros terpenos en *Mikania*, destacando las *Mikania*s del complejo scandens, donde se encuentran dilactonas sesquiterpénicas de tipo mikanólido, son los metabolitos secundarios típicos de un gran número de especies del género, así como diterpenos con esqueleto caurano. En la mayoría de los estudios efectuados no se observa una gran variación en cuanto a la ocurrencia de estos tipos de compuestos químicos. En *M. saltensis* Hieron. y *M. haenkeana* DC. Se encontraron lignanos, un compuesto químico no común en especies de pequeño porte, ya que está asociado a especies leñosas.

Dentro de los compuestos fenólicos se puede hallar la presencia de cumarina en varias especies, constituyendo el marcador químico en *M. cordata* y *M. laevigata*. Los flavonoides, compuestos muy comunes en la familia Asteraceae, también se encuentran presentes en especies del género, en forma de heterósidos.

FIGURA N°1. Compuestos químicos encontrados en el género *Mikania* (lactonas sesquiterpénicas y diterpenos).



FUENTE: Colares (2010).

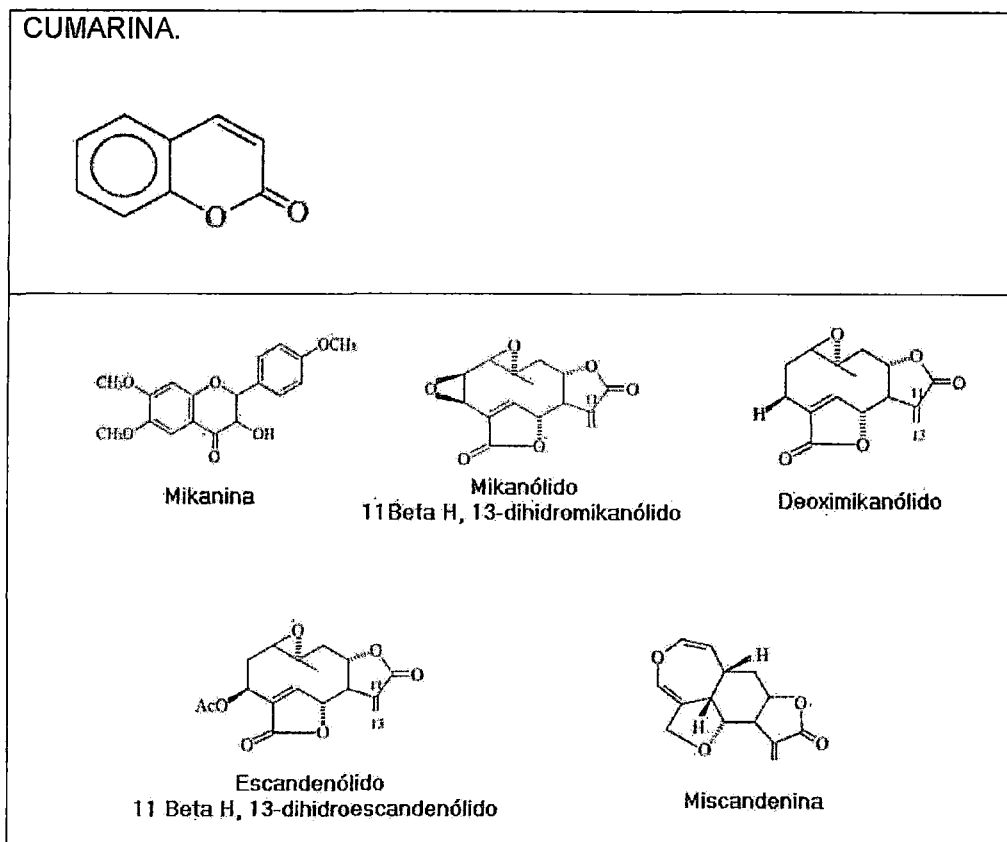
COLARES, MARTA NOEMÍ (2010) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo "*Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. y *Mikania micrantha* (Asteraceae). Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García". En donde señala que: *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Desde el punto de vista químico se ha señalado en esta especie la presencia de diterpenos, sesquiterpenos y fenilpropanoides. En trabajos recientes, se han identificado como compuestos mayoritarios en las

fracciones polares derivados fenilpropanoicos, destacándose el ácido fertárico, mientras que en las fracciones apolares fue verificada la presencia de triterpenos. Lactonas sesquiterpénicas con esqueleto melampólido también fueron aisladas.

**ABRÃO DE OLIVEIRA, PATRICIA (2006)** de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Riberao Preto dela Universidad de Sao Paulo, Brasil, publicó el artículo “**Análisis comparativo de los triterpenoides de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. colectada en cuatro localidades**”. En donde señala que todas las muestras recolectadas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow contienen el mismo tipo de triterpenoides, aunque varíen en proporciones, entre los cuales destacan Campesterol, Stigmasterol, Sitosterol, Epitaraxerol entre otros.

**CAMARGO, FRANCISCO JOSE.** Publicó el artículo “**Monografía del Guaco**” publicado en la base de datos de Fitomedicina, en donde señala que: La mayoría de la información bibliográfica disponible sobre *M. micrantha* se refiere al estudio de componentes aislados de extractos de la planta, en los cuales destacan la presencia de alcaloides, cumarina y otros compuestos relacionados; pero sobre todo destaca la presencia de lactonas sesquiterpénicas como por ejemplo: mikanina, micanólido, dihidromicanólido, miscandenina, escandenólido y dihidroscandenólido (**FIGURA N°2**); resultando algunos de estos compuestos tóxicos y carcinogénicos.

**FIGURA N°2.** Las estructuras químicas de los principales compuestos presentes en extractos de *M. micrantha*.



FUENTE: Camargo (2005).

Pérez Amador MC, V Muñoz Ocoero, R Ibarra Balcazar, F García Jiménez (2010) de la Facultad de Ciencias, Departamento de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Publicaron el artículo: “Estudios fitoquímico y farmacológico de *Mikania micrantha* H.B.K. (Asteraceae)” donde señalan que: La familia Asteraceae es una de las más grandes de las Angiospermas, y es donde se ubica al género Mikania. Varias especies de esta familia contienen compuestos poliacetilénicos y tiofénicos los cuales se emplean como marcadores taxonómicos, y cuya fototoxicidad puede actuar como mecanismo de defensa en la planta. También se describe la composición de los aceites volátiles de semillas e inflorescencias en esta especie. Linalol y  $\alpha$ -pineno (CUADRO N°1) son los principales componentes de este aceite esencial de *M. micrantha*

**CUADRO N° 1. Componentes de aceites esenciales de *M. micrantha*.**

N°	NOMBRE DEL COMPUESTO	CONCENTRACIÓN
1	Alfa-pineno	10.143
2	Canfeno	0.187
3	Beta-pineno	8.724
4	Alfa-felandrene	0.395
5	Beta-ocimeno	7.118
6	Linalol	15.860
7	Acetato de geraniol	0.829
8	terpineol	6.310
9	Geraniol	2.892
10	Tímol	0.458

**FUENTE: Pérez (2010)**

**TULIO GONZÁLEZ, ROBERT. (2011). La transición desde lo etnobotánico hacia usos comerciales de plantas Colombianas.** Reporta en su trabajo que: *Mikania* presenta los siguientes principios activos: germacranolidos, ácidos Cafeoilquinícos, y cinámico, coumarinas, glicósidos, ácido kaurénico, sesquiterpenlactonas, estigmasterol, resinas, taninos. Además menciona que en algunos guacos las cumarinas alcanzan hasta el 11% en especies de *Mikania*, lo cual puede ser relativamente riesgoso por las actividades anticoagulantes de estas sustancias. La mayor parte de las actividades farmacológicas se asocia con las sesquiterpenlactonas macranólidas.

**LAURELLA, LAURA (2012)** de la cátedra de Farmacognosia, Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad de Buenos Aires, Argentina. Publicó el artículo "Evaluación in vitro de Actividades Antiprotozoarios y Antiviral de extractos de especies *Mikania* Argentino" en donde señala que: Los terpenoides, lactonas principalmente sesquiterpenos y diterpenos, son componentes característicos del género *Mikania* y algunos de estos metabolitos han mostrado actividad tripanocida. Por lo tanto, la actividad tripanocida de las fracciones 3 y 4 podría ser debido a la presencia de lactonas sesquiterpenicas.

#### 2.2.1.4 ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS Y TOXICOLÓGICOS

TULIO GONZÁLEZ, ROBERT. 2011 publicó su artículo “La transición desde lo etnobotánico hacia usos comerciales de plantas Colombianas”. En donde que el género *Mikania* presenta las siguientes propiedades farmacológicas: Analgésico, anti-asmático, antibacterial, anti-inflamatorio, antiprotozoal, antitusivo, antirreumático, broncodilator, cicatrizante, depurativo, diurético, expectorante, febrífugo, sudorífico.

COLARES, MARTA NOEMÍ (2010) de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo “*Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. y *Mikania micrantha* (Asteraceae). Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García”. En donde señala que: Muchas especies de esta familia son ampliamente utilizadas en la medicina popular. Algunos ejemplos se presentan a continuación:

- ***Bacharis articulata***. “carqueja”. Propiedades farmacológicas: colagogo, hepatoprotector, diurético, antiulceroso, hipocolesterolémico-hipoglucémico, antiséptico de heridas (uso externo).
- ***Matricaria recutita* L.** “manzanilla”. Propiedades farmacológicas: espasmolítico, demulcente y estomático, antiinflamatorio externo, antiulceroso, ansiolítico, antibacteriano cutáneo y ocular, diurético suave, regulador menstrual. Otros usos: quemaduras, bronquitis, úlceras, faringitis, conjuntivitis, ansiedad, hemorroides, acné.
- ***Sylibium marianum* Gaertn.** “cardo mariano”. Propiedades farmacológicas: hepatoprotector, antioxidante, antiinflamatorio-antialérgico. Otros usos: alcoholismo crónico, problemas hepáticos.
- ***Solidago virgaurea* L.** “Vara de Oro”. Propiedades farmacológicas: diurética.
- ***Cynara scolymus* L.** “alcaucil”, “alcachofa”. Propiedades farmacológicas: reduce el colesterol y los triglicéridos. Otro usos: colerético, colagogo y protector hepático.

**PÉREZ AMADOR MC, V MUÑOZ OCOTERO, R IBARRA BALCAZAR, F GARCÍA JIMÉNEZ (2010)** de la Facultad de Ciencias del Departamento de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Publicaron el artículo: **“Estudios fitoquímico y farmacológico de *Mikania micrantha* H.B.K. (Asteraceae)”** Prueban en su estudio la capacidad de los extractos de ***Mikania micrantha*** para inhibir la inflamación inducida tópicamente por 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) en oreja de ratón y para evaluar la actividad antibacterial contra *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli*. Concluyendo que Los extractos de acetato de etilo obtenidos de esta planta muestran propiedades antiinflamatorias y antibacteriales significativas, por lo que esta planta bien puede ser utilizada como medicinal.

**COLARES, MARTA NOEMÍ (2010)** de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de la Plata, Buenos Aires Argentina, publicó el artículo **“*Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. y *Mikania micrantha* (Asteraceae)”**. Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García”. En donde señala que: *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Ha sido utilizada para tratar problemas respiratorios y desde antiguo es usada por los habitantes de las selvas tropicales de América para tratar mordeduras de serpientes. También se cita como antiofídica, antirreumática, antiinflamatoria, analgésica y utilizada en lavajes en casos de enfermedades venéreas. En cuanto a las actividades biológicas descritas para esta especie se pueden incluir antitricomoniásicas, antitrypanosomal e insecticida, como así también actividad antiinflamatoria.

**PENSIERO, JOSÉ (2004)** del Área Etnobotánica de la Universidad del Litoral, Argentina, publicó el artículo **“Proyectos de Investigación Aplicada a los recursos Forestales Nativos (PIARFON), Alternativas de sustentabilidad del bosque nativo del Espinal”**. En donde señala que: Las hojas de ***Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow**, maceradas en alcohol o caña, son utilizadas en aplicaciones externas (fricciones) como analgésico, desinfectante, antiespasmódico y alexifármaco (contra mordedura de víboras e insectos). La decocción de sus hojas se bebe como antiasmático y antirreumático; y en lavajes, se utiliza para combatir enfermedades venéreas.



**CAMARGO, FRANCISCO JOSE.** Publicó el artículo “**Monografía del Guaco**” publicado en la base de datos de Fitomedicina, en donde señala que: Con relación a los efectos adversos y/o tóxicos que pueden presentar algunos constituyentes de *Mikania micrantha*, se mencionan la actividad carcinogénica potencial de las lactonas sesquiterpénicas que forman parte de su composición química: mikanina, mikanólido, escandenólido y sus derivados. En caso de administración de dosis excesivas (dos o tres veces mayores a las usualmente recomendadas) se ha reportado que causa náuseas, vómito, y diarrea.

Debido a la presencia significativa de cumarinas en sus extractos, deberá ser administrada con suma precaución, o directamente evitar su uso en el caso de personas que presenten trastornos de coagulación.

**GRACIELI DALLA NORA,** Tamara Pastori , Haywood Dail Laughinghouse IV , Thais Scotti Do Canto-Dorow , Solange Bosio Tedesco(2010) Del Departamento de Biología de la Universidad de Federal de Santa María, Brasil. Publicaron el artículo “**Efectos antiproliferativos y genotóxicos de *Mikania glomerata* (Asteraceae)**” en donde concluyen que *M. glomerata* presenta actividad tanto antiproliferativa y genotóxico. Señalando que hay muchos compuestos presentes en las especies (cumarina (1,2-benzopirona), triterpenos, esteroides y flavanoides, heterósidos, alcaloides, saponinas, taninos y polifenoles) que pueden ser responsables de la inhibición de la división celular y causan aberraciones cromosómicas, no obstante, el principal compuesto encontrado en las hojas es la cumarina.

**CAMARGO, FRANCISCO JOSE.** Publicó el artículo “**Monografía del Guaco**” publicado en la base de datos de Fito medicina, en donde señala que: A modo de resumen, en el cuadro siguiente, se listan la amplia variedad de usos etnomedicinales y propiedades curativas que se les asignan a los extractos de hojas y/o raíces de *M. micrantha* en diferentes países alrededor del mundo. Se puede apreciar que en muchos casos, la finalidad de uso es repetitiva lo cual asigna mayor certeza y reproducibilidad a los resultados específicos relacionados con la administración de tales extractos. Los usos etnomedicinales según los diferentes países son:

**CUADRO N° 2.** Usos etnomedicinales y propiedades curativas que se les asignan a los extractos de hojas y/o raíces de *M. micrantha*.

PAÍS	USOS ETNOMEDICINALES
BRASIL	Se utiliza para: tratamiento de la albuminuria, como analgésico, como estimulante del apetito, contra artritis, asma, como depurador sanguíneo, contra bronquitis, bronco constricción, cáncer, cólera, resfríos, catarros, fiebre, gota, infecciones, gripe, trastornos gastrointestinales, laringitis, neuralgias, dolor, pleuresía, prurito, problemas respiratorios generales, reumatismo, accidentes ofídicos, cicatrizante y desinfectante de heridas, sífilis, tonsilitis y expectorante.
REPUBLICA DOMINICANA	Se utiliza principalmente contra el cólera y como antitérmico.
GUAYANA	Se utiliza para el tratamiento de picaduras de insectos, accidentes ofídicos y erupciones cutáneas.
HAITI	Para el tratamiento de la fiebre (antitérmico), malaria y la sífilis.
MEXICO	Se utiliza para el tratamiento del asma, para tratar heridas producidas como consecuencia de mordeduras (perros, por ejemplo), como antitérmico, como antimalárico, para el tratamiento de irregularidades menstruales, contra el reumatismo, para el tratamiento de accidentes escorpiónico y ofídico, como antiespasmódico, para el tratamiento de problemas gastrointestinales, como antitetánico y antiparasitario intestinal por vermes.
VENEZUELA	Como antitérmico, antitumoral y para el tratamiento del accidente ofídico.
OTROS	Para el tratamiento del cólera y accidentes ofídicos.

FUENTE: Camargo (2005).

**CHAKRAVERTY, R. Y SAHA S., (2012)** de la Facultad de Ciencias Tecnológicas de Gupta de la Universidad Tecnológica de Bengala Occidental, India. Publicaron el artículo **“Cribado Fitoquímico y Evaluación de la Actividad Analgésica del Extracto Metanólico de *Mikania scandens* LINN.”**, publicado en la revista **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, en donde estudiaron la toxicidad aguda de los extractos acuoso, étereo, metanólico y clorofórmico de *Mikania scandens* LINN., administrados por vía oral a las dosis de 1000, 2000 y 3000 mg por kg de peso corporal, en ratones albinos de ambos sexos con un peso aproximado de 20-25 g. Tras administración de los extractos, los animales fueron observados continuamente por las primeras tres horas y luego en intervalos regulares durante 24 hrs, para el registro de cualquier manifestación tóxica. El estudio de toxicidad aguda fue realizado para estudiar los efectos tóxicos agudos y determinar dosis letal mínima de los extractos de droga. Pero no se observó ningún cambio de conducta ni la muerte de ningún animal de experimentación a estas dosis. Por lo tanto queda en evidencia que la droga no tiene efecto tóxico en este nivel.

**DEY, P.; CHANDRA, S.; CHATTERJEE, P.; Y BHATTACHARYA, S. (2011)** del área de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia de la Universidad Tecnológica de Bengala Occidental, India. Publicaron el artículo **“Propiedades neurofarmacológicas de *Mikania scandens* (L.) Willd. (Asteraceae)”** publicado en la revista **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, realizaron el estudio de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de las partes aéreas de *Mikania scandens* (L.) Willd. por el método de Lorke D. en ratones albinos; concluyeron que el extracto de la planta en estudio es seguro en ratones albinos hasta la dosis de 2 000 mg / kg de peso corporal; no pudiendo determinar la DL50 debido a que los factores físicos fueron limitantes para la administración de más cantidad de extracto.

K indica que en ratones sometidos a un tratamiento de dosis repetidas de más de 14, 28 o 60 días de extracto etanólico de *M. laevigata* a una dosis de 3 mg / kg esta no induce toxicidad significativa, evidenciándose por la

ausencia de alteraciones en los parámetros hematológicos, ausencia de daño celular hepático y aminotransferasas séricas (AST y ALT) en niveles normales, lo que fue indicativo de función hepática y biliar normal. Además, no hubo ningún cambio en los niveles de urea, indicando la ausencia de alteraciones en el riñón. Adicionalmente, se encontró que la DL50 es casi 75 veces más alta que la dosis farmacológica probada.

#### **2.2.1.5 ANTECEDENTES DEL MÉTODO.**

**PURNIMA ASHOK (2010)** de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Karnataka India publicó el artículo “**Actividad antiurolitiásica y antioxidante de *Mimusops elengi* en litiasis inducida con etilenglicol en ratas**” en donde utiliza el método de hiperoxaluria inducida con Etilenglicol (0.75%) para evaluar la actividad antiurolitiásica en ratas albinas raza Wistar. Los animales se dividieron en nueve grupos de seis animales de experimentación cada uno. El grupo I sirvió como control el cual alimentación regular y agua ad libitum. El etilenglicol (0,75%) se les administró en el agua potable a los Grupos II-IX para la inducción de los cálculos renales durante 28 días. El extracto se administra una vez al día por vía oral. Los resultados obtenidos sugieren la utilidad de *M. elengi* como un potencial agente antiurolitiásico.

**ESTÉVEZ CARMONA, MARÍA MIRIAM (2009)** del Instituto Politécnico Nacional de la Escuela Nacional de Ciencias biológicas, México, publicó el estudio “**Evaluación terapéutica de los extractos de *Selaginella lepidophylla* (hook. et grev.) spring**”. En donde utiliza el método de inducción de litiasis con una solución de etilenglicol al 0.5% y cloruro de amonio al 0.75%, concluyendo que los extractos acuoso y clorofórmico de *Selaginella lepidophylla* (hook. et grev.) presentan actividad antilitiásica.

**MARENGO SR (2002)** de la Facultad de Medicina de la Universidad Case Western Reserve publicó el artículo “**Disminución de la excreción renal de oxalato de calcio inhibido por la proteína Tamm-Horsfall en el modelo de ratas con urolitiasis de oxalato de calcio inducida con etilenglicol**”

(0.75%)". En donde indica que: Las ratas macho fueron tratadas con etilenglicol al 0,75% para inducir la litiasis renal. Concluyendo que a diferencia de otros inhibidores de oxalato de calcio, tales como la osteopontina, la excreción renal de oxalato de calcio se redujo en ratas tratadas con la proteína Tamm-Horsfall.

**CHRISTINA AJ. (2002)** del Departamento de la Facultad de Farmacia de KM, Tamil Nadu, India. Publico el artículo, "**Efecto Antilitiasico de *Asparagus Racemosus Willd* litiasis inducida con etileno glicol en ratas albinas Wistar**". Donde evaluó la capacidad inhibitoria extracto etanólico de *Asparagus racemosus Willd* en la litiasis (formación de cálculos), inducida por la administración oral de 0,75% de etilenglicol a ratas macho adultas Wistar albinas durante 8 días. La química iónica de orina fue alterada por etilenglicol, que elevó la concentración urinaria de iones fundamentalmente de calcio, oxalato y fosfato, lo que contribuyó a la formación de cálculos renales. El alto nivel de creatinina en suero observada en las ratas tratadas con etilenglicol también se redujo, después del tratamiento con el extracto.

**HADJZADEH MA. (2008)** del Departamento de Fisiología Universidad de Mashhad. Publicó el trabajo "**Efecto de timoquinona en cálculos renales inducida con etilenglicol inducida ratas**". En dicho estudio trabajo con: Sesenta ratas macho Wistar se dividieron aleatoriamente en 6 grupos (control intacto, el control de etilenglicol, y 4 grupos experimentales) y tratados durante 28 días según el protocolo del estudio. Las ratas en grupo experimental recibieron etilenglicol y la inyección intraperitoneal de timoquinona. Se colectaron muestras de sangre y orina. También se midieron electrolitos. Concluyendo que la timoquinona disminuyó significativamente el número y tamaño de los depósitos de oxalato de calcio en los túbulos renales. La dosis y duración del tratamiento, sin embargo, no tienen una relación lineal con los resultados.

**Toblli J. E., Angerosa M., Stella I., Ferder L., Inserra F. (2003)** del Laboratorio de Medicina Experimental del Hospital Alemán de Buenos Aires, publicaron el artículo "**Sobresaturación urinaria del oxalato de calcio más**

**allá de la nefrolitiasis. La relación con el daño túbulo intersticial**". En donde indica que utilizó el modelo de hiperoxaluria inducida con etilenglicol administrado a ratas Sprague-Dawley machos con un peso inicial de 250-280 g Durante cuatro semanas del siguiente modo: el grupo 1 Control (n= 8) recibió alimento estándar (Cooperación- Argentina) y agua corriente, ambos «ad libitum». En el grupo 2 (n = 8) se utilizó en el agua de beber un precursor del ácido oxálico, el etilenglicol (ETG) a una concentración del 1% y alimento estándar (Cooperación- Argentina), ambos «ad libitum». Los resultados de este estudio sugieren un estrecho vínculo entre la sobresaturación urinaria de OxCa y el daño túbulo intersticial. Estos datos indicarían que el control de la urinaria de OxCa en los estados de hiperoxaluria adquiere importancia más allá de la nefrolitiasis.

### **2.2.2 EN AL ÁMBITO NACIONAL**

**Suimer, L. Collavinos, C., Mamani K., Choque f., 2010. De la Universidad nacional de San Antonio Abad del Cusco realizaron el trabajo Efecto Antilitiásico del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow.* in vitro por el método RLU y en animales de experimentación por el método de inserción de un cuerpo extraño. Concluye que el extracto seco hidroalcohólico presenta actividad antilitiásica in vitro llegando a inhibir hasta en un 100 % la cristalización de cálculos oxálicos de Calcio. Así como en la marcha fitoquímica cualitativa se evidenció la presencia de: azúcares reductores, flavonoides, alcaloides, taninos, glucósidos cardiotónicos, lactonas, cumarinas, triterpenos, esteroides, resinas y lignanos.**

## 2.3 BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

### 2.3.1 Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow.

#### ✓ DESCRIPCIÓN

**TALLO:** redondo y acostillado, torcido y tortuoso, con 6-8 costillas delgadas y redondeadas, de 1-2 cm de diam. Nudos muy evidentes, circundantes y prominentes, huellas foliares opuestas; entrenudos 8-15 cm de largo.

**CORTEZA:** Rugosa por lenticelas; de color gris oscuro a café grisáceo.

**LENTICELAS:** Muy pequeñas y redondas, con abertura axial y horizontal, abundantes y dispersas, de color gris claro.

**MUESCA:** amarillo verdosa clara con borde café amarillento a verde, se torna a café grisáceo. Con un ligero exudado translúcido.

**RAMAS JÓVENES:** Hojas cordiformes, pelosas en ambas superficies o glabrescentes, margen entero o aserrado.

**SECCIÓN TRANSVERSAL:** Xilema amarillo verdoso claro, con numerosos poros pequeños, visibles, notables radios anchos y claros, médula de 1-2 mm, verde oscura a café verdosa, corteza grueso, blanco amarillento. Con exudado acuoso. El borde del xilema es crenado y se observan 8 pequeñas cuñas.

**FENOLOGÍA:** Florece de enero a diciembre, fructifica de enero a diciembre.

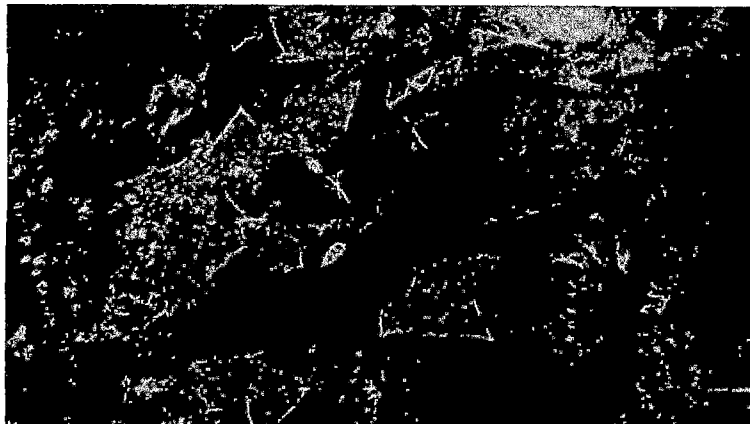
#### ✓ SINONIMIA

**NOMBRE COMÚN:** "guaco", "erva-de-cobra", "erva-de-sapo", "coração de Jesús" (Brasil); "matacampo", "pompero kocho", "ysipo kati" (Paraguay); "guaco" (Chaco); "nakoló letaá" (pilagá) (Corrientes); "palotr'oik" (mocoví)(Colares, 2010).

**NOMBRE CIENTÍFICO:** *Cacalia cordifolia* L.f; *Eupatorium marquezianum* Gomez de la Maza; *Mikania cissampelina* DC; *Mikania convolvulácea* DC; *Mikania gamoclada* DC; *Mikania covolvu* (Herbario Vargas, 2012.). *Cacalia cordifolia*, *Mikania cordifolia* (L. f.) Willd. var. *tomentosa*, *Mikania gonoclada*. (Colares, 2010).

✓ IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.

FIGURA Nº 3. *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.



FUENTE: *Propia*.

**División** : Magnoliophyta(=Angiospermas).  
**Clase** : Magnoliopsida= Tricolpados(Eudicotiledoneas).  
**Subclase** : Magnoliidae.  
**Súper orden** : Asteranae.  
**Orden** : Asterales  
**Familia** : Asteraceae.  
**Tribu** : Eupatoriaè.  
**Género** : *Mikania*.  
**Especie** : *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.

FUENTE: Herbario Vargas, 2012.

### 2.3.2 DISTRIBUCIÓN Y ECOLOGÍA:

América tropical y subtropical hasta el delta del Paraná. Su hábitat es variado, hallándose tanto en suelos bajos, inundables y bosques hidrófilos (vegetación ribereña), como en ambientes altos de bosques xerófilos. Se la suele observar cubriendo totalmente la copa de los arbustos y árboles bajos. (Pensiero, 1999).

Fenología: florece desde principio de primavera hasta el verano. Fructifica desde mediados de verano hasta principio del invierno. (Pensiero, 1999).



## 2.4 ANATOMÍA ABDOMINO - PÉLVICA DE LA RATA.

FIGURA N° 4. Cavidad abdomino - pélvica de la rata.



1. Aorta abdominal
2. Vena cava abdominal
3. De la arteria renal
4. La vena renal
5. Uréter (mentir en la clavija)
6. Iliolumbar arteria
7. Iliolumbar vena
8. Recto (corte)
9. Ovario
10. Útero
11. Cuerno uterino
12. La vejiga urinaria
13. Grasa abdominal
14. La arteria y la vena ovárica
15. Crus del diafragma
16. Riñón
17. Glándula suprarrenal

FUENTE: Anatomía bioterio (2010).

## 2.5 DESCRIPCIÓN DE LA UROLITIASIS

La urolitiasis consiste en la generación de cálculos en el tracto urinario. Un cálculo urinario es una estructura sólida que se origina como consecuencia de alteraciones en el balance fisicoquímico y/o urodinámico del aparato urinario, desde los túbulos colectores hasta la uretra. Estas estructuras tienen un tamaño mínimo de 100 micras, y están formadas básicamente por elementos cristalinos (sales urinarias) y, en menor medida por elementos amorfos orgánicos y/o inorgánicos, que pueden ser mixtos con sustancias no cristalinas de alto peso molecular (matriz del cálculo). (Muñoz, 2004).

En la actualidad se reconocen una serie de factores epidemiológicos favorecedores de la formación de cálculos (CUADRO N° 3). Unos dependientes del propio individuo y otros en relación con factores medio-ambientales. La influencia de ambos factores epidemiológicos debe tenerse en cuenta en cada caso de formación de cálculos.

**CUADRO N° 3. Marcadores y factores de riesgo de la urolitiasis.**

<b>Marcadores de riesgo</b>	
<b>Edad</b>	Prevalencia máxima de la enfermedad entre la tercera y quinta década de la vida.
<b>Sexo</b>	A nivel mundial, la litiasis afecta predominantemente al sexo masculino (relación 2-3/1). En las mujeres predominan las litiasis de origen infeccioso o las relacionadas con defectos metabólicos, como la cistinuria o el hiperparatiroidismo, mientras que en el varón es más frecuente la litiasis oxalocálcica, así como la litiasis úrica.
<b>Raza</b>	Los asiáticos, sirios e indios parecen tener una mayor predisposición a padecer la enfermedad en contraposición con la raza negra, con una menor propensión, quizá por el aumento de los inhibidores de la cristalización en orina o por hipovitaminosis D.
<b>Herencia</b>	Papel importante en las litiasis úricas, xantínicas, cistinúricas y en algunos casos de litiasis cálcica secundaria a acidosis tubular renal o hipercalciuria familiar hereditaria.

**FUENTE:** Camargo (2010).

**CUADRO N° 4. Factores de riesgo de la urolitiasis.**

<b>Factores de riesgo.</b>	
Dieta	<p>Puede favorecer la eliminación por la orina tanto de sustancias litógenas, como inhibidores de la cristalización.</p> <p>Son muy frecuentes los hábitos y excesos dietéticos peculiares, individuales y familiares que favorecen la litiasis en alguna de sus formas.</p>
Ingesta de líquidos	<p>El aporte oral de líquidos provoca una disolución osmótica extracelular, que produce una disolución urinaria y disminuye la precipitación cristalina en las personas predispuestas a formar cálculos. Por el contrario, la baja diuresis se considera como uno de los factores de riesgo más importantes en la litogénesis.</p> <p>El contenido mineral del agua podría contribuir a la formación de cálculos en enfermos predispuestos.</p>
Factores climáticos y estacionales	<p>El aumento de la temperatura atmosférica determina el de las pérdidas hídricas, la disminución de la diuresis y la elevación de la concentración urinaria de solutos, favoreciendo la enfermedad litiásica.</p>
Distribución geográfica	<p>Parece claro que los efectos de la geografía sobre la litiasis urinaria se superponen a factores ambientales, alimentarios y socioeconómicos.</p> <p>La litiasis urinaria es frecuente en Estados Unidos, Europa Central, países mediterráneos, Pakistán, India y China, a diferencia de Centroamérica, Sudamérica y la mayor parte de África.</p>
Nivel socioeconómico y profesión	<p>Un nivel socioeconómico alto conlleva una mayor frecuencia de dietas ricas en proteínas animales, azúcares, cosa que conduce a una mayor presencia urinaria de oxalato, urato y calcio, lo que aumenta el riesgo litógeno. Las profesiones que comportan una vida sedentaria o se relacionan con ambientes calurosos tienen una mayor frecuencia de litiasis. El estrés se considera como un factor de riesgo en la litiasis oxalocálcica. Los sectores más marginados, así como los países subdesarrollados, presentan un predominio de la litiasis infecciosa.</p>

**FUENTE:** Camargo (2010).

## **2.6 LITOGÉNESIS URINARIA**

### **2.6.1 EL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN EN EL ORGANISMO.**

La cristalización se define como el proceso por el cual se generan sólidos cristalinos y cuando estos sólidos son sales cálcicas hablamos de calcificación. En el organismo, bajo condiciones fisiológicas y controladas tiene lugar el proceso de cristalización en huesos, cartílagos y dientes en forma de fosfato cálcico. A este tipo de cristalización se le denomina calcificación fisiológica.

Este hecho pone de manifiesto la importancia de los factores que regulan el proceso de cristalización y del equilibrio que existe entre ellos. De hecho, la modificación de algunos de estos factores, puede provocar la alteración del proceso normal de mineralización, dando lugar a toda una serie de patologías. Así, en algunas ocasiones, cuando se produce la alteración de algún parámetro bioquímico o fisiológico, tienen lugar cristalizaciones descontroladas en tejidos blandos como son el riñón, la piel, los vasos sanguíneos y las válvulas cardíacas. Este tipo de cristalización se llama cristalización ectópica o patológica y puede tener graves consecuencias en función de su extensión y tejido afectado (Sanchis, 2008)

### **2.6.2 CRISTALIZACIÓN DEL CALCIO**

El calcio es el catión más abundante del organismo humano e interviene en todas las cristalizaciones fisiológicas (fosfatos cálcicos) y en una gran cantidad de cristalizaciones patológicas (fosfatos, oxalatos y carbonatos cálcicos). Generalmente, el 99% del calcio corporal total, se encuentra en el esqueleto formando cristales de hidroxapatita y el 1% restante en la sangre. En la sangre se encuentra en un 50% como calcio iónico libre, en un 10% ligado a iones (citrato, bicarbonato) y en un 40% ligado a proteínas (fundamentalmente albúmina). La concentración del calcio intracelular es del orden de  $10^{-6}$  M frente a  $10^{-3}$  M en el líquido extracelular (Sanchis, 2008).

### **2.6.3 FACTORES IMPLICADOS EN EL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN**

En general, cualquier proceso de cristalización patológica es consecuencia del desequilibrio entre tres grupos de factores etiológicos: la sobresaturación, los promotores y los inhibidores de la cristalización. Además, estos tres grupos de

factores han demostrado estar implicados también en las cristalizaciones fisiológicas (Sanchis, 2008).

#### **2.6.3.1 LA SOBRESATURACIÓN**

La presencia de cantidades crecientes de solutos en la orina a una temperatura y pH adecuado, alcanzando una concentración saturada que provocará la cristalización de los mismos. (Estevez, 2009)

#### **2.6.3.2 PROMOTORES DE LA CRISTALIZACIÓN O NUCLEANTES HETEROGÉNEOS**

Existen determinadas sustancias que facilitan la formación de cristales. Los promotores de la cristalización o nucleantes heterogéneos son sustancias con capacidad para actuar como núcleo sobre el cual pueda formarse el futuro cristal, disminuyendo así el período de inducción necesario para la formación del cristal.

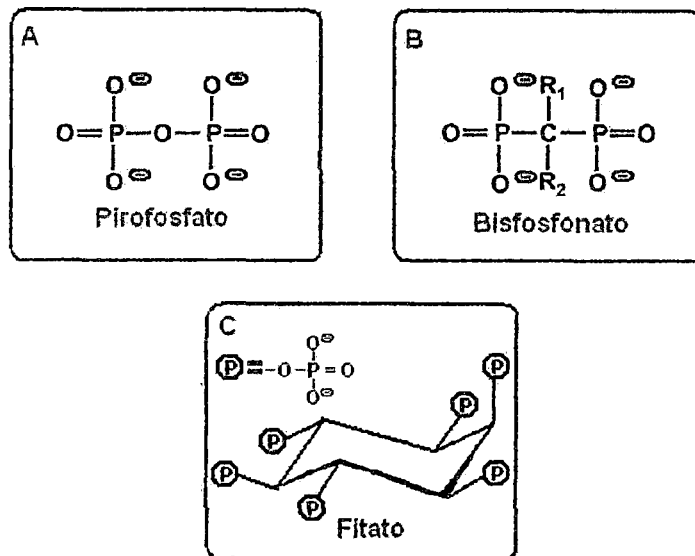
En la litiasis oxalocálcica, los cristales de ácido úrico (a pH inferiores a 5.5), los de fosfato cálcico (a pH superiores a 6.0) y la materia orgánica son nucleantes heterogéneos a considerar (Sanchis, 2008). En las calcificaciones cardiovasculares, algunos autores han indicado que los productos de degradación tisular juegan un papel muy importante como nucleantes heterogéneos.

#### **2.6.3.3 INHIBIDORES DE LA CRISTALIZACIÓN**

Los inhibidores de la cristalización se pueden definir como todas aquellas sustancias que impiden o dificultan la formación de un determinado material cristalino por intervenir en una o varias de sus etapas de formación. El mecanismo de acción de los inhibidores de la cristalización es la unión o adsorción sobre la superficie del núcleo o cristal en desarrollo. Algunas sustancias que han demostrado actuar como inhibidores de la cristalización para sales cálcicas son el pirofosfato, los bisfosfonatos y el fitato (Sanchis, 2008).

Las propiedades inhibitoras del pirofosfato, los bisfosfonatos y el fitato se pueden explicar al observar sus estructuras (FIGURA N° 5), ya que presentan grupos fosfato con afinidad por los iones calcio de

los cristales en formación. De esta manera, la adsorción de estos compuestos sobre la superficie de los núcleos y/o cristales cálcicos es capaz de impedir su posterior desarrollo.



**FIGURA N° 5.** Estructura de inhibidores de la cristalización para sales cálcicas: A. Estructura del pirofosfato. B. Estructura de los bisfosfonatos. C. Estructura del fitato. Estos tres compuestos son sustancias con grupos fosfato que poseen propiedades inhibitoras de la calcificación. La estructura de los bisfosfonatos presenta dos grupos fosfonato unidos a un carbono central (geminal) y dos cadenas adicionales, R1 y R2. La disposición de las dos cadenas laterales permite numerosas sustituciones y posibilita el desarrollo de análogos con diferentes propiedades farmacológicas. (Sanchis, 2008).

Estudios, ponen en evidencia que existen determinadas sustancias (como el pirofosfato y los bisfosfonatos, inicialmente clasificadas como inhibidores de la cristalización) que han demostrado poseer la capacidad de inhibir tanto la disolución como la formación de cristales cálcicos. Y que, en consecuencia, algunas de estas sustancias podrían actuar como reguladoras del proceso de calcificación en el organismo.

Recientemente, se ha demostrado que el fitato, una sustancia natural con seis grupos fosfato, presenta una capacidad inhibitora extraordinaria sobre las

cristalizaciones patológicas de sales cálcicas. El fitato es una molécula de peso molecular relativamente bajo que se encuentra en las semillas utilizadas en nuestra alimentación (como son cereales, legumbres y frutos secos) y que está presente en fluidos fisiológicos (sangre, orina, fluidos intersticiales e intracelulares) y tejidos de mamíferos en bajas concentraciones que dependen de su aporte exógeno (Sanchis, 2008).

#### **2.6.3.4 EL pH URINARIO**

Si es alcalino reduce la cristalización del oxalato de calcio ya que el fosfato y el citrato se disocian incrementando la complejación del calcio evitando que se una al oxalato, sin embargo, a pH mayor de 6 se favorece la formación de cálculos de fosfato de calcio (Lewandowski y Allen, 2004).

### **2.7 ETAPAS IMPLICADAS EN EL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN.**

A fin de considerar con detalle el mecanismo de acción de los inhibidores de la cristalización, deben tenerse en cuenta las etapas fundamentales implicadas en cualquier proceso de cristalización: nucleación, crecimiento cristalino y agregación.

#### **2.7.1 NUCLEACIÓN**

La nucleación implica la formación de una masa cristalina mínima capaz de seguir creciendo (núcleo) y es, sin duda, la etapa inicial y la más importante en el proceso de cristalización. Cabe destacar que en el seno de la disolución, las micropartículas chocan entre ellas y se agregan de manera que aquellos agregados de tamaño inferior a cierto valor crítico son inestables y se desintegran, en cambio aquellos de tamaño superior al crítico son estables y precipitan, formándose así, la partícula mínima capaz de seguir creciendo. La nucleación puede ser básicamente de dos tipos: homogénea y heterogénea. (Sanchis, 2008).

### 2.7.1.1 NUCLEACIÓN HOMOGÉNEA.

En la nucleación homogénea, la partícula mínima está constituida por las mismas especies que van a constituir el futuro cristal. Este tipo de nucleación es un proceso difícil y poco probable que necesita una sobresaturación muy elevada. Los inhibidores de la nucleación homogénea serán aquellas sustancias capaces de unirse a las micropartículas de tamaño inferior al crítico, impidiendo que se forme la partícula mínima capaz de seguir creciendo.

En la nucleación homogénea, la partícula mínima está constituida por las mismas especies que van a constituir el futuro cristal. Este tipo de nucleación es un proceso difícil y poco probable que necesita una sobresaturación muy elevada. Los inhibidores de la nucleación homogénea serán aquellas sustancias capaces de unirse a las micropartículas de tamaño inferior al crítico, impidiendo que se forme la partícula mínima capaz de seguir creciendo.

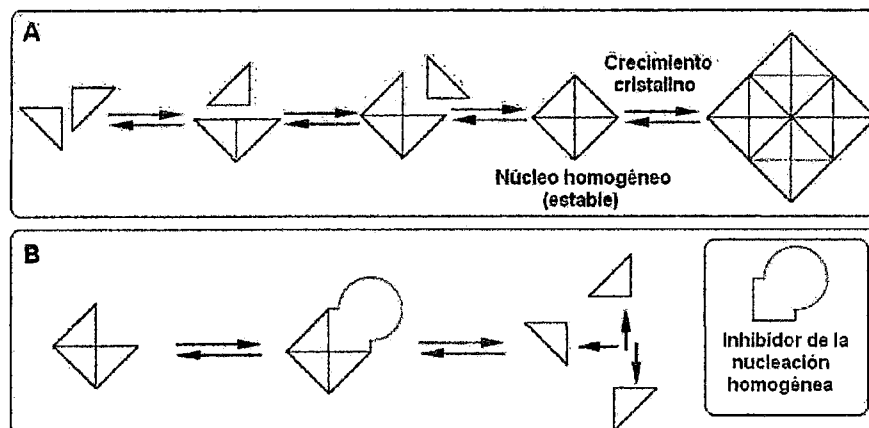


FIGURA Nº 6. Ilustración de la nucleación homogénea: A. Etapas de formación de un núcleo homogéneo. B. Mecanismo de acción de un inhibidor de la nucleación homogénea (Sanchis, 2008).

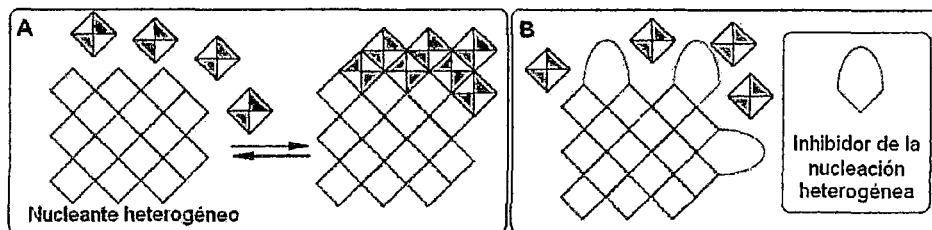
### 2.7.1.2 NUCLEACIÓN HETEROGÉNEA.

La nucleación heterogénea es mucho más sencilla que la homogénea, ya que exige únicamente la presencia de partículas sólidas que sean capaces de atraer y retener en su superficie las especies que van a constituir el futuro cristal. En este caso, el núcleo presenta una composición diferente a la del resto del cristal. Los inhibidores



de la nucleación heterogénea serán aquellas sustancias que evitan que los posibles núcleos heterogéneos actúen como tales, ya sea porque impiden su formación o bien porque dificultan la unión con las especies que constituirían el futuro nuevo cristal.

Una vez formado el núcleo, la posterior formación del cristal implica la combinación de dos procesos: el crecimiento cristalino y la agregación.



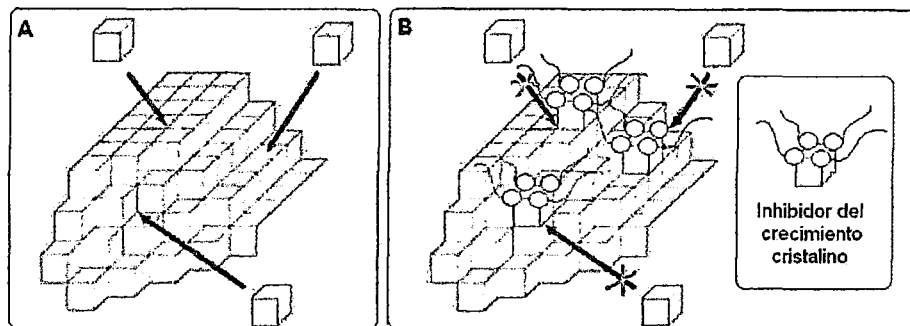
**FIGURA N° 7.** Ilustración de la nucleación heterogénea: A. Etapas de formación de un núcleo heterogéneo. B. Mecanismo de acción de un inhibidor de la nucleación heterogénea (Sanchis, 2008).

### 2.7.2 CRECIMIENTO CRISTALINO.

El crecimiento cristalino supone la incorporación gradual de las unidades que van a constituir el futuro cristal sobre las caras del mismo en lugares especialmente favorecidos (Figura 9A). El crecimiento cristalino tiene lugar a través de tres procesos:

- Transporte de materia, desde la disolución sobresaturada hacia el cristal por difusión y/o convección.
- Reacción superficial, que supone la incorporación gradual de las unidades al cristal.
- Evacuación del calor de cristalización desde el cristal hasta el seno de la disolución.

En las disoluciones sobresaturadas este proceso es muy favorable y se da con facilidad. Los inhibidores del crecimiento cristalino son aquellas sustancias que se adsorben sobre la superficie del cristal ya formado, impidiendo o dificultando la incorporación de nuevas unidades cristalinas al mismo (FIGURA N°8).



**FIGURA N° 8.** Ilustración del crecimiento cristalino: A. Esquema del crecimiento cristalino. B. Mecanismo de acción de un Inhibidor del crecimiento cristalino. (Sanchis, 2008).

### 2.7.3 AGREGACIÓN

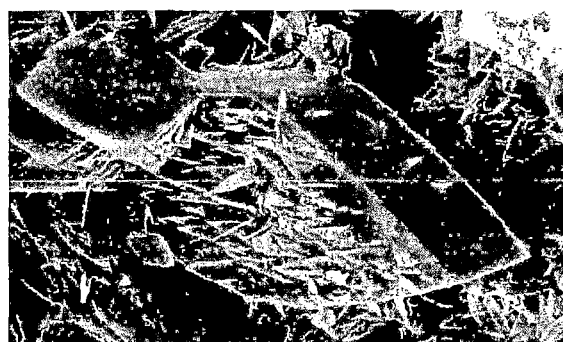
La agregación puede ser de dos tipos: primaria y secundaria.

#### 2.7.3.1 AGREGACIÓN PRIMARIA

La agregación primaria implica la formación de nuevos cristales (cristales hijos) sobre las caras de los ya existentes (cristales padres)

Este tipo de agregación se da con más o menos facilidad en función de la naturaleza de los cristales de manera que en el caso del oxalato cálcico éste es un proceso muy favorable. En cuanto a los inhibidores de este tipo de agregación, no se tienen muchos datos pero, puesto que el mecanismo de este proceso es similar al del crecimiento cristalino, cabe esperar que los inhibidores del crecimiento cristalino lo sean también de la agregación primaria.

**FIGURA N° 9.** Imagen de un agregado primario de oxalato cálcico monohidrato



**FUENTE:** (Sanchis, 2008).

### 2.7.3.2 AGREGACIÓN SECUNDARIA

La agregación secundaria consiste en la unión de cristales ya formados mediante enlaces débiles entre cristal y cristal favoreciendo dicha unión. La agregación secundaria tiene un papel importante en aquellos medios donde existe una gran cantidad de cristales (p.e., la litiasis infecciosa o de fosfatos cálcicos).

Los inhibidores de la agregación secundaria son sustancias cargadas que se adsorben sobre las superficies de los cristales confiriéndoles carga eléctrica del mismo signo. De esta manera, se generan repulsiones entre los cristales y el proceso de unión para formar el agregado secundario se ve impedido o dificultado. (Sanchis, 2008).

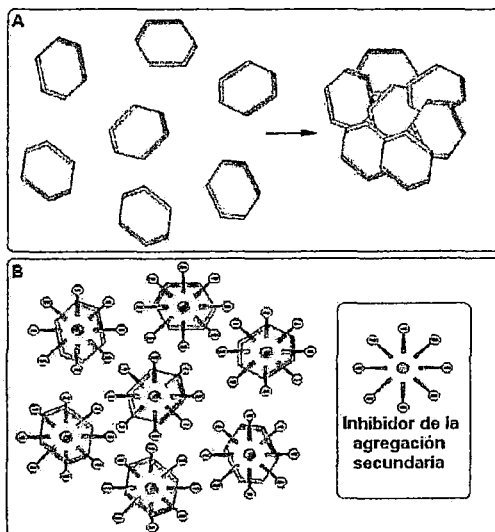


FIGURA N° 10. Ilustración de la agregación secundaria: A. Esquema de agregación secundaria. B. Mecanismo de acción de los inhibidores de la agregación secundaria. (Sanchis, 2008).

## 2.8 CLASIFICACIÓN DE LOS CÁLCULOS RENALES

En general, los pacientes afectados de litiasis renal se pueden clasificar, de acuerdo con el componente químico mayoritario del cálculo, en 6 grandes grupos generales:

- ❖ Litiasis de oxalato cálcico (70-80% de los casos).
- ❖ Litiasis de fosfatos cálcicos (5-10% de los casos).

- ❖ Litiasis de ácido úrico (5-10% de los casos).
- ❖ Litiasis de estruvita o infecciosa (5% de los casos).
- ❖ Litiasis de cistina (1% de los casos).
- ❖ Litiasis medicamentosa (1% de los casos).

El estudio minucioso de la composición y microestructura de los cálculos renales ha permitido obtener información crucial sobre los mecanismos físico-químicos de su formación. Esto ha posibilitado el desarrollo reciente de clasificaciones que relacionan la composición y estructura de los cálculos renales con sus mecanismos de formación y, por extensión, con los posibles factores urinarios responsables de su formación (etiología litiásica). Estas clasificaciones son de gran importancia en la práctica clínica ya que permiten, a través de un análisis correcto de la morfología, estructura y composición del cálculo renal, conocer las posibles alteraciones urinarias susceptibles de haber desencadenado el episodio litiásico, proporcionando, de esta manera, información decisiva para el tratamiento de la enfermedad litiásica encaminado a evitar recidivas.

### **Cálculos oxálicos**

Constituye el componente mayoritario (75%) de los cálculos urinarios generados en los países industrializados, presentándose en dos formas hidratadas diferentes (Ramzi y Cotran, 2000):

#### **Cálculos de oxalato cálcico monohidratado (COM)**

Cálculos de oxalato de calcio formados frecuentemente en condiciones de normocalciuria asociados a un déficit de la capacidad inhibidora de la cristalización (Opalko et al., 1997). Este tipo de cálculos dispone de un núcleo de composición variable a partir del cual crece una capa de COM estriada radialmente formada por cristales laminares que crecen perpendicularmente a la superficie nuclear; además constituye la fase termodinámicamente estable del oxalato de calcio (Muñoz, 2004).

#### **Cálculos de oxalato cálcico dihidratado (COD)**

La forma dihidratada es la fase termodinámicamente inestable del oxalato de calcio, solo se explica considerando factores cinéticos como: una relación calcio/oxalato

elevada, fuerza iónica elevada, concentración normal de citrato y presencia de fosfato de calcio coloidal a pH menor o igual a 6.0 (Ramzi y Cotran, 2000).

### **Cálculos de oxalato cálcico mixtos**

Son cálculos formados por las dos formas hidratadas del oxalato de calcio (COM y COD), primero se induce la formación de COM en el urotelio y posteriormente sobre éste se induce el desarrollo de COD bajo condiciones favorables: concentración de calcio elevada, pH urinario menor de 6, entre otros (Muñoz, 2004).

## **2.9 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA LITIASIS RENAL**

La existencia de un cálculo en el aparato urinario puede determinar múltiples manifestaciones clínicas.

- **LITIASIS ASINTOMÁTICA:** La presencia de un cálculo calicular, pielico incluso ureteral, puede cursar de manera totalmente silenciosa, síntomas clínicos o biológicos ( Muñoz, 2004).
- **LITIASIS OLIGOSINTOMÁTICA:** La existencia de un cálculo localizado en un cáliz, pelvis renal o divertículo renal suele ponerse en evidencia por síntomas de escasa intensidad: dolor, molestia, incomodidad o pinchazos. Son dolores preferentemente lumbares, de tipo crónico, que se alivian o desaparecen con el reposo y que son desencadenados por la actividad o la marcha (Muñoz, 2004).
- **CÓLICO NEFRÍTICO:** Es la manifestación más común de la litiasis, caracterizada por un dolor agudo e intenso. El dolor varía según los casos, en función de la localización, el tamaño, la superficie y la movilidad del cálculo, en la zona de impactación del mismo, así como de las alteraciones mecánicas o dinámicas del flujo urinario que este ocasiona, generando presión y disfunción de la vía urinaria. La impactación del cálculo aumenta la intensidad del cólico, dependiendo de la localización y la irradiación del dolor del lugar donde quede enclavado .

- **OTROS:** Además de los síntomas urinarios se presentan: espasmos dolorosos, hematuria, dolor al orinar, dolor en la zona lumbar, si hay infección: fiebre, escalofrío, anorexia (**Estévez, 2009**).

## **2.10 DIAGNÓSTICO DE LA LITIASIS**

El estudio minucioso de los factores implicados en la formación de los cálculos renales permite contar con la información necesaria sobre las causas que originan el trastorno patológico, el tratamiento a seguir así como el pronóstico de la enfermedad, por lo que es necesario tener en cuenta la historia clínica del paciente, la realización del examen físico, pruebas de laboratorio y técnicas de imagen como radiografías y/o ultrasonido (**Estévez, 2009**).

## **2.11 TRATAMIENTO DE LA LITIASIS RENAL.**

El objetivo primordial del tratamiento es aliviar el dolor e inhibir la formación de nuevos cálculos. El alivio de dolor puede lograrse con antiespasmódicos, el más usado de los cuales es el butil bromuro de hioscina. La alternativa son los opiáceos, meperidina o morfina, y tienen excelente acción analgésica (**Sanchez, 2007**).

### **2.11.1 TRATAMIENTO MÉDICO**

Tiene como objetivo la disolución y/o eliminación del cálculo renal ya formado, la profilaxis de la formación de los mismos o de la recidiva de la urolitiasis, así como tratar las complicaciones derivadas de la litiasis (**Estévez, 2009**).

Constituye el 80% de los casos, el tratamiento ésta centrada en:

- Dieta. Tiene gran importancia cuando es de origen absortivo, se prohíben productos lácteos, frutos secos, chocolate, etc.
- Tratamiento del desorden metabólico, mediante la administración de:
  - Vitamina B6, ya que la Piridoxina aumenta la actividad de la enzima glioxilato carboligasa y disminuye los niveles de ácido oxálico.
  - Succinamida. Facilita la utilización del Ácido Oxálico y de sus precursores.
  - Inhibidores de la cristalización del Oxalato de Calcio: Citrato de Potasio y Magnesio.

- Suplementos de Citrato de Potasio para corregir la hipocitraturia asociada a hiperuricosuria e hipercalcemia.
- Tiazidas. Aumentan la absorción de Calcio a nivel del tubulo distal para depositarse en los huesos, reduciendo los niveles plasmáticos de vitamina D.

#### **2.11.1.1. Para la litiasis úrica.**

- Disminuir la excreción urinaria de ácido úrico a través de la dieta, la cual debe ser pobre en purinas (mariscos, carnes rojas, vísceras de animales, cacao, etc.), intervenir la síntesis de ácido úrico con Alopurinol.
- Aumento de la diuresis. El aporte de líquidos debe ser de 2.5 L (24 horas).
- Alcalinizar la orina con Bicarbonato de Sodio, Acetazolamida, Citrato de Potasio, etc., para solubilizar los cristales de Ácido Úrico.

#### **2.12.1.2. Para la litiasis cistínica.**

- Disminuir la ingesta de proteínas animales con el fin de evitar la presencia de metionina (precursor de la cistina).
- Aumento de la diuresis. El aporte de líquidos debe ser de 3 a 5 L al día para mantener una concentración de cistina por debajo de su punto de solubilidad (200 y 300 mg/L).
- Alcalinizar la orina a un valor mayor de 7.5 con el fin de evitar la precipitación de cistina, los productos utilizados son: bicarbonato de sodio, Acetazolamida, Citrato de Potasio, etc.

#### **2.11.1.3. Para la litiasis infecciosa.**

- Control de la infección mediante administración de antibióticos e inhibidores de la ureasa (ácido acetohidroxámico) con el fin de evitar la formación de amonio y la subsecuente alcalinización de la orina.
- Control del Fosforo y Calcio en la dieta, así como la administración de quelantes del fosforo a nivel intestinal (medida poco usada por los efectos secundarios que produce).
- Hidratación.
- Acidificación de la orina con cloruro de amonio y ácido ascórbico para neutralizar la alcalinidad característica de la infección.

## **2.11.2 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.**

### **2.11.2.1 Lítrotipsia extracorpórea por onda de choque.**

Consiste en la fragmentación de los cálculos renales por aplicación de ondas sonoras de alta frecuencia, los cuales posteriormente se eliminan en la orina paulatinamente.

### **2.11.2.2 Nefrolitotomía percutánea.**

Procedimiento que consiste en la fragmentación y eliminación de los cálculos renales menores de 2 cm usando un equipo endoscópico llamado nefroscopio y de instrumentos de extracción de cálculos introducidos por los uréteres hasta localizar el cálculo mediante ultrasonido, una vez en contacto se introduce un taladro que despedaza la piedra para que sea expulsada posteriormente en la orina.

### **2.11.2.3 Ureteroscopía.**

Su finalidad es fragmentar los cálculos renales no mayores de 2 cm con un uretoscopio con dimensiones menores a otros artefactos empleados en el tratamiento invasivo de la urolitiasis, entre las ventajas que ofrece es el menor tiempo de recuperación, mínima invasión, bajo riesgo de perforación.

### **2.11.2.4 Uso de stent uretral.**

Procedimiento invasivo cuya finalidad es remover cálculos renales mediante el uso de un tubo metálico hueco por donde se introduce aparatos de anclaje, fragmentación y extracción de cálculos.

### **2.11.2.5 Cirugía.**

Es aplicada cuando el tamaño del cálculo es mayor de 2 cm o cuando hay imposibilidad de aplicar las otras técnicas.

## **2.11.3 FITOTERAPIA.**

Los primeros medicamentos que el hombre pudo tomar fueron especímenes del reino vegetal.



En el caso de la litiasis renal se han descrito más de 70 especies vegetales con actividad antilitiásica, entre las que destacan plantas con acción diurética y antiséptica, así como aquellas que contengan saponinas, las cuales actúan disgregando las suspensiones de mucoproteína y/o inhibiendo la cristalización del oxalato de calcio, de ácido úrico siempre y cuando no existan cálculos de gran tamaño formados. (Estévez, 2009).

## 2.12 COMPUESTO INDUCTOR DE LA LITIASIS RENAL OXÁLICA.

### 2.12.1 ETILENGLICOL.

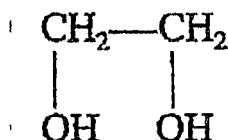


FIGURA N° 11. Estructura química del etilenglicol

FUENTE: Waksman J. (2012)

- Dulce, incoloro, inodoro.
- Usos comunes.
  - Anticongelante
  - Fluido descongelante para aviones
  - Líquido hidráulico de frenos
  - Pinturas a base de látex
- Dosis letal: 1-2 ml/kg.

#### 2.12.1.1 Farmacocinética

- Absorción: oral
- Distribución: agua corporal
- Metabolismo: hepático
- Eliminación: renal y metabolismo.

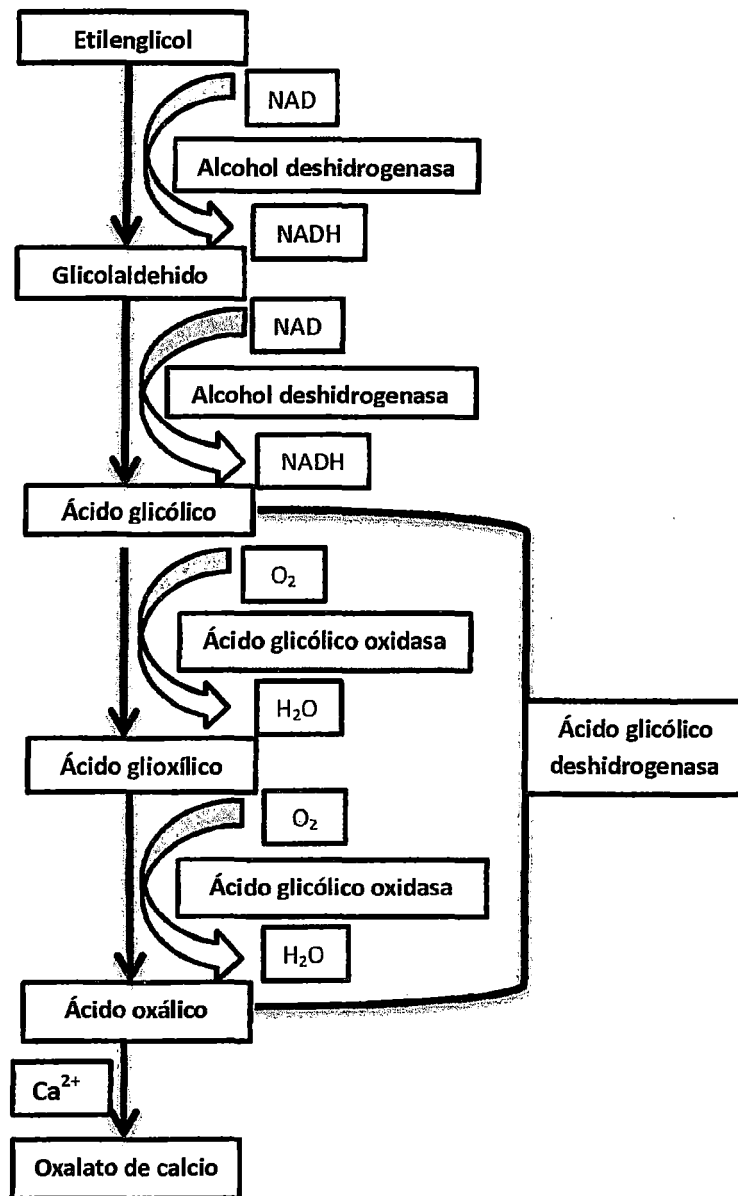


FIGURA Nº 12. Metabolismo del etilenglicol.

FUENTE: Carrillo Esper, R. (2006)

### 2.12.1.2 Modo de acción

Se oxida en el hígado dando glicolaldehído (neurotóxico), glicolato y oxilato (nefrotóxico) y glioxilato (acidosis metabólica).

**2.12.1.3 Signos clínicos:** Suelen comenzar una hora tras la ingestión, y son similares a los de la intoxicación alcohólica. Aparecen síntomas neurológicos como depresión leve, ataxia, convulsiones, neuropatía periférica, hiperexcitabilidad, estupor e incluso coma y muerte con dosis altas, junto con otros signos como vómitos, hipotermia, poliuria, polidipsia, deshidratación. Luego puede haber signos cardiorrespiratorios (12-24 horas tras la ingestión): taquipnea y taquicardia. Suele haber una recuperación momentánea y luego aparecen los signos renales (24-72 horas tras la ingestión): depresión acentuada, anorexia, vómitos, diarrea, hipotermia, dolor abdominal, encefalopatía, oliguria, coma y muerte por insuficiencia renal.

#### **2.12.1.4 Información Toxicológica.**

LD50 oral en ratas: 4700 mg/kg; LD50 piel de conejos: 9530 mg/kg.

Irritación - piel de conejos: 555mg (abierta), leve; Ojo de conejos: 500mg/24H, leve.

Ha sido investigado como tumorigeno, mutagénico y causante de efectos reproductivos. (Dorwil S.A. 2008).

#### **2.12.1.5 Tratamiento.**

Si se inicia el tratamiento habiendo pasado más de 24 horas de la ingestión el pronóstico es muy desfavorable inducir el vómito (si han pasado menos de 2 horas de la ingestión) o hacer lavado gástrico (antes de las 3 horas de la ingestión). Administrar carbón activado y catártico salino.

**Líquidos IV:** cloruro sódico al 0,45%, a dosis diurética (2-3 veces la dosis de mantenimiento), para combatir la deshidratación y facilitar la excreción.

**Bicarbonato sódico:** reduce la acidosis metabólica y aumenta la excreción urinaria. Controlar que el pH urinario se mantiene en 7.5.

**Antídoto:** Etanol al 7% IV a dosis de 0.6g/kg, seguido de una dosis de mantenimiento de 100 mg/kg/h, IV como mínimo durante las 10 horas posteriores.

Vitaminas del complejo B (B1 y B6), que favorecen la detoxificación, vía IM y en líquidos IV (contribuye a derivarlas a distintas rutas metabólicas): 25-50 mg/día IV.

**Diuréticos osmóticos:** manitol 20-25%. Controlar la cantidad de orina.

Diálisis peritoneal con solución de bicarbonato sódico.

En animales con insuficiencia renal oligúrica no administrar etanol sino instaurar un tratamiento sintomático de la insuficiencia renal, corrigiendo la deshidratación, las

alteraciones electrolíticas y ácido-básicas e iniciando y manteniendo la diuresis. El tratamiento de la insuficiencia renal puede tardar hasta 3-4 semanas, y a veces el daño renal llega a ser severo e irreversible.

### **2.12.2 CLORURO DE AMONIO.**

El cloruro de amonio, cloruro amónico o clorhidrato amónico es una sal de amonio cuya fórmula química:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . En su forma natural es un mineral conocido como sal amoniacal, sal de amoniaco o sal amoniaco.

#### **2.12.2.1 FARMACOLOGÍA Y MECANISMOS DE ACCIÓN**

##### **A. COMO DIURÉTICO**

El cloruro de amonio aumenta la excreción renal de cloruros y causa una respuesta diurética en personas normales o con edema. Se utilizó en un tiempo en el edema causado por la enfermedad de Lænnec. Cuando el cloruro de amonio es administrado a dosis de 9 g al día, la diuresis aumenta progresivamente durante la primera semana. A los dos o tres días comienza a elevarse la excreción de sodio.

##### **B. COMO ACIDIFICANTE**

El cloruro de amonio eleva la acidez al incrementar la concentración de hidrogeniones ( $\text{H}^+$ ) libres. La dosis es la misma que en su uso como diurético.

##### **C. COMO EXPECTORANTE**

Se sabe que el cloruro de amonio actúa irritando la mucosa, causando estimulación refleja de las glándulas de la mucosa bronquial.

#### **2.12.2.2 FARMACOCINÉTICA**

El cloruro de amonio se absorbe fácilmente desde la vía gastrointestinal en unas 5-6 horas tras la ingestión. Su metabolismo se efectúa en el hígado y su excreción es por la orina.

## 2.13 PARÁMETROS NORMALES DE LABORATORIO EN RATAS

TABLA N°1.A. Valores de referencia de creatinina en suero de ratas Sprague Dawley.

PARÁMETROS	GENERO					
	HEMRAS			MACHOS		
	RANGO DE EDAD(SEMANAS)					
	5-8	9-14	15-22	5-8	9-14	15-22
Creatinina (mg/dL)	0.23 – 0.80	0.5 -0.92	0.48-0.68	0.32-0.71	0.46-0.88	0.43-0.64

FUENTE: León (2011).

TABLA N°1.B. Valores de referencia de electrolitos en suero de ratas Sprague Dawley.

ELECTROLITOS	
SODIO	142-154 mEq / l
POTASIO	3.6-9.2 mEq / l

FUENTE: León (2011).

TABLA N°2.A .Valores de referencia de creatinina en suero de ratas.

CREATININA SÉRICA		
Media ± D E	N°	Cepa
0.44 ± 0.05	15	Long Evans
0.71 ± 0.16	15	Sprague Dawley
0.57 ± 0.04	10	Sprague Dawley
1.50 ± 0.79	151	Wistar

FUENTE: Research In Surgery (1990). a: valores en mg/dl

**TABLA N°2.B.Valores de referencia de electrolitos en suero de ratas.**

<b>ELECTROLITOS</b>					
<b>SODIO(mEq/l)</b>					
Media ± D E	N	cepa	sexo	Edad(meses)	Muestra
150.7 ± 1.8	15	Sprague Dawley	Hembra(H)	4	Suero
151.3 ± 7.6	15	Sprague Dawley	Macho(M)	4	Suero
140.4 ± 5.5	20	Fischer 344	M y H	3.5	Suero
140.0 ± 16.0	8	Wistar	Macho	6	suero
145.0 ± 3.0	6	Wistar	Hembra	6	plasma
<b>POTASIO(mEq/l)</b>					
Media ± D E	N	Cepa	sexo	Edad(meses)	Muestra
5.56 ± 0.56	15	Sprague Dawley	Hembra	4	suero
5.59 ± 0.68	15	Sprague Dawley	Macho	4	Suero
1.76 ± 1.06	18	Fischer 344	Hembra	3	Suero
4.30 ± 0.80	9	Wistar	Macho	6	suero
4.80 ± 0.40	6	Wistar	Hembra	6	plasma

**FUENTE:** Research In Surgery (1990).

## 2.14 GLOSARIO DE TÉRMINOS.

- **ACIDOSIS TUBULAR:** La acidosis tubular es un síndrome clínico *caracterizado por acidosis metabólica hiperclorémica* producida por disfunción tubular para la secreción de iones hidrógeno con una función glomerular normal o relativamente menos deteriorada que la función tubular. Se clasifica en dos grandes grupos: Acidosis tubular proximal o tipo II y acidosis tubular distal o tipo I. En la acidosis tubular proximal existe disminución en la reabsorción proximal de bicarbonato, que causa bicarbonaturia y disminución del bicarbonato sérico.
- **CALCULO CALICIAL:** Es aquel que ocupa un cáliz renal y que puede tener diferentes tamaños.
- **CALCULO PIÉLICO:** Es aquel que ocupa exclusivamente la pelvis renal.
- **CALCULO URETERAL:** Es la presencia de cálculos de diferentes composiciones químicas, formas y tamaños en el conducto del uréter, desde la unión pieloureteral hasta la unión ureterovesical. Para efectos de tratamiento, frecuentemente se dividen en cálculos ureterales del tercio proximal o superior, cálculos ureterales del tercio medio y cálculos ureterales del tercio distal o inferior.
- **CALCULO CORALIFORME:** Recibe este nombre porque remeda la forma de los corales. También se ha denominado cálculo de astas de ciervo o en ramazón de árbol. Generalmente moldea los cálices, los infundíbulos y la pelvis renal. Puede ocupar el sistema colector, parcial o totalmente.
- **CÓLICO NEFRÍTICO:** El cólico nefrítico es la manifestación clínica inicial más frecuente de la existencia en la vía urinaria de un cálculo. Se trata de un dolor agudo e intenso que evoluciona entre episodios penosos. Como dolor intenso, origina reacciones psicológicas que añaden en ocasiones al cuadro álgido, cierto grado de sufrimiento. Este cuadro es uno de los síndromes dolorosos más acentuados conocidos por la práctica médica en la asistencia de urgencias, por la brusquedad, intensidad y agudeza de sus síntomas.
- **CRISTALES DE ÁCIDO ÚRICO:** Los cristales de ácido úrico pueden presentar diferentes formas como puede ser de diamante o prisma, estar

aislados o unidos y generalmente se ven de color amarillo fuerte o rojo amarronados.

- **CRISTALES DE OXALATO DE CALCIO:** Tienen la forma de un sobre de cartas o pueden ser ovalados y presentan líneas que se entrecruzan, no tienen color.
- **URATOS AMORFOS:** Los **uratos amorfos** son sales de urato que no presentan la forma de otros cristales, no tienen forma alguna por eso se llaman amorfos y pueden ser de sodio, potasio, magnesio y calcio. Los uratos amorfos tienen aspecto de granos y color anaranjado o amarillento, no tienen ninguna importancia a nivel clínico.
- **URATOS DE SODIO:** Los cristales de urato de sodio son agujas o prismas muy finos agrupados entre sí, no poseen color o a lo sumo son amarillentos.
- **INFECCIÓN URINARIA:** Es una infección que se puede presentar en cualquier parte a lo largo de las vías urinarias. Las infecciones urinarias tienen diferentes nombres, dependiendo de qué parte de las vías urinarias está infectada.
- **LITIASIS RENAL:** Es la presencia de cálculos de diferente composición química, formas y tamaños en los cálices renales, en los infundíbulos caliciales y en la pelvis.
- **LITOTRIPSIA O LITOTRÍCIA EXTRACORPÓREA (LEC):** Los dos términos son aceptados semánticamente. El primero proviene del griego y el segundo del latín. Es un procedimiento mediante el cual se ubican, fragmentan o pulverizan los cálculos renales o ureterales, localizando el cálculo con ultrasonografía o fluoroscopia y emitiendo con un equipo de ondas de choque u ondas de presión.
- **LITIASIS INFECCIOSA:** La forma de presentación clínica de la litiasis infecciosa suele diferir de la de los cálculos de calcio pequeños. La litiasis infecciosa suele desarrollarse de modo insidioso y crónico, y típicamente no debuta con el cólico renal agudo que se observa a menudo cuando un pequeño cálculo ureteral provoca obstrucción. *(Muñoz 2004).*



# **CAPÍTULO III**

# **MATERIALES Y**

# **MÉTODOS**

### **3.1. MATERIALES BIOLÓGICOS**

#### **3.1.1. MUESTRA VEGETAL**

Se colectaron las partes aéreas (Tallos y hojas) de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. La colecta fue realizada en los alrededores de la comunidad de Wayanay, distrito de Wayanay (altura 2420 msnm; coordenadas geográficas: (12°48'28"S, 72°39'02"W), provincia La Convención, departamento de Cusco.

#### **3.1.2. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:**

Ratas albinas, hembras raza **Holtzman** provenientes del Instituto Nacional de Salud, Lima las cuales contaron con el certificado sanitario correspondiente.

### **3.2. MATERIALES E INSTRUMENTOS DE LABORATORIO.**

#### **3.2.1. MATERIALES DE CAMPO (RECOLECCIÓN).**

Tijeras de podar; cuchillo, bolsas de polietileno; bolsas de papel; papel periódico; prensa botánica; etanol 96°; rociador; balanza .

#### **3.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO.**

##### **a) VIDRIO**

Lunas de reloj; placas petri; goteros; embudos; tubos de ensayo; vasos precipitados de 50, 100, 200 y 500 ml; matraz Erlenmeyer 100, 500 ml; probetas 100 y 1000 ml; porta objetos; cubre objetos; baguetas; buretas.

##### **b) OTROS ACCESORIOS**

Papel filtro; pinzas para tubos de ensayo; gradillas; soporte universal; cintas determinadoras de pH (**UNIVERSAL TEST PAPER pH 0-14**); cintas reactivas de orina para determinación de densidad; hojas de bisturí; cánulas para administración oral en animales de experimentación; equipo de disección para cirugía menor.

### 3.2.3. INSTRUMENTOS Y EQUIPOS DE LABORATORIO

Calefactor (*TIMSHEL PANDA*); Baño maría (*BIONET modelo TA 220 V, - 40 a 70° C*); Rota vapor (*ROTAVAPOR® BÜCHII R-210/215 MODEL - ITALY*); Cocinas eléctricas; Centrífuga (*GREETMED MODELO GT119-100T*); Horno estufa (*MEMMERT 20-70 °C*); Microscopio binocular (*LEICA DM500*); Microscopio trinocular (*LEICA EC3- Software LAS EZ V2.0.0 for Windows*); Balanza de platillo y digital (*ADAM 0-150 g*); Balanza de platillo y digital (*SARTORIUS AG GOTTINGEN TE 412 de 0.01-410 g*), fotómetro de llama (*CARLZEISS JENA MODELO AAS1N*); Espectrofotómetro UV (*JASCO DB 2200*); Micrótopo (*LEICA RM2125 RTS*); Termómetro ambiental (*DOMTI*); Micro pipeta (*10 -100 µL ACUMAX*); Micro pipeta (*100 -1000 µL HUAWEI modelo P1000*); Micro pipeta (*1-5 mL BOECO GERMANY*).

### 3.2.4. REACTIVOS.

#### a. Solventes.

Agua destilada; Etanol 35%; Etanol 50 %; Etanol 70 %; Etanol 85 %; Etanol 95 %; Etanol 96 %; Etanol absoluto; Suero fisiológico; Xilol, éter de petróleo, clorformo.

#### b. Elementos y compuestos.

Ácido nítrico; Hidróxido de sodio; Sulfato de calcio; Ácido sulfúrico; Parafina; Ácido clorhídrico; Peróxido de hidrogeno; Nitrato de plata; Cloruro de amonio; Etilenglicol 62.07 g/mol .

#### c. Soluciones.

Permanganato de potasio; Formol; Tolueno; Albúmina; Tween; Azul de bromotimol; Eosina; Safranina; Hematoxilina.

### 3.2.5. OTROS MATERIALES.

Jaulas para crianza de animales de experimentación; jaulas metabólicas para determinación de flujo urinario, bebederos y comederos para animales de experimentación; focos de 60 W; lupas; molino de grano; secadero; jeringa descartables; guantes quirúrgicos; barbijos; algodón; detergentes.

### 3.3. LUGAR DE EJECUCIÓN

- Primera fase de la investigación: obtención del extracto seco hidroalcohólico y evaluación fitoquímica cualitativa de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. , realizada en el Laboratorio de Química Orgánica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Segunda fase de la investigación: inducción de litiasis renal en los animales de experimentación, realizada en el Laboratorio de Farmacología y toxicología de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Tercera fase de la investigación: determinación de sodio y potasio en suero y orina, así como la determinación de ácido oxálico en orina, realizado en el laboratorio de Química Analítica Cuantitativa de la Carrera Profesional de Química de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- Cuarta fase de la investigación: determinación de creatinina (suero y orina), realizado en el laboratorio de Ciencias Clínicas Farmacéuticas de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

### 3.4. TIPO DE ESTUDIO

- La evaluación del efecto antiurolitiásico y sobre la función renal del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. en litiasis renal inducida en animales de experimentación es un estudio cuasi-experimental (por el análisis y alcance de los resultados), prospectivo (por el tiempo de ocurrencia de los hechos), transversal (por el periodo y secuencia de estudio); se dice que es cuasi-experimental por qué se va analizar si una o más variables independientes (extracto hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.) afectan a una o más variables dependientes (efecto antiurolitiásico; efecto sobre la función renal) y por qué lo hacen (Hernandez, 2003).

### 3.5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.5.1. CODIFICACIÓN

G: Grupo de animales de experimentación.

X: Dosis de terapia.

O: Medición de la prueba.

#### 3.5.2 EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIUROLITIÁSICO

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	---	O <sub>1</sub> , O <sub>7</sub> , O <sub>13</sub>
G <sub>2</sub>	---	O <sub>2</sub> , O <sub>8</sub> , O <sub>14</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub> , O <sub>9</sub> , O <sub>15</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub> , O <sub>10</sub> , O <sub>16</sub>
G <sub>5</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub> , O <sub>11</sub> , O <sub>17</sub>
G <sub>6</sub>	X <sub>6</sub>	O <sub>6</sub> , O <sub>12</sub> , O <sub>18</sub>

- G<sub>1</sub> : Grupo **testigo negativo** formado por 7 ratas hembras a las que sólo se les administró agua y comida durante los 42 días del experimento.
- G<sub>2</sub>: Grupo **testigo positivo** formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los 21 días siguientes del experimento solo se les administro agua y comida.
- G<sub>3</sub>: Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 14 días se les administró la dosis de 300 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcoholico de **Mikania cordifolia** (L.f.) Willdenow.

- **G<sub>4</sub>** : Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 14 días se les administró la dosis de 500 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcoholico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- **G<sub>5</sub>** : Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 21 días se les administró la dosis de 300 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcoholico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- **G<sub>6</sub>**: Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 21 días se les administró la dosis de 500 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcoholico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- ---: No se administró ningún tratamiento.
- **X<sub>3</sub>**: Corresponde a la administración de 300 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 35 del experimento.
- **X<sub>4</sub>**: Corresponde a la administración de 500 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 35 del experimento.
- **X<sub>5</sub>**: Corresponde a la administración de 300 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 42 del experimento.
- **X<sub>6</sub>**: Corresponde a la administración de 500 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 42 del experimento.
- **O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>, O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>**: Observación microscópica del tejido renal, alteración en la morfología, presencia – ausencia de cálculos renales.
- **O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>**: Determinación de ácido oxálico en orina.
- **O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>, O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>**: Determinación del pH urinario.

### 3.5.3 EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA SOBRE LA FUNCIÓN RENAL

GRUPO	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	---	O <sub>1</sub> , O <sub>7</sub> , O <sub>13</sub>
G <sub>2</sub>	---	O <sub>2</sub> , O <sub>8</sub> , O <sub>14</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub> , O <sub>9</sub> , O <sub>15</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub> , O <sub>10</sub> , O <sub>16</sub>
G <sub>5</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub> , O <sub>11</sub> , O <sub>17</sub>
G <sub>6</sub>	X <sub>6</sub>	O <sub>6</sub> , O <sub>12</sub> , O <sub>18</sub>

- **G<sub>1</sub>** : Grupo **testigo negativo** formado por 7 ratas hembras a las que sólo se les administró agua y comida durante los 42 días del experimento.
- **G<sub>2</sub>**: Grupo **testigo positivo** formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los 21 días siguientes del experimento solo se les administro agua y comida.
- **G<sub>3</sub>**: Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 14 días se les administró la dosis de 300 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- **G<sub>4</sub>** : Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 14 días se les administró la dosis de 500 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- **G<sub>5</sub>** : Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los

siguientes 21 días se les administró la dosis de 300 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.

- **G<sub>6</sub>**: Grupo experimental formado por 7 ratas hembras a las que se les administró cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis); los siguientes 21 días se les administró la dosis de 500 mg por kg de peso del extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.
- —: No se administró ningún tratamiento.
- **X<sub>3</sub>**: Corresponde a la concentración de 300 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 35 del experimento.
- **X<sub>4</sub>**: Corresponde a la concentración de 500 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 35 del experimento.
- **X<sub>5</sub>**: Corresponde a la concentración de 300 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 42 del experimento.
- **X<sub>6</sub>**: Corresponde a la concentración de 500 mg/Kg de peso por animal, del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Que se administraron del día 21 al día 42 del experimento.
- **O<sub>1</sub>, O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>, O<sub>4</sub>, O<sub>5</sub>, O<sub>6</sub>**: Determinación del flujo urinario.
- **O<sub>7</sub>, O<sub>8</sub>, O<sub>9</sub>, O<sub>10</sub>, O<sub>11</sub>, O<sub>12</sub>**: Determinación de la carga filtrada de sodio y potasio.
- **O<sub>13</sub>, O<sub>14</sub>, O<sub>15</sub>, O<sub>16</sub>, O<sub>17</sub>, O<sub>18</sub>**: Determinación de la depuración de creatinina.



### 3.6. IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

#### 3.6.1 VARIABLES IMPLICADAS

##### 3.6.1.1 VARIABLE INDEPENDIENTE.

- **EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE LOS TALLOS Y HOJAS SECOS DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Extracto hidroalcohólico se define como aquella sustancia extraída con solución hidroalcohólica, que posee una composición química que le proporciona una acción farmacológica útil en terapéutica y que no sufrió otro tratamiento que el necesario para su limpieza y desecación. (Villar 1999).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

**INDICADOR:** Peso de extracto seco expresado en miligramos.

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa.
- **ESCALA** : Razón o proporción.
- **INSTRUMENTO** : Balanza analítica.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : mg/Kg.
- **PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN:** Se mide pesando la cantidad de extracto seco de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. de acuerdo al peso a los animales de experimentación a las dosis de 300 y 500 mg/Kg de peso (ANEXO 1).

##### 3.6.1.2 VARIABLES DEPENDIENTES.

- ❖ **EFFECTO ANTIUROLITIÁSICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. LITIASIS RENAL INDUCIDA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Se define como efecto antilitiásico a los mecanismos que forman parte en la inhibición de la formación de cálculos en el aparato urinario, ya sea por diuresis, inhibiendo la nucleación de los cristales o aumentando el pH.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

**INDICADORES**

**INDICADOR 1: Estudio histológico para la observación microscópica del tejido renal, alteración en la morfología, presencia – ausencia de cálculos renales.**

**SUB INDICADOR 1.1. Alteración de la morfología del tejido renal.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** En la morfología tisular renal inalterada se puede observar las células bien delimitadas en donde se puede observar las fracciones de la nefrona, las cuales poseen una organización celular íntegra y continua en contra parte el tejido renal de ratas con litiasis presenta secreciones celulares abundantes en la mayoría de las porciones del tejido renal, existe una evidente discontinuidad celular con pérdida de la morfología celular (**Estévez 2009**).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cualitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa.
- **ESCALA** : Nominal.
- **INSTRUMENTO** : Microscopio.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : Si - No.

**PROCEDIMIENTO:** Tinción Hematoxilina – Eosina del tejido renal de los animales de experimentación, cortes histológicos y observación al microscopio.

**SUB INDICADOR 1.2 Deposición de cristales de Oxalato de Calcio.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Al administrar etilenglicol al 0.75% y cloruro de amonio 0.5% se inducirá a la formación de cristales de oxalato de calcio los que se depositaran en el tejido renal y que se podrán observar microscópicamente a través de la tinción Pizzolato (**Estévez 2009**).

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cualitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa.
- **ESCALA** : Nominal.
- **INSTRUMENTO** : Microscopio
- **UNIDAD DE MEDIDA** : Presencia-ausencia de cristales de Oxalato de Calcio.

**PROCEDIMIENTO** : Tinción-Pizzolato del tejido renal de los animales de experimentación, cortes histológicos y observación al microscopio.

#### **INDICADOR 2: Determinación de Acido Oxálico en orina.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** El oxalato cálcico presente en la orina se transforma en ácido oxálico por el método de Hodkinson modificado, para luego ser cuantificado por titulación volumétrica. (Estévez 2009)

#### **DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa.
- **ESCALA** : Proporción.
- **INSTRUMENTO** : Bureta.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : mg/ml.
- **PROCEDIMIENTO:** Titulación del ácido oxálico presente en la orina de los animales de experimentación.

#### **INDICADOR 3. Determinación de pH.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** El pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH indica la concentración de iones hidronio [H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] presentes en determinadas sustancias. La sigla significa "potencial de hidrógeno". El método

estándar para la medición del pH emplea electrodos de vidrio, el pH urinario, usualmente, es medido con indicador de papel, debido al hecho de que pequeños cambios en el pH son de poca importancia clínica. El pH es importante para el manejo clínico de las piedras o cristales (MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA 2009).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Indirecta.
- **ESCALA** : Intervalo.
- **INSTRUMENTO** : Peachimetro.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : 0-14.
- **PROCEDIMIENTO:** Para el estudio se medirá el pH en orina.

❖ **EFFECTO SOBRE LA FUNCIÓN RENAL DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO AL 70% DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. EN LITIASIS INDUCIDA EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Se define como efecto sobre la función de aquellos parámetros que nos indican el funcionamiento renal.

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

**INDICADORES**

**INDICADOR 1. Efecto del extracto sobre el flujo urinario.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** cantidad de líquido transportado por unidad de tiempo. (Espada, 2011)

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Directa.

- **ESCALA** : Razón.
- **INSTRUMENTO** : Matraz.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : ml.
- **PROCEDIMIENTO:** una vez concluido el tratamiento se colectó la orina de 6 horas para calcular el flujo urinario.

**INDICADOR 2. Efecto del extracto sobre las cargas filtradas de sodio y potasio.**

**SUB INDICADOR 2.1. Determinación de electrolitos sodio (Na+) y Potasio (K+).**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Se define balance electrolítico como el conjunto de funciones implicadas en el mantenimiento del balance entre la ingesta, el almacenamiento, la utilización y la eliminación de electrolitos en el cuerpo. (IIDRIS 2001)

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Indirecta.
- **ESCALA** : Razón.
- **INSTRUMENTO** : Fotometría de llama.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : mEq.
- **PROCEDIMIENTO:** Para el estudio de este efecto se medirán las concentraciones de sodio y potasio en suero y orina.

**INDICADOR 3. Efecto del extracto sobre la filtración glomerular.**

**DEFINICIÓN CONCEPTUAL:** Proceso efectuado en el riñón que permite una depuración de la sangre a medida que ésta fluye a través de los capilares glomerulares; el agua y las sustancias contenidas en la sangre se filtran y se dirigen hacia la cápsula de Bowman. Los únicos elementos que no son filtrados son las células sanguíneas y la mayor parte de las proteínas. El líquido filtrado originará la

orina mediante sucesivos mecanismos de reabsorción y secreción (**MANUAL DE PRÁCTICAS DE BIOQUÍMICA CLÍNICA 2009**).

**DEFINICIÓN OPERACIONAL:**

- **NATURALEZA** : Cuantitativa.
- **FORMA DE MEDICIÓN** : Indirecta.
- **ESCALA** : Razón.
- **INSTRUMENTO** : Espectrofotómetro UV.
- **UNIDAD DE MEDIDA** : mg/dl
- **PROCEDIMIENTO:** La filtración glomerular se determinará mediante el cálculo de creatinina sérica y creatinina urinaria.

**3.6.2 VARIABLES NO IMPLICADAS**

**VARIABLES INTERVINIENTES**

**De los animales de experimentación.** Especie, alimentación, ambiente de crianza y experimentación.

**De la planta en estudio.** Partes a recolectar y utilizar, Secado del material vegetal.

**Del extracto a evaluar.** Tipo de extracción, solvente a utilizar, tiempo de extracción, temperatura de extracción, evaporación del solvente.

**De la administración del extracto.** Vía de administración, vehículo, co-solvente.

### 3.6.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

#### 3.6.3.1 DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

##### A. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Especie: Ratas albinas, hembras raza Holtzman de 200 +/- 20 gramos, provenientes del Instituto Nacional de Salud, Lima. Que se adaptaren a las condiciones climáticas y de experimentación.
- Alimentación: Todos los animales de experimentación fueron mantenidos bajo las mismas condiciones de libre acceso a agua y alimento (**ANEXO 2**), y se les brindo diariamente comida estándar para roedores proveído por el bioterio de procedencia.
- Ambiente de crianza y experimentación: Los animales fueron mantenidos en el laboratorio de farmacología y toxicología, ubicado en el pabellón de aulas generales, a una temperatura de  $20 \pm 2$  °C con un ciclo artificial de luz/oscuridad de 12/12 horas. Las jaulas fueron secadas y limpiadas diariamente.

##### B. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Animales de experimentación que no cumplan con los criterios de inclusión o que se enfermen durante el periodo de adaptación a las condiciones climáticas y de experimentación.

#### 3.6.3.2 DE LAS PLANTAS EN ESTUDIO

##### A. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Partes a recolectar y utilizar: Se colectaron y utilizaron los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow en buen estado de conservación.
- Secado del material vegetal: Se realizó el secado de las partes aéreas en un ambiente ventilado y protegido de la luz solar.

##### B. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Partes aéreas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. que presenten signos de deterioro.

### **3.6.3.3 DE LA OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS**

- **Recolección:** la recolección del material vegetal se realizó en los meses de abril-mayo( época de floración)
- **Estabilización y secado:** el material vegetal se colocó en mallas de polietileno bajo sombra, ventilación adecuada y temperatura ambiente.
- **Molienda:** se realizó utilizando un molino de granos cortando previamente los tallos en pedazos pequeños.
- **Tipo de extracción:** El material vegetal fue extraído por maceración.
- **Solvente utilizado:** Se utilizó etanol al 70 % como solvente.
- **Tiempo de extracción:** Se realizó una maceración por 10 días.
- **Temperatura de extracción:** Se realizó a temperatura ambiente.
- **Evaporación de los solventes:** Los extractos crudos hidroalcohólicos fueron evaporados a sequedad bajo condiciones de temperatura presión reducida.

### **3.6.3.4 DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS**

- **Vía de administración:** Los extractos fueron administrados por vía oral.
- **Vehículo:** solución acuosa de Polisorbato (Twenn 80) al 2%.

## **3.7 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

Se utilizaron fichas de recolección de datos previamente elaboradas de acuerdo a los ensayos y a los datos a recolectar (ANEXOS 6, 7,8 y 9).

## **3.8 TÉCNICAS PARA EL PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.**

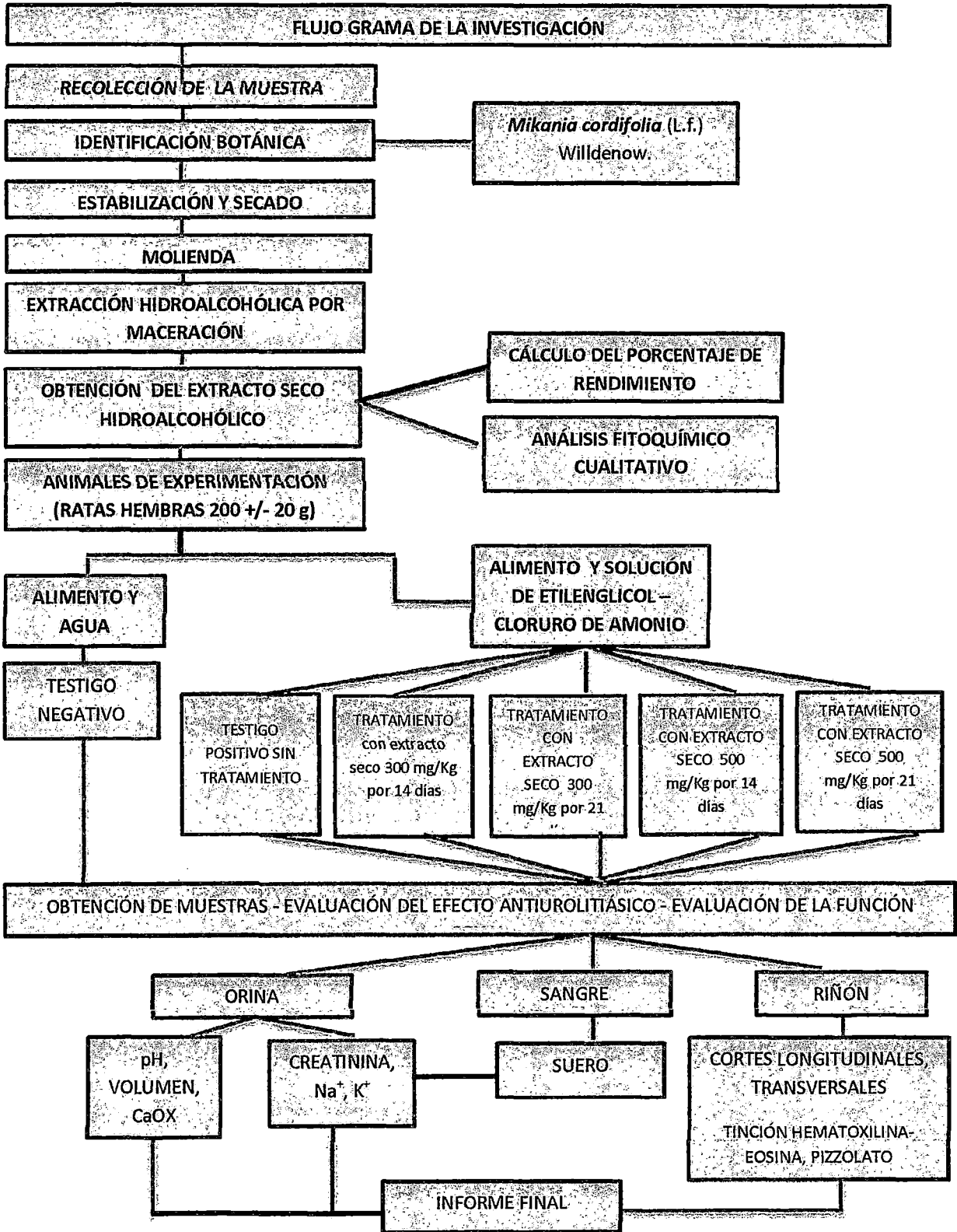
Se realizó el análisis de varianza (ANOVA) de una vía, seguida de la prueba *post-hoc* de Tukey para realizar comparaciones múltiples con ayuda del software SSPS versión 19. Los datos se expresan como la media  $\pm$  error estándar medio (E.S.M.). Las diferencias con  $p < 0.05$  entre los grupos experimentales comparados con el grupo testigo negativo fueron considerados estadísticamente significativos.



**CUADRO Nº 5 IDENTIFICACIÓN, DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

		Indicador		Naturaleza de la variable	Escala	Medición	Instrumento	Expresión final
<b>Variable independiente</b>	Extracto seco hidroalcohólico de <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow.			Cuantitativa	Razón	Directa	Balanza analítica	mg/Kg
<b>Variable dependiente</b>	Efecto antiurolitiásico del extracto seco hidroalcohólico de <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow.	Estudio histológico para evaluar la topografía renal.	Alteración de la morfología renal.	Cualitativa	Nominal.	Directa.	Microscopio	Si - No.
			Formación de cálculos.	Cualitativa	Nominal.	Directa.	Microscopio.	Presencia-ausencia.
		Determinación de ácido oxálico.		Cuantitativa	Razón	Indirecta	Bureta	mg/ml (% incremento o disminución)
	pH. urinario		Cuantitativa.	Intervalo.	Indirecta.	ph-metro.	0-14.	
	Flujo urinario		Cuantitativa	Razón	Directa	Probeta	mL/min. (% incremento o disminución)	
	Influencia en la función renal del extracto seco hidroalcohólico de <i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow.	Balace electrolítico.	Determinación de electrolitos sodio y potasio.	Cuantitativa	Razón	Indirecta	Fotómetro de llama.	mEq (% incremento o disminución)
		Filtración glomerular (depuración de creatinina).		Cuantitativa	Razón	Indirecta	UV	ml/min (% incremento o disminución)

### 3.9 FLUJograma DE LA INVESTIGACIÓN



FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

### **3.10 ANÁLISIS FITOQUÍMICO**

#### **3.10.1. PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS**

Para la preparación de los extractos se tomaron 200 g de material vegetal seco y molido. Los extractos se prepararon por maceración (relación planta solvente 1:5) con etanol comercial al 70 % (primera maceración por 10 días, seguida de dos maceraciones consecutivas de 24 horas cada una). Los extractos fueron filtrados y concentrados bajo presión reducida, con ayuda de rota vapor, a una temperatura menor de 45°C.

Los extractos fluidos fueron transferidos en frasco de vidrio y depositados posteriormente en una estufa a 40°C para completar la evaporación de agua residual. Se determinó el porcentaje de rendimiento de los extractos secos por diferencia de pesos con ayuda de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{[(\textit{peso de frasco} + \textit{extracto seco}) - \textit{peso de frasco}] \times 100}{200 \text{ g}}$$

Los extractos obtenidos fueron almacenados y conservados para su utilización en ensayos fitoquímicos y farmacológicos posteriores.

#### **3.10.2 PRUEBAS DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO**

Descrito en el ANEXO N° 13

### **3.11. ANÁLISIS FARMACOLÓGICO**

#### **3.11.1. INDUCCIÓN DE LA LITIASIS RENAL EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN- PROTOCOLO EXPERIMENTAL**

Para la inducción de la litiasis renal las ratas se distribuyeron aleatoriamente en 6 grupos de 7 animales de experimentación cada uno (Un grupo testigo positivo, cuatro grupos experimentales y un grupo testigo negativo). A los 5 primeros grupos experimentales se les administró alimento y una solución de cloruro de amonio al 0.5% y etilenglicol al 0.75% durante los primeros 21 días del experimento (periodo de inducción de litiasis), y al grupo testigo negativo solo se le administró agua y

alimentos durante este periodo. Transcurrido el periodo de inducción se procedió a la toma de muestra de sangre, orina y riñones de los grupos testigo positivo y testigo negativo, para los respectivos análisis.

Una vez inducida la litiasis se procedió con la administración de tratamientos en las dosis de 300 mg/kg de peso del animal durante un periodo de 14 días un grupo y durante 21 días otro grupo. Así como la dosis de 500 mg/kg de peso del animal durante un periodo de 14 días un grupo y durante 21 días otro grupo. (Estévez, 2009), (Purnima, 2010)

Al cabo de los 14 días de tratamiento se sacrificaron al grupo que recibió 300 mg/ kg de peso y al grupo que recibió 500 mg/ kg de peso del extracto seco de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Tomando muestras de sangre (para la obtención de suero) y orina (6 horas). Al cabo de los 42 días del experimento se sacrificó a los grupos que recibieron 21 días de tratamiento (300 mg/kg y 500 mg/kg). Procediendo también a la toma de muestra de sangre y orina para los análisis respectivos.

### **3.11.2. PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN MADRE DE EXTRACTO SECO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.**

Para la administración diaria de la dosis correspondiente de extracto, se preparó una solución madre de 300 mg/ml a partir de la cual se hizo el cálculo respectivo según el peso de cada animal de experimentación. ANEXO N° 12

### **3.11.3. DEL EFECTO SOBRE LA FUNCIÓN RENAL**

#### **3.11.3.1. Efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70 % de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre el flujo urinario.**

A partir de la orina colectada (orina de 6 horas) se calculó el flujo urinario de los grupos en estudio. (Estévez; 2009).

A partir del cálculo del flujo urinario de los diferentes grupos en estudio, se calculó el porcentaje de incremento o disminución del flujo urinario de los grupos Mikania y el grupo testigo negativo respecto al grupo testigo positivo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ (Incremento o disminución)} = \frac{100(G_x - T(+))}{G_x}$$

En donde:

G<sub>x</sub>= Flujo urinario en los grupos testigo negativo o grupos Mikania.

T(+) = Flujo urinario en el grupo testigo positivo.

### 3.11.3.2. Efecto del extracto hidroalcohólico al 70 % de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre la filtración glomerular.

A partir de las muestras de orina y de sangre (suero) colectadas, se calcularon la velocidad de filtración glomerular, la cual se estimó a partir del aclaramiento de creatinina endógena. Para evitar el error debido a la secreción tubular de creatinina se utilizaron ratas hembra. Se determinó la concentración de creatinina sérica y urinaria por el método de picrato alcalino (ANEXO N°8). A partir de estos datos se calculó la depuración de creatinina. (Estévez; 2009).

A partir del cálculo de la depuración de creatinina de los diferentes grupos en estudio, se calculó el porcentaje de incremento o disminución de la depuración de creatinina de los grupos Mikania y el grupo testigo negativo respecto al grupo testigo positivo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ (Incremento o disminución)} = \frac{100(G_x - T(+))}{G_x}$$

En donde:

G<sub>x</sub>= Depuración de creatinina de los grupos testigo negativo o grupos Mikania.

T(+) = depuración de creatinina en el grupo testigo positivo.

**3.11.3.1. Efecto del extracto hidroalcohólico al 70 % de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre las cargas filtradas de sodio y potasio.**

A partir de las muestras de orina y de sangre (suero) colectadas se determinaron las concentraciones de sodio y potasio (fotómetro de llama), ver ANEXO N°7. A partir de estas concentraciones se calcularán las cargas filtradas de sodio y potasio (Estévez; 2009). Mediante las siguientes fórmulas:

$$CNa = UNa / VPNa$$

$$CK = UK / VPK$$

En donde:

CNa/K= Carga filtrada de sodio/potasio.

PNa/K= Sodio/potasio plasmático.

UNa/K= Sodio/potasio urinario.

V= volumen urinario.

A partir del cálculo de las cargas filtradas de sodio y potasio de los diferentes grupos en estudio, se calculó el porcentaje de incremento o disminución de las cargas filtradas de sodio y potasio de los grupos Mikania y el grupo testigo negativo respecto al grupo testigo positivo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ (Incremento o disminución)} = \frac{100(Gx - T(+))}{Gx}$$

En donde:

Gx= Cargas filtradas de sodio o potasio de los grupos testigo negativo o grupos Mikania.

T(+)= Cargas filtradas de sodio o potasio en el grupo testigo positivo.

### 3.11.4. DEL EFECTO ANTIUROLITIÁSICO

#### 3.11.4.1. Efecto del extracto hidroalcohólico al 70 % de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre la concentración de Acido Oxálico.

A partir de las muestras de orina colectadas se cuantificó el Ácido Oxálico mediante el método de Hódkinson modificado, para lo cual se tomó 1 ml de orina a la cual se le midió el pH, posteriormente se acidificó con 2,5 ml de ácido nítrico, se ajustó el pH con Hidróxido de Sodio en presencia de Azul de Bromotimol ( vire de color amarillo a verde a pH de 8.0 ), se precipitaron los cristales adicionando 2ml de solución saturada de Sulfato de Calcio, se adicionaron 14 ml de Etanol puro y se dejó reposar por 12 horas, pasado este tiempo se extrajo el sobrenadante y se desechó, el precipitado se solubilizó con 10 ml de solución de Ácido Sulfúrico ( 10 ml de Agua más 2 ml de Ácido Sulfúrico concentrado) y se tituló con Permanganato de Potasio 0.46 N hasta que vire de color rosa pálido que debe permanecer 30 segundos. (Estévez; 2009)

Con los valores de volúmenes gastados de permanganato de potasio. Se realizó el cálculo de la concentración de ácido oxálico en orina mediante la siguiente formula:

$$(Vox)(Nox) = (Vorina)(Nred)$$

En donde:

Vox = Volumen gastado de agente oxidante (permanganato de potasio).

Nox = Normalidad del agente oxidante (permanganato de potasio).

Vorina = Volumen de orina utilizado en la titulación(en este caso 1 mL).

Nred = Normalidad del agente reducido (ácido oxálico en orina).

A partir del cálculo de la concentración de ácido oxálico de los diferentes grupos en estudio, se calculó el porcentaje de incremento o disminución del ácido oxálico de los grupos Mikania y el grupo testigo negativo respecto al grupo testigo positivo, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ (Incremento o disminución)} = \frac{100(Gx-T(+))}{Gx}$$

Gx

En donde:

Gx= Concentración de ácido oxálico en los grupos testigo negativo o grupos Mikania.

T(+) = Concentración de ácido oxálico en el grupo testigo positivo.

### 3.11.4.2. Estudio histológico para la evaluación histopatológica del tejido renal.

Con el fin de realizar el análisis histológico del tejido renal, se cortaron los riñones de manera longitudinal y transversal y se fijaron en formol por 12 horas, después se lavaron con agua potable por 12 horas, pasado este tiempo se procedió a deshidratar los tejidos en Etanol a diferentes concentraciones.

Agente deshidratante	Tiempo (h)
Etanol 35 %	1
Etanol 50 %	1
Etanol 70 %	1
Etanol 85 %	1
Etanol 96 % I	1
Etanol 96 % II	1
Etanol 96 % III	1
Etanol absoluto	1
Etanol absoluto + eosina	1

Los tejidos renales fueron aclarados con xilol por 5 min, posteriormente se pasaron a las siguientes Parafinas:

Tipo de parafina	Tiempo (h)
Parafina I	24
Parafina II	24
Parafina III	24
Parafina de inmersión	1

Una vez incluidos en Parafina se realizaron cortes de 3 micrómetros de grosor con ayuda del Micrótopo, los cortes fueron montados en un portaobjetos utilizando



Albumina y fueron secados en una estufa por 48 horas. Una vez fijados los cortes se desarrollaron las técnicas de tinción correspondientes: Hematoxilina – Eosina y Pizolato. (Estévez; 2009).

- **Tinción Hematoxilina-Eosina**

Esta tinción se utilizó para colorear el núcleo y el citoplasma de las células de manera contrastante, para lo cual se desparafinaron las muestras de tejido renal con xilol durante 5 min dos veces, posteriormente se hidrataron con Etanol al 96% por 2 min, estas muestras se introdujeron en agua destilada y se sumergieron en Hematoxilina durante 5min, pasado este tiempo se lavaron con agua destilada hasta que queden claras.

Posteriormente, se eliminó el exceso de colorante de las muestras con Etanol ácido (HCl al 1 % más etanol al 70 %) ,2 o 3 inmersiones, se lavaron con agua destilada y se tiñeron con eosina durante 1 min, se volvieron a enjuagar con agua destilada, una vez más se deshidrataron las muestras con etanol al 96% 10 min dos veces, transcurrido este tiempo se aclararon con xilol por 10 min. La interpretación de tinción es: núcleo azul, citoplasma y fibras colágenas color rojo o rosa y eritrocitos de rojo brillante. (Estévez; 2009).

- **Tinción Pizzolato**

La tinción de Pizzolato es una técnica histoquímica no específica, en la cual los cristales de oxalato de calcio se tratan con peróxido de hidrogeno para convertirse en carbonato de calcio y este reacciona con nitrato de plata por sustitución del calcio, que se reduce por acción de la luz formando precipitados negros de carbonato de plata. Para lo cual las muestras de tejido renal se desparafinaron con xilol por 5 min y se re hidrataron con alcohol al 96 % por 2 minutos, en seguida se adicionó peróxido de hidrogeno por 10 min, al mismo tiempo que las muestras se expusieron a la luz de 60 watts, transcurrido este tiempo se adiciono nitrato de plata por 5 min se enjuagaron los portaobjetos y se tiñeron con safranina por 2 min. (Estévez; 2009).

# **CAPÍTULO IV**

## **RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN**

**TABLA N°3**  
**RESULTADOS DE PORCENTAJES DE RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS**  
**SECOS OBTENIDOS POR MACERACIÓN POR DIEZ DÍAS CON ETANOL AL**  
**70%.**

ESPECIE	<i>Mikania cordifolia</i> (L.f.) Willdenow.		
PESO DE MUESTRA MOLIDA	200 g	200 g	200 g
PESO DE EXTRACTO SECO	26.75 g	27.13 g	26.30 g
PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	13.375 %	13.56 %	13.15%
PROMEDIO DE PORCENTAJE DE RENDIMIENTO	<b>13.36%</b>		

FUENTE: Elaboración propia.

#### **Análisis y discusión**

En la TABLA N° 3 se aprecia el porcentaje de rendimiento del extracto seco hidroalcohólico obtenido de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Por maceración (relación planta solvente 1:5) con etanol comercial al 70 %, se observa que *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Presentó un rendimiento de 13.36%.

El resultado obtenido del porcentaje de rendimiento, es superior a aquellos reportados por (Corales, 2010) para *M. cordifolia* (3.09%, 6.71% y 6.23%) los cuales fueron obtenidos por agitación constante (durante 48 h) con diclorometano, seguidas por una extracción por agitación constante (durante 48 h) con metanol y una decocción por 15 min con agua, respectivamente; no habiéndose reportado la relación planta solvente en los tres casos.

Por otro lado (Corales, 2010) ha reportado para *M. micrantha* (2.82%, 10.76% y 5.89%) los cuales fueron obtenidos por agitación constante (durante 48 h) con diclorometano, seguidas por una extracción por agitación constante (durante 48 h) con metanol y una decocción por 15 min con agua, respectivamente; no habiéndose reportado la relación planta solvente en los tres casos; siendo estos tres rendimientos inferiores al resultado obtenido en esta investigación.

**TABLA Nº 4 RESULTADO DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL  
EXTRACTO SECO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow.**

Nº	METABOLITO	PRUEBA	RESULTADO
1	ALMIDONES	Prueba de Lugol	-
2	AZUCARES REDUCTORES	Felling	+++
		Benedic	+++
3	GLICOSIDOS	Felling	+++
		Benedic	+++
4	AMINOACIDOS	Ninhidrina	-
5	FLAVONOIDES	Prueba de Shinoda	-
		Prueba de Cloruro Férrico	+++
		Prueba del Acido Sulfúrico	+++
		Prueba del acetato de plomo	+++
		Prueba del ácido Clorhídrico 2N	++
		Prueba de Nitrato de Plata	+++
		Prueba del Acido Ascórbico	++
6	COMPUESTOS FENOLICOS	Prueba del cloruro Férrico	+++
		Prueba del Acido Sulfúrico	+++
7	ALCALOIDES	Prueba de Dragendorff	+++
		Prueba de Mayer	++
		Prueba de Wagner	+++
		Prueba de Bouchardat	++
		Reactivo de Hager	+
		Prueba de Cloruro de Mercurio 5%	-
		Reactivo de Marquis	++
		Prueba del Acido Nítrico	+++
		Prueba del Yodo-Yoduro de Potasio Acido	+++
8	TANINOS	Prueba del Acetato de Plomo al 5%	+++
		Prueba del Cloruro Férrico	+++
		Prueba del Dicromato de Potasio	++
		Prueba del Cianuro de Potasio	-
		Prueba del Hipoclorito de Sodio	-
9	SAPONINAS	Prueba del Acido Sulfúrico	+++
		Prueba del Mercurio metálico	+
		Prueba del Acido Clorhídrico	+++
10	GLICOSIDOS CARDIOTÓNICOS	Prueba de Baljet	+++
		Prueba de Lieberman Bouchardat	++
11	LACTONAS SESQUITERPENICAS	Prueba de Tollens	++
		Prueba de Baljet	+++
		Prueba de Legal	++
12	CUMARINAS	Prueba de Hidróxido de Sodio	+++
13	TRITERPENOIDES	Prueba de Lieberman Bouchardat	+++
14	ESTEROIDES	Prueba de la vainillina-ácido clorhídrico	-
15	QUINONAS	Prueba del Amoniaco	-
16	GOMAS	Prueba del Acetato Básico de Plomo	-
17	MUCILAGOS	Acetato neutro de Plomo	-
18	RESINAS	Prueba de Barfoed	++
		Prueba del agua	++
19	LIGNANOS	Prueba del cloruro férrico	+++
		Prueba del ácido sulfúrico concentrado	+++

FUENTE: Elaboración propia

## Análisis y discusión

En la TABLA N° 4 Se aprecia los resultados del análisis fitoquímico cualitativo de los extractos secos de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Obtenidos por maceración por 10 días con etanol al 70 %. Observándose la presencia de azúcares reductores, glicósidos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, triterpenoides, resinas y lignanos.

**Corales, 2010.** Reporta que entre las clases de compuestos químicos encontrados en el género *Mikania*, se destaca la presencia de lactonas sesquiterpénicas y diterpenos, así también en especies como *M. saltensis* Hieron. y *M. haenkeana*, se encontraron lignanos, un compuesto químico no común en especies de pequeño porte, ya que está asociado a especies leñosas. Reporta además que dentro de los compuestos fenólicos se puede hallar la presencia de cumarina en varias especies, constituyendo el marcador químico en *M. cordata* y *M. laevigata*. Encontrándose también que los flavonoides, compuestos muy comunes en la familia Asteraceae, se encuentran presentes en especies del género *Mikania*, en forma de heterósidos.

**Abrão de Oliveira, 2006.** Reporta que todas las muestras recolectadas de *M. cordifolia* contienen el mismo tipo de triterpenoides, aunque varíen en proporciones, entre los cuales destacan campesterol, stigmasterol, sitosterol, epitaraxerol entre otros.

**Camargo, 2005.** Reporta la presencia de alcaloides, cumarinas y otros compuestos relacionados; pero sobre todo destaca la presencia de lactonas sesquiterpénicas como por ejemplo: mikanina, micanólido, dihidromicanólido, miscandenina, escandenólido y dihidroscandenólido.

**Santos, 2008.** Reportó datos característicos sobre la planta *M. cordifolia* tales como: Es muy rico en principios biodinámicos activos con un alto contenido de linalol, en las hojas se han aislados compuestos como: el quercitín-3-oxoglucósido, ácido 3,5-dicafeilquinico, 1,8-cineol y linalol-6-oxo-d-D-glucopiranósido.

**Pérez, 2010.** Reporta que el linalol y  $\alpha$ -pineno son los principales componentes del aceite esencial de *M. micrantha*.

Los resultados de presente investigación concuerdan con la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, triterpenoides, resinas y lignanos en las distintas especies del género *Mikania* y sugieren la presencia de saponinas .

**TABLA N° 5. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCÓHOLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE EL FLUJO URINARIO EN RATAS, UNA VEZ INDUCIDA LA LITIASIS RENAL.**

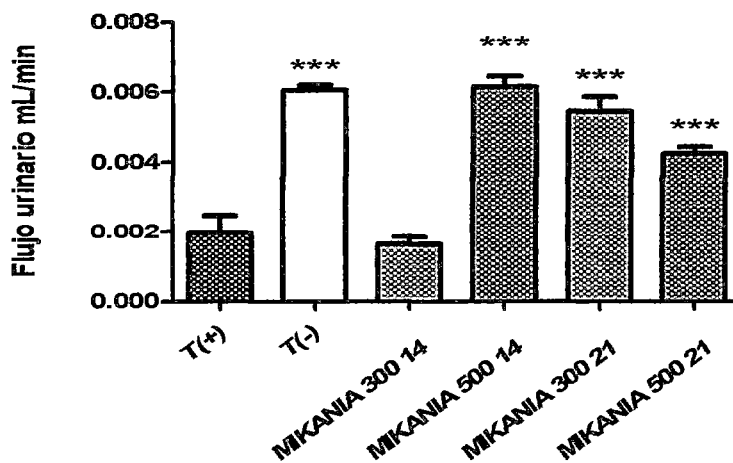
TRATAMIENTO	DOSIS VÍA ORAL (mg/kg)	n	Flujo urinario mL/min (Media ± E.S.M.)(s)	Variación	% Incremento o Disminución
Testigo (+)	Solución de etilenglicol + cloruro de amonio	7	0.001389 ± 0.001338	—	—
Testigo (-)	—	7	0.006111 ± 0.0003737***	-0.004107	77%
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 14 días	7	0.001389 ± 0.0005931	0.0003373	—
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 14 días	7	0.00625 ± 0.0008437***	-0.004187	77.78%
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 21 días	7	0.005556 ± 0.001153***	-0.003492	75%
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 21 días	7	0.004167 ± 0.0004982***	-0.002282	66.69%

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA N° 6. ANOVA**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.0001434	5	0.00002869	37,654	,000
Intra-grupos	0.00002743	36	7.618e-007		
Total	0.0001709	41			

**FIGURA Nº 13. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCÓHOLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE EL FLUJO URINARIO EN RATAS, UNA VEZ INDUCIDA LA LITIASIS RENAL.**



**LEYENDA:**  
 T(+): Testigo positivo  
 T(-): Testigo negativo  
 300 y 500: Dosis de extracto seco  
 14 y 21: Días de tratamiento

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA Nº 7: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA OBSERVACIÓN DE GRUPOS, AGRUPADOS EN SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA COMPARACIÓN DEL FLUJO URINARIO (mL/min).**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Mikania 300-14	7	,001626984		
Testigo +	7	,001964284		
Mikania 500-21	7		,004246033	
Mikania 300-21	7		,005456350	,005456350
Testigo -	7			,006071430
Mikania 500-14	7			,006150793
Sig.		,978	,125	,674

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7,000.

## Análisis y discusión

En la **TABLA N° 5 Y FIGURA N° 13**, se aprecia el efecto del tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre el flujo urinario, manifestando de forma estadísticamente significativa el incremento del flujo urinario a los 14 días con la dosis de 500 mg / kg de peso (en un 77.78%) y a los 21 días con las dosis de 300 y 500 mg/ kg de peso (en un 75% y 66.69% respectivamente). Al comparar los diferentes tratamientos experimentales por análisis de varianza (ANOVA), mostrado en el **TABLA N° 6**, seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey mostrado en la **TABLA N° 7 Y FIGURA N°13**, se puede ver que la inducción de litiasis (etilenglicol 0.75 % + cloruro de amonio 0.5%) disminuye de forma significativa ( $p < 0.001$ ) el flujo urinario en los animales de experimentación (en un 77%), se observa también que el grupo que recibió tratamiento con *M. cordifolia* a la dosis de 300 mg/kg de peso durante 21 días presenta un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) del flujo urinario comparado con el grupo testigo positivo, siendo estadísticamente comparable con el tratamiento de *M. cordifolia* a la dosis de 500 mg/ kg de peso durante 14 días y estos a su vez estadísticamente comparables con el grupo testigo negativo.

**Estévez, 2009.** Reporta que el grupo utilizado como testigo negativo en su experimento, presentó un flujo urinario de  $0.006 \pm 0.00023$  mL/min (tomado como valor normal), siendo este resultado similar al de la presente investigación para el grupo testigo negativo ( $0.006111 \pm 0.0004$  mL/min). Reporta también un flujo urinario de  $0.0035 \pm 0.0002$  mL/min para el grupo al cual indujo litiasis renal y no recibió ningún tratamiento, difiriendo este de los resultados de la presente investigación que para el grupo testigo positivo es solo de  $0.001389 \pm 0.001$  mL/min, pudiendo deberse esto a distintos factores tales como raza y alimentación. Además se observa que los grupos que en dicho experimento recibieron tratamiento con los extractos de *S. Lepidophylla* llegaron a tener un flujo urinario de hasta 0.009 mL/min. Es por esto que sugiere que la actividad antiurolitiásica de *S. lepidophylla* estaría asociada a su actividad diurética (incremento del flujo urinario).

Podemos observar en la presente investigación que el grupo que recibió tratamiento con los extractos de *M. Cordifolia* 500 mg durante 14 días incrementan el flujo urinario respecto al grupo testigo positivo ( $p < 0.001$ ) siendo este de  $0.00625 \pm 0.0008$ , demostrándose un incremento del flujo urinario por unidad de tiempo, esto indicaría una liberación de las vías urinarias debido una posible actividad diurética u eliminación de los cálculos renales por otros mecanismos (inhibición de la nucleación, dilución de los cálculos renales, etc).



**TABLA N° 8. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE LA DEPURACIÓN DE CREATININA EN RATAS UNA VEZ INDUCIDA LA LITIASIS RENAL.**

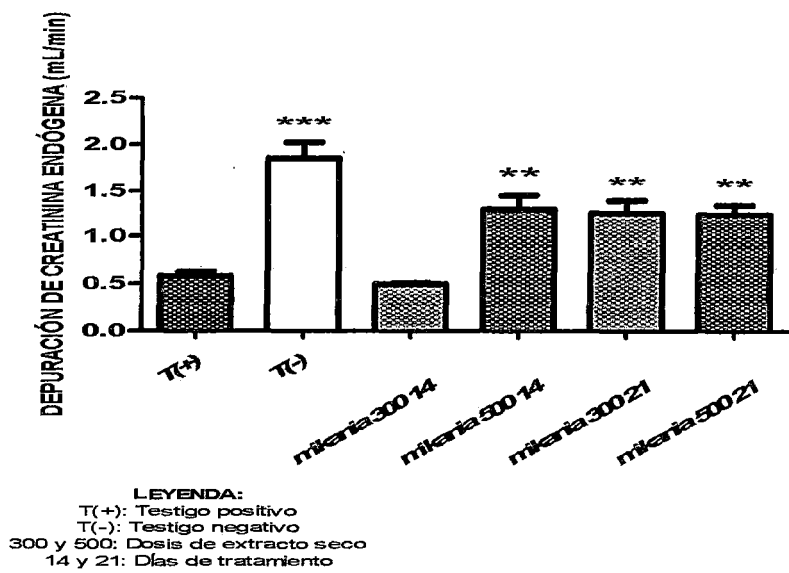
TRATAMIENTO	DOSIS VÍA ORAL (mg/kg)	n	DEPURACIÓN DE CREATININA mL/min (Media ± E.S.M.)(s)	Variación	% Incremento o Disminución
Testigo (+)	Solución de etilenglicol + cloruro de amonio	7	0.6212 ± 0.1245		---
Testigo (-)		7	1.762 ± 0.4499***	-1.278	64.74%
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 14 días	7	0.5023 ± 0.03159	0.08186	---
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 14 días	7	1.295 ± 0.3850 **	-0.7306	53.03%
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 21 días	7	1.266 ± 0.3751**	-0.6822	50.93%
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 21 días	7	1.356 ± 0.2629**	-0.6733	54.19%

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA N° 9. ANOVA**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	9,079	5	1,816	18,885	,000
Intra-grupos	3,462	36	,096		
Total	12,541	41			

**FIGURA Nº 14. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE LA DEPURACIÓN DE CREATININA EN RATAS UNA VEZ INDUCIDA LA LITIASIS RENAL.**



\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA Nº 10: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA OBSERVACIÓN DE GRUPOS, AGRUPADOS EN SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA COMPARACIÓN DE LA DEPURACIÓN DE CREATININA (mL/min).**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Mikania 300-14	7	,499010857		
Testigo +	7	,580870829		
Mikania 500-21	7		1,254185714	
Mikania 300-21	7		1,263030129	
Mikania 500-14	7		1,311480157	
Testigo -	7			1,858909429
Sig.		,996	,999	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

## Análisis y discusión

En la TABLA N°8 Y FIGURA N° 14 se aprecia el efecto del tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre la depuración de creatinina, manifestando de forma estadísticamente significativa el incremento de la depuración de creatinina endógena a los 14 días con la dosis de 500 mg / kg de peso (en un 53.03%) y a los 21 días con las dosis de 300 y 500 mg/ kg de peso (en un 50.93% y 54.19% respectivamente).

Al comparar los diferentes tratamientos experimentales por análisis de varianza (ANOVA) mostrado en la TABLA N° 9 , seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey mostrado en la TABLA N° 10 y FIGURA N°14 se puede ver que la inducción de litiasis (etilenglicol 0.75 % + cloruro de amonio 0.5%) disminuye de forma significativa ( $p < 0.001$ ) la depuración de creatinina en los animales de experimentación (en un 64.74%), así mismo el tratamiento con extracto de *M. cordifolia* a las dosis de 300 mg / kg de peso a los 21 días y 500 mg / kg de peso a los 14 y 21 días incrementan de manera significativa ( $p < 0.01$ ) la depuración de creatinina, siendo estos grupos a su vez estadísticamente comparables entre sí, mas no llegan a alcanzar a los valores de depuración de creatinina del grupo testigo negativo.

**Esteves 2009**, reporta que la inducción de litiasis renal con solución de etilenglicol (0.75%) y cloruro de amonio (0.5%) conlleva a un daño renal persistente relacionado con el proceso de filtración, lo que representa una afectación característica en la velocidad y eficacia de la filtración glomerular.

**Toblli et al. 2003**, indica que los primeros pasos de formación de cálculos renales ocurren dentro del riñón cuando la orina está sobresaturada con OxCa en diferentes sectores del nefrón. Además, indica que es reconocido que los estados hiperoxalúricos están asociados con el depósito de cristales de OxCa tanto en la luz tubular como en la célula epitelial del intersticio renal promoviendo un mecanismo de injuria tisular, la inflamación progresiva del intersticio renal conduce generalmente a una disminución considerable en la función renal. Es así que para el grupo al cual produjo hiperoxaluria (inducida con etilenglicol en ratas Sprague-Dawley machos con un peso inicial de 250-280 g) reporta una depuración de creatinina de 0.90 +/- 0.02 mL/min comparado con el grupo el grupo control utilizado en dicho experimento que presentó una depuración de creatinina de 1.41 +/- 0.04

mL/min; estos resultados son similares a los reportados en la presente investigación (TABLA N°8), en donde podemos observar que el grupo utilizado como testigo negativo presenta una depuración de creatinina de  $1.762 \pm 0.4499$  mL/min, mientras el grupo testigo positivo (al cual se le indujo la litiasis renal mas no se le administró ningún tratamiento) presentó una depuración de creatinina de  $0.6212 \pm 0.1245$  mL/min.

**Esteves 2009**, reporta en su investigación (en donde utilizó la inducción de litiasis renal por el método de hiperoxaluria inducida con solución de etilenglicol y cloruro de amonio en ratas raza Wistar hembra con un peso inicial de  $200 \pm 20$  g) que el grupo utilizado como testigo negativo (al cual no se le indujo litiasis renal) presentó una depuración de creatinina de 5.8 mL/min, comparados con el grupo utilizado como testigo positivo (al cual se le indujo litiasis renal mas no se le administro ningún tratamiento) presentó una depuración de creatinina promedio de 2.5 mL/min. Estos resultados no se asemejan a los reportados por **Toblli et al. 2003**, ni a los reportados por la presente investigación, pudiendo deberse esto a factores tales como la raza, el tipo de alimentación, la cantidad de solución precursora de ácido oxálico consumida por los animales de experimentación, entre otros.

**TABLA N° 11. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO  
HIDROALCOHÓLICO DE Mikania cordifolia (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE  
LAS CARGAS FILTRADAS DE SODIO Y POTASIO A LOS 14 Y 21 DÍAS DE  
TRATAMIENTO**

GRUPOS	DOSIS VÍA ORAL (mg/kg)	n	CARGA FILTRADA DE POTASIO (mEq/min)	% Incremento o Disminución	CARGA FILTRADA DE SODIO (mEq/min)	% Incremento o Disminución
TESTIGO (+)	Solución de etilenglicol + cloruro de amonio	7	0.0002649 ± 0.0001155 (7)	—	0.00004229 ± 0.00001968 (7)	—
TESTIGO (-)	—	7	0.0008824 ± 0.0001669*** (7)	69.54 %	0.0002127 ± 0.00006954*** (7)	80.11%
MIKANIA 300 14	300 mg 14 días	7	0.0003482 ± 0.0001138 (7)	—	0.0000963 ± 0.00004625 (7)	—
MIKANIA 500 14	500 mg 14 días	7	0.0006252 ± 0.0001202* (7)	57.63%	0.0003383 ± 0.0001266*** (7)	87.49 %
MIKANIA 300 21	300 mg 21 días	7	0.001194 ± 0.0002618*** (7)	77.81%	0.0001667 ± 0.00006325** (7)	74.63%
MIKANIA 500 21	500 mg 21 días	7	0.0009889 ± 0.0003121*** (7)	73.21 %	0.0002102 ± 0.00005584** (7)	79.88%

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA N°12: ANOVA CARGA FILTRADA DE SODIO**

FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	F	Sig.
Entre grupos	0.0000003748	5	0.00000007496	14.74	0.000
Dentro de los grupos	0.00000001830	36	0.000000005084		
Total	0.0000005579	41			

**TABLA N° 13: ANOVA CARGA FILTRADA DE POTASIO**

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA CUADRÁTICA	F	Sig.
Entre grupos	0.000004921	5	0.0000009841	25.18	0.000
Dentro de los grupos	0.000001407	36	0.00000003909		
Total	0.000006328	41			

**TABLA N° 14: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA OBSERVACIÓN DE GRUPOS, AGRUPADOS EN SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA COMPARACIÓN DE LA CARGA FILTRADA DE POTASIO (mEq/min)**

**Carga Filtrada de potasio (mEq/min)**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Mikania 300-14	7	,000290355		
Testigo +	7	,000323943		
Mikania 500-14	7		,000661714	
Testigo -	7		,000937969	,000937969
Mikania 500-21	7			,001040119
Mikania 300-21	7			,001178500
Sig.		1,000	,120	,230

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

**TABLA N° 15: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA OBSERVACIÓN DE GRUPOS, AGRUPADOS EN SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA COMPARACIÓN DE LA CARGA FILTRADA DE SODIO (mEq/min)**

**Carga Filtrada de Sodio(mEq/min)**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Testigo +	7	,000036667		
Mikania 300-14	7	,000106137	,000106137	
Mikania 300-21	7		,000176266	
Mikania 500-21	7		,000177662	
Testigo -	7		,000212239	
Mikania 500-14	7			,000343144
Sig.		,465	,083	1,000

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

### **Análisis y discusión**

En la TABLA N° 11 se aprecia el efecto del tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre las cargas filtradas de sodio y potasio a 14 y 21 días de tratamiento, manifestando de forma estadísticamente significativa el incremento de las cargas filtradas de sodio y potasio a los 14 días con la dosis de 500 mg / kg de peso (en un 87.49 % y un 57.63% respectivamente) y a los 21 días con las dosis de 300 mg/Kg (en un 74.63% y un 77.81% respectivamente) y 500 mg/ kg de peso (en un 79.88% y un 73.21 % respectivamente).

Al comparar los diferentes tratamientos experimentales por análisis de varianza (ANOVA) mostrado en las TABLAS N° 12 y 13, seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey mostrado en las TABLAS N° 14 Y 15, se puede ver que la inducción de litiasis (etilenglicol 0.75 % + cloruro de amonio) disminuye de forma significativa ( $p < 0.001$ ) las cargas filtradas de sodio y potasio en el grupo testigo positivo (en un 80.11% y un 69.54 % respectivamente). Así como el tratamiento con

extracto de *M. cordifolia* a las dosis de 300 mg / kg de peso del extracto a los 21 días y 500 mg / kg de peso del extracto a los 14 y 21 días incrementan las cargas filtradas de sodio de manera significativa ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$  y  $p < 0.01$ ) respectivamente, así como incrementan las cargas filtradas de potasio de manera significativa ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$  y  $p < 0.001$ ) respectivamente.

Estévez, 2009. Reporta que la inducción de litiasis renal con solución de etilenglicol (0.75%) y cloruro de amonio conlleva a la disminución de las cargas filtradas de sodio y potasio.

En el presente trabajo de investigación se evidencia la disminución de las cargas filtradas de sodio y potasio del grupo testigo positivo en comparación con el grupo testigo negativo (TABLA N°7), así mismo el incremento de estas en los grupos tratados con los extractos de *M. cordifolia*.



**TABLA N° 16. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. *Vía oral. SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO OXÁLICO EN ORINA***

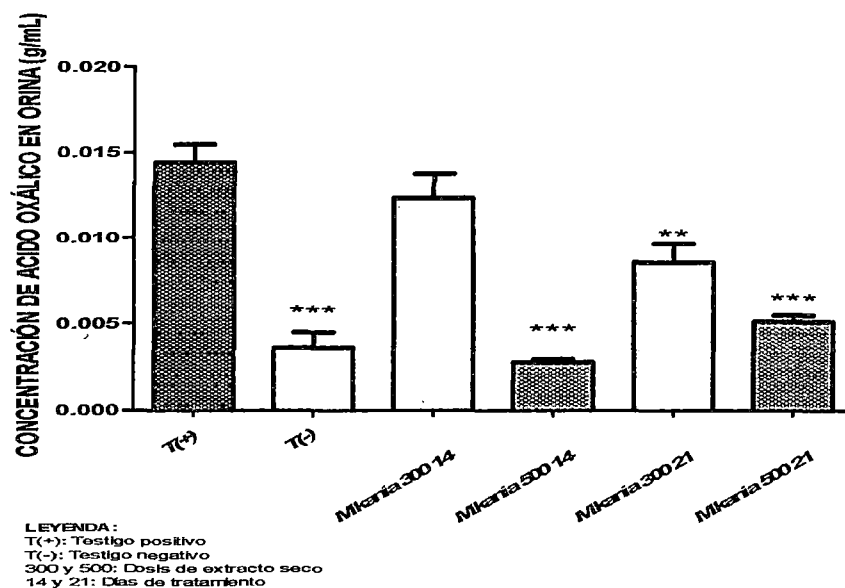
TRATAMIENTO	DOSIS VÍA ORAL (mg/kg)	n	CONCENTRACIÓN DE ACIDO OXÁLICO g/mL (Media ± E.S.M.)(s)	Variación	% Incremento o Disminución
Testigo (+)	Solución de etilenglicol + dextro de azúcar	7	0.01470 ± 0.002824		
Testigo (-)		7	0.002100 ± 0.002336***	0.01080	85%
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 14 días	7	0.01050 ± 0.003915	0.002100	
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 14 días	7	0.002940 ± 0.0004806**	0.01161	80 %
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 21 días	7	0.007563 ± 0.003009**	0.005880	48%
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 21 días	7	0.004988 ± 0.0009701**	0.009275	66.1%

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA N° 17: ANOVA**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0.0007994	5	0.0001599	24,604	,000
Intra-grupos	0.0002339	36	0.00006498		
Total	0.001033	41			

**FIGURA Nº15. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Vía oral. SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO OXÁLICO EN ORINA**



\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ , comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA Nº 18: RESULTADO DEL ANÁLISIS DE POST-PRUEBA DE TUKEY PARA LA OBSERVACIÓN DE GRUPOS, AGRUPADOS EN SUBCONJUNTOS HOMOGÉNEOS PARA LA COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO OXÁLICO EN ORINA (g/mL)**

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Mikania 500-14	7	,002789601			
Testigo -	7	,003599486			
Mikania 500-21	7	,005122474	,005122474		
Mikania 300-21	7		,008517527	,008517527	
Mikania 300-14	7			,012298243	,012298243
Testigo +	7				,014397943
Sig.		,533	,154	,085	,641

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

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 7.000.

## Análisis y discusión

En la TABLA N° 16 Y FIGURA N° 15 se aprecia el efecto del tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre la concentración de ácido oxálico en orina manifestando de forma estadísticamente significativa la disminución de este a los 14 días con la dosis de 500 mg / kg de peso (en un 80%) y a los 21 días con las dosis de 300 y 500 mg/ kg de peso (en un 48% y 66.1% respectivamente).

Al comparar los diferentes tratamientos experimentales por análisis de varianza (ANOVA) mostrado en el TABLA N° 13, seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey mostrado en la TABLA N° 18 y FIGURA N°15 se puede ver que la inducción de litiasis (etilenglicol 0.75%+ cloruro de amonio0.5%) incrementa de forma significativa ( $p<0.001$ ) la concentración de ácido oxálico en el grupo testigo positivo (en un 85%), así como el tratamiento con extracto de *M. cordifolia* a las dosis de 300 mg / kg de peso a los 21 días y 500 mg / kg de peso a los 14 y 21 días disminuyen la concentración de ácido oxálico de manera significativa ( $p<0.01$ ,  $p<0.001$ , y  $p<0.001$ ) respectivamente. Podemos observar en la TABLA N° 16 que los grupos que recibieron tratamiento con el extracto de *M. cordifolia* a la dosis de 500 mg/kg de peso durante 14 y 21 días disminuyen de manera significativa la concentración de ácido oxálico en orina ( $p<0.05$ ) siendo estos dos grupos estadísticamente comprobables entre sí, y estos a su vez estadísticamente comparables con el grupo testigo negativo.

Es un hecho conocido que la orina está frecuentemente sobresaturada con respecto al OxCa en individuos con enfermedad litiasica, como puede estarlo también en aquellos sujetos normales, de allí que es común observar cristales de OxCa en la orina de individuos aun sin enfermedad litiasica (*Toblli et al. 2003*). Es así que el oxalato de calcio se puede encontrar también en ratas a las cuales no se les indujo la litiasis, ya que este es producto metabólico natural de los mamíferos, asociados a la degradación de carbohidratos , a la alta ingesta de vegetales ricos en oxalatos, a la presencia de vitamina C, entre otros.

En la TABLA N° 16 podemos observar la concentración de ácido oxálico en el grupo utilizado como testigo negativo siendo esta de  $0.002100 \pm 0.002336$  g/mL; este valor coincidiría con el reportado por *Estevez 2009*, que reporta un valor de  $0.002 \pm$

0.0013 g/mL en el grupo utilizado como testigo negativo en su experimento, así mismo la concentración de ácido oxálico hallada para el grupo al cual indujo litiasis renal y no administró ningún tratamiento fue de  $0.019 \pm 0.0005$  g/mL; asemejándose está a la concentración de ácido oxálico ( $0.01470 \pm 0.002824$ ) del grupo utilizado como testigo positivo en la presente investigación.

En el presente trabajo de investigación se evidencia la presencia de ácido oxálico en el grupo testigo negativo, siendo está muy inferior a la concentración de ácido oxálico en el testigo positivo. Además se observa la disminución de la concentración de ácido oxálico en los grupos tratados con los extractos de *M. cordifolia* (FIGURA N°15)

**TABLA Nº19. RESULTADO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. *Vía oral. SOBRE EL pH URINARIO***

TRATAMIENTO	DOSIS VÍA ORAL (mg/kg)	n	pH urinario (Media ± E.S.M.)	Variación
Testigo (+)	Solución de efenglicid + cloruro de amonio	7	6 ± 0	
Testigo (-)	---	7	7 ± 0***	-1.000
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 14 días	7	6 ± 0.4880	-0.2857
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 14 días	7	8 ± 0.3934***	-1.786
<i>M. cordifolia</i>	300 mg 21 días	7	8 ± 0.6362***	-1.786
<i>M. cordifolia</i>	500 mg 21 días	7	7 ± 0.3934***	-1.286

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001, comparado con el grupo control (ANOVA seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey).

**TABLA Nº 20 ANOVA**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	3039,690	5	607,938	2,549	,045
Intra-grupos	8584,643	36	238,462		
Total	11624,333	41			

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En la TABLA N° 19 se aprecia el efecto del tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Sobre pH urinario manifestando de forma estadísticamente significativa ( $p < 0.001$  en los dos casos) el incremento de este a los 14 días con la dosis de 500 mg / kg de peso y a los 21 días con las dosis de 300 mg/ kg de peso.

El pH urinario, si es alcalino reduce la cristalización del oxalato de calcio ya que el fosfato y el citrato se disocian incrementando la complejación del calcio evitando que se una al oxalato, sin embargo, a pH mayor de 6 se favorece la formación de cálculos de fosfato de calcio (*Lewandowski y Allen, 2004*). El cloruro de amonio favorece un pH ácido aunado a la hiperoxaluria provocada por la ingesta de etilenglicol. (*Esteves 2009*). De este modo podemos observar en la TABLA N° 19 que el grupo testigo negativo presenta un pH de  $7 \pm 0$  (este pH no favorecería la formación de cálculos de oxalato de calcio), mientras que el grupo testigo positivo presenta un pH de  $6 \pm 0$  que según *Lewandowski y Allen, 2004* sería un pH idóneo para la formación de los cálculos de oxalato de calcio. Podemos apreciar también que los grupos que recibieron tratamiento con los extractos de *M. cordifolia* a las dosis de 500 mg / kg a los 14 días y 300 mg / kg 21 días, presentan un incremento significativo del pH urinario respecto al grupo testigo positivo, así mismo a la dosis de 500 mg/ kg de peso a los 21 días, presenta un incremento significativo respecto al respecto al grupo testigo positivo, mas este incremento sería inferior al que presenta el grupo que recibió la dosis de 500 mg/kg durante 14 días; lo que sugeriría realizar más estudios de la influencia del tratamiento con *M. cordifolia* sobre el pH urinario.

*Toblli et al. 2003* no encuentra diferencia significativa entre el pH del grupo al cual indujo hiperoxaluria con etilenglicol y el grupo que uso como control, en su experimento, siendo estos de  $6.37 \pm 0.17$  y  $6.4 \pm 0.16$  respectivamente. Esto podría deberse a que en dicho experimento no se utilizó el cloruro de amonio como agente acidificante, al tipo de alimentación y a la cantidad de agente inductor de litiasis consumido por los animales de experimentación, sin embargo podemos deducir que, en vista de que a pesar de no haber administrado un agente acidificante *Toblli et al. 2003* observó la formación de cálculos de oxalato de calcio, proteinuria, y

disminución de la función renal, la administración de cloruro de amonio no sería crucial para la formación de los cálculos.

**Toblli et al. 2003** indica que a medida que la orina se vuelve más concentrada por el proceso de sustracción de agua en el conducto colector, el pH de la orina cae y hay un cambio de la fuerza de cristalización desde las fases de fosfato de calcio a OxCa. Esto es posible debido a que el fluido en el segmento fino del asa de Henle puede estar sobresaturado con carbonato de calcio y fosfato de calcio bajo ciertas condiciones. La porción descendente del asa de Henle crea una condición única, ya que extrae agua pero no sodio, bicarbonato, calcio o fosfato, dando una concentración de calcio en la curva del asa de Henle de 3 mM, un pH de 7.4 y una concentración de fosfato que varía de 0.8 a 48 mM, dependiendo de la secreción de hormona paratiroidea y del fosfato dietario. Por otra parte, un mecanismo importante para la sobresaturación elevada del cristal de OxCa monohidrato en orina es la extracción de agua en los túbulos colectores renales que incrementa las concentraciones de calcio y oxalato. Por lo tanto, las condiciones en el segmento fino del asa de Henle, pueden crear una fase de fosfato de calcio sólido, que puede iniciar la nucleación de sales de oxalato de calcio en los conductos colectores, potenciando así la nefrolitiasis.

## RESULTADOS DEL ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO - ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Los resultados de la presente investigación (ver ANEXO 14) coincidirían con los de **Toblli et al. 2003** y **Esteves 2009**. Quienes indican que para la tinción hematoxilina-eosina de los grupos utilizados como testigo negativo en sus investigaciones, la morfología celular permanece conservada con células bien delimitadas en donde se pueden diferenciar las fracciones de la nefrona, las cuales poseen una organización celular íntegra y continua, mientras que en los grupos a los cuales se les indujo la litiasis renal observaron la presencia de secreciones celulares abundantes, evidenciándose también una discontinuidad celular con pérdida de la morfología celular.

Así mismo **Esteves 2009**. Utiliza en su experimento la tinción Pizzolato para la observación de cálculos oxálicos los cuales tienen un característico color negruzco; los cuales se observan en mayor o menor cantidad según el grupo experimental (ver ANEXO 15).



# CONCLUSIONES

1. El extracto seco hidroalcohólico al 70% obtenido de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. Presenta actividad antiurolitiásica y mejora la función renal, en litiasis renal inducida en ratas hembras Holtzman a los 21 días de tratamiento a la dosis de 300 mg / kg de peso y a los 14 y 21 días de tratamiento a la dosis de 500 mg/kg de peso, evidenciándose: disminución de la concentración de ácido oxálico en orina, incremento del flujo urinario, incremento de las cargas filtradas de sodio y potasio, así como incremento de la depuración de creatinina, conllevando a una mejora en la velocidad de filtración glomerular.
2. Se obtuvo el extracto seco hidroalcohólico al 70% de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow, presentando un porcentaje de rendimiento de 13.36%. Se determinó la presencia de: azúcares reductores, glicósidos, compuestos fenólicos, flavonoides, alcaloides, taninos, saponinas, lactonas sesquiterpénicas, cumarinas, triterpenoides, resinas y lignanos.
3. Se realizó la inducción de litiasis renal en ratas, mediante el método de hiperoxaluria (administración de solución de etilenglicol al 0.75% y cloruro de amonio al 0.5%) evidenciándose esta por: disminución del flujo urinario en un 77% respecto al testigo negativo, disminución de las cargas filtradas de sodio y potasio (en un 80.11% y un 69.54 % respectivamente), disminución de la filtración glomerular en un 64.74% respecto al testigo negativo, incremento de la presencia de ácido oxálico en orina en un 85% respecto al testigo negativo y ligera acidificación del pH, de las ratas sometidas a la inducción de litiasis.
4. Se evaluó la morfología renal y la presencia ausencia de cálculos renales oxalocálcicos una vez que la litiasis renal fue inducida y tratada con los extractos de *M. cordifolia*, concluyendo que los tratamientos a la dosis de 300 mg/ kg de peso a los 21 días y 500 mg/kg de peso a los 14 y 21 días, mejoraron visiblemente las características de la morfología celular renal, disminuyendo también la presencia de los precipitados oxalocálcicos.
5. Se determinó la concentración de ácido oxálico en orina una vez que la litiasis renal fue inducida y tratada con los extractos de *M. cordifolia*, concluyendo que el tratamiento con el extracto seco hidroalcohólico evidenció una disminución de la concentración de ácido oxálico en orina a las dosis de 300 mg / kg a los 21 días y 500 mg / kg a los 14 y 21 días (48%, 80% y 66.07% respectivamente).

6. Se evaluó el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow sobre el flujo urinario, concluyendo que el tratamiento con el extracto evidenció un incremento en el flujo urinario de las ratas a las dosis de 300 mg / kg de peso del extracto a los 21 días y 500 mg / kg de peso del extracto a los 14 y 21 días incrementando el flujo urinario por unidad de tiempo de manera significativa( en un 75%, 77.78% y 66.69% respectivamente) .
7. Se evaluó el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow sobre las cargas filtradas de sodio y potasio, concluyendo que el tratamiento con el extracto evidenció un incremento en las cargas filtradas de sodio y potasio a las dosis de 300 mg / kg a los 21 días (en un 77.81 % y un 74.63 % respectivamente) así mismo a la dosis de 500 mg / kg a los 14 días (en un 87.49 % y un 57.63 % respectivamente) y a los 21 días (en un 79.88 % y un 73.21% respectivamente).
8. Se evaluó el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de los tallos y hojas de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow sobre la depuración de creatinina, concluyendo que el tratamiento con el extracto evidenció un incremento en la depuración de creatinina a las dosis de 300 mg / kg a los 21 días y 500 mg / kg de peso del extracto a los 14 y 21 días(en un 50.93%, 52.03% y 54.19% respectivamente).
9. Se evaluó el efecto del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow. sobre el pH urinario, concluyendo que el tratamiento con el extracto incrementa el mismo, a las dosis de 300 mg / kg a los 21 días y 500 mg / kg de peso del extracto a los 14 días; mas el pH urinario del grupo que recibió la dosis de 500 mg/kg durante 21 días no se ve incrementado de forma de forma concordante con los demás grupos experimentales; lo que sugeriría realizar más estudios de la influencia del tratamiento con *M. cordifolia* sobre el pH urinario.

# RECOMENDACIONES

## A LAS AUTORIDADES

- Continuar con la implementación de los laboratorios universitarios así como también destinar recursos de infraestructura e incentivos económicos necesarios para la sostenibilidad de estos laboratorios

## A LOS DOCENTES

- Solicitar la implementación de laboratorios destinados exclusivamente al estudio y la ejecución de los proyectos de investigación.

## A LOS INVESTIGADORES

- Cuantificar e identificar alcaloides, saponinas, y flavonoides presentes en los extractos.
- Elaborar un estudio de estabilidad a largo plazo para las tinturas de metanol y etanol de la especie en estudio y otras pertenecientes al género.
- Realizar un estudio para el mejor tipo de extracción de la planta en estudio.
- Realizar un estudio antiurolitiásico, in vitro con cálculos obtenidas de pacientes con litiasis renal.
- Realizar estudios de toxicidad aguda y crónica de las diversas especies pertenecientes al género existentes en nuestra región, de manera tal que sirva como cribado previo para realización de pruebas farmacológicas.
- Realizar estudios para evaluar las diferentes propiedades medicinales que se le atribuye a la especie *Mikania cordifolia* (L.f.) Wildenow (guaco).
- Realizar estudios para determinar valores fisiológicos en sangre y orina de ratas albinas Holtzman.
- Realizar estudios en otras especies vegetales de la región, que presenten propiedades antiurolitiásicas.

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## REVISTAS ELECTRÓNICAS

- **BADILLA BALTODANO, B.; CHAVES MORA, F.; POVEDA ÁLVAREZ, L.J.; JIMÉNEZ CASTRO, S. Y RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, G.** Efecto de plantas usadas etnomédicamente sobre la actividad hemorrágica y proteolítica inducida por *Bothrops asper*. Revista Cubana de plantas medicinales. 2006;11(1) : 546-560
- **CARRILLO ESPER, R.; AGUIRRE GONZÁLEZ, D.M.; VILLANUEVA QUINTANA, L.A.; LELO DE LA REA, E. Y LUIS FERNANDO GARCÍA BRAVO.** Intoxicación por etilenglicol. Reporte de un caso y revisión de la literatura. Acta Médica Grupo Ángeles. 2006; 4(4): 243-248.
- **CHARLES Y. C. PAK.** Citrato Y Cálculos Renales. Sección de metabolismo mineral. Southwestern Medical School. 1987; 13: 257-266
- **CLEVERSON GASPARETTO, J.; PONTAROLO, R.; GUIMARÃES DE FRANCISCO, T. M.; Y RAMOS CAMPOS, F.** *Mikania glomerata* y *M. laevigata*: Avances Clínicos y Toxicológicos. Toxicity and Drug Testing. 2012; 13: 297-320.
- **CORLEY, R.A.; WILSON, D.M.; HARD, G.C.; STEBBINS, K.E.; BARTELS, M.J.; SOELBERG, J.J.; DRYZGA, M.D.; GINGELL, R.; MCMARTIN, K.E. Y SNELLINGS, W.M.** Dosimetry considerations in the enhanced sensitivity of male Wistar rats to chronic ethylene glycol-induced nephrotoxicity. Toxicology and Applied Pharmacology; 2008 Apr 15;228(2):165-78.
- **CHAKRAVERTY, R. Y SAHA, S.** Cribado Fitoquímico y Evaluación de la Actividad Analgésica del Extracto Metanólico de *Mikania scandens* LINN. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2012; 3(5): 1430-1432.
- **CHRISTINA, A.J.; ASHOK, K.; PACKIALAKSHMI, M.; TOBIN, G.C.; PREETHI, J.; MURUGESH, N.** Antilithiatic effect of *Asparagus racemosus* Willd on ethylene glycol-induced lithiasis in male albino Wistar rats. Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology.2005; 27(9):633-8.
- **DEBENEDE'ITI, S.; MIÑO, J.; ROJO, A. y ACEVEDO, C.** Ensayo del Efecto Diurético de los Extractos Acuósos de *Amaranthus muricatus* (Moquin) Gill. Acta Farnz. Bonaerense.2000; 19 (1): 17-20

- **SPIVACOW, F.R.; DEL VALLE, E. E. Y ZANCHETA, J.R.** Litiasis Renal Modificaciones Bioquímicas Durante el Seguimiento. *MEDICINA* (Buenos Aires). 2006; 66: 201-205.
- **FREITAS, A.M.; SCHOR, N., BOIM, M.A.** The effect of *Phyllanthus niruri* on urinary inhibitors of calcium oxalate crystallization and other factors associated with renal stone formation. *BJU International*. 2002; 89(9):829-34.
- **FUENTES PAREDES, FLOR DE M.** Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. Ministerio de Salud - Lima. Instituto Nacional de Salud. Biblioteca Nacional del Perú N°: 2008 – 06854.
- **GUILLÉN, R.; RUÍZ, I.; STANLEY, J.; RAMÍREZ, A.Y PISTILLI, N.** Evaluación de parámetros litogénicos en pacientes con urolitiasis que concurren al Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud en el año 2009. Instituto de Investigación de Ciencias de la Salud. 2010; 6(1) : 14-21
- **HADJZADEH, M.A.; KHOEI, A.; HADJZADEH, Z. Y PARIZADY, M.** Ethanolic extract of *nigella sativa* L seeds on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urology Journal*. 2007; 4(2):86-90.
- **HADJZADEH, M.A.; MOHAMMADIAN, N.; RAHMANI, Z.; RASSOULI, F.B.** Effect of thymoquinone on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urology Journal*. 2008; 5(3):149-55.
- **KHAJAVI RAD, A., HADJZADEH, M.A.; RAJAEI, Z.; MOHAMMADIAN, N.; VALIOLLAHI, S. Y SONEI, M.** The beneficial effect of *cynodon dactylon* fractions on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urology Journal*. 2011; 8(3):179-84.
- **LAURELLA, LAURA C.; FRANK, FERNANDA M.; SARQUIZ,A.; ALONSO MARÍA R.; GIBERTI, G.; CAVALLARO, L.** *In Vitro* Evaluation of Antiprotozoal and Antiviral Activities of Extracts from Argentinean *Mikania* Species. *Scientific World Journal*. 2012; 2012: 121253.
- **LEÓN GOÑI, A. C.; BLANCO, D.; PEÑA, A.; RONDA, M.; GONZÁLEZ, B.; GONZÁLEZ, Y.; MANCEBO, A.** Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cenp: SPRD. *Revista electrónica de Veterinaria* .2011; 12(11):1695-7504



- **LEWANDOWSKI, S. Y RODGERS, ALLEN L.** Urolitiasis idiopática de oxalato de calcio: factores de riesgo y consecuencias del tratamiento. Acta de química clínica. 2004;345: 502-507
- **LI, Y. Y MCMARTIN, K.E.** Strain differences in urinary factors that promote calcium oxalate crystal formation in the kidneys of ethylene glycol-treated rats. American journal of physiology. Renal physiology. 2009 May;296(5):F1080-7
- **MARENGO, S.R.; CHEN, D.H.; KAUNG, H.L.; RESNICK, M.I. Y YANG, L.** Decreased renal expression of the putative calcium oxalate inhibitor Tamm-Horsfall protein in the ethylene glycol rat model of calcium oxalate urolithiasis. Urology Journal;2002 May;167(5):2192-7.
- **HADJZADEH, M.; ABOLFAZL KHAJAVI, R.; ZIBA, R.; MARYAM T.; Y NAHID, M.** The preventive effect of *N*-butanol fraction of *Nigella sativa* on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. Magazine Pharmacognosy. 2011 Oct-Dec; 7(28): 338–343.
- **OROZCO, R.B.** Evaluación Metabólica y Nutricional en Litiasis Renal. Revista Médica Clínica CONDES. 2010; 21(4): 567-577.
- **PENSIERO, J.** Proyectos de Investigación Aplicada a los recursos Forestales Nativos (PIARFON). Alternativas de sustentabilidad del bosque nativo del Espinal. 2004; N° 4085-AR.
- **PÉREZ GUTIÉRREZ, ROSA M.** Actividad Antiurolitiásica del Extracto acuoso de *Mamilaria compacta* en Ratas. Revista de salud pública y nutrición. 2006; 7(4):456-460.
- **PÉREZ AMADOR, M.C.; MUÑOZ OCOTERO, V.; IBARRA BALCAZAR, R. Y GARCÍA JIMÉNEZ, F.** Phytochemical and pharmacological studies on *Mikania micrantha* H.B.K.(Asteraceae). INTERNATIONAL JOURNAL OF EXPERIMENTAL BOTANY. 2010; 79: 77-80
- **PROTAPADITYA, D.; SANGITA C.; PRIYANKA C.; Y SANJIB, BHATTACHARYA.** Neuropharmacological properties of *Mikania scandens* (L.) Willd. (Asteraceae). Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research. 2011 Oct-Dec; 2(4): 255–259.
- **PURNIMA, A.; BASAVARA J.C.; y VISHWANA THSWAMY, A.H.M.** Actividad antiurolitiásica y antioxidante de *Mimusops elengi* en litiasis inducida

con Etilenglicol en ratas. Indian journal of Pharmacology; 2010 December; 42(6): 380–383.

- **TOBLLI, J. E.; ANGEROSA, M.; STELLA, I.; FERDER, L.; INSERRA, F.;** Sobresaturación urinaria del oxalato de calcio más allá de la nefrolitiasis. La relación con el daño túbulo intersticial. Medicina (B. Aires). 2003; 63 (2).

#### LIBROS

- **DORLAND** "Diccionario medico de bolsillo" 26º Edición. Madrid .Editorial Mac Graw Hill Interamericana. 2002.
- **HERNANDEZ SAMPIERI, Roberto; FERNANDEZ COLLADO, Carlos; BAPTISTA LUCIO, Pilar.** Metodología de la Investigación. 3º Edición México: Editorial McGraw Hill Interamericana . 2003; 47-78
- **CASTRILLO, J.M. LITIASIS RENAL.** Nefrología Clínica. 2da Edición 2003.
- **VILLAR DEL FRESNO, Á. M.** Farmacognosia General. 1º Edición. España: Editorial Síntesis S. A. 1999: 214 – 217.

#### TESIS

- **ABRÃO DE OLIVEIRA, PATRICIA.** Análisis comparativo de triterpenoides de *Mikania cordifolia* recogida de cuatro lugares diferentes. Facultad de Ciencias Farmacéuticas de Riberáo Preto: Universidad de Sao Paulo. 2006.
- **COLARES, MARTA NOEMÍ.** Mikania cordifolia y Mikania micrantha (Asteraceae): Especies medicinales nativas de las Reservas Naturales de Punta Lara e Isla Martín García. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales: Universidad Nacional de la Plata.2010.
- **ESTÉVEZ CARMONA, MARÍA MIRIAM.** Evaluación Terapéutica de los Extractos de *Selaginella lepidophylla* (Hook. Et Grev.) Spring. Escuela Nacional de Ciencias biológicas: Instituto Politécnico Nacional de México. 2009.
- **LEÓN GÓMEZ, CALIXTO.** Manual para la Identificación de Lianas en el Campo. Departamento de Botánica: Universidad Autónoma de México. 2000.
- **MOHAMED MOHAMED, ZÁKI.** Litotricia mediante ondas de choque resultados a largo plazo .Facultad de Medicina: Universidad Complutense Madrid. 1994.

- **MUÑOZ MARTÍNEZ, JOSÉ ANTONIO.** Litiasis Renal Oxalocálcica. Avances en la comprensión de su etiología y mejoras en la metodología analítica para su estudio. Departamento de Química: Universidad Autónoma de Barcelona.2004 .
- **PÉREZ PERALTA, PERCY LUIS.** Urolitiasis tratada quirúrgicamente en el Hospital arzobispo Loayza 2002-2006. Facultad de Medicina Humana: Universidad nacional Mayor de San Marcos. 2008.
- **SANCHIS CORTEZ, PILAR.** Estudio de los Procesos Patológicos de Cristalización: Litiasis Renal, Calcificaciones Cardiovasculares y Osteoporosis. Facultad de Química: Universidad de Les Illes Balears. 2008.

#### REFERENCIAS ELECTRÓNICAS

- **ANATOMÍA BIOTERIO: ANATOMÍA GENERAL DE LA RATA.** <http://anotobioterio.blogspot.com/2010/05/anatomia-general-de-la-rata.html>. Fecha de consulta: MAYO 2010.
- **CAMARGO, FRANCISCO JOSÉ.** Curso de fitomedicina. “Monografía del Guaco”. <http://www.plantasmedicinales.org>. Fecha de consulta: Marzo 2012.
- Índice Internacional y Diccionario de la Rehabilitación y de la Integración Social (IIDRIS). <http://www.med.univ-rennes1.fr/iidris>. fecha de consulta: Junio 2013.
- **PORTAL EDUCATIVO-CHILE. PLANTAS MEDICINALES PARA EL APARATO GENITOURINARIO.** <http://www.educomputacion.cl>. Fecha de consulta: noviembre 2011.
- **TULIO GONZÁLEZ, ROBERT.** La Transición desde lo Etnobotánico hacia Usos Comerciales de Plantas Colombianas. [www.biblioteca.cotecnova.edu](http://www.biblioteca.cotecnova.edu). Fecha de consulta: noviembre 2012.
- **VELÁZQUEZ SALGADO, ROSALINDA.** Manual de Prácticas de Bioquímica Clínica. [www.depa.fguim.unam.mx](http://www.depa.fguim.unam.mx). Fecha de consulta: Junio 2012.
- **WAKSMAN, JAVIER.** Alcoholes Tóxicos: Etilenglicol, Metanol, Dietilenglicol. Centro de Ciencias de la Salud [www.bvsde.paho.org](http://www.bvsde.paho.org). Fecha de consulta: setiembre 2012.

# ANEXOS

**ANEXO 1. ELECCIÓN DE LAS DOSIS DE EXTRACTO SECO HIDROALCOHÓLICO DE *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow (300 Y 500 mg/Kg DE PESO).**

**TRABAJO PRELIMINAR EXPUESTO EN EL XX CONGRESO NACIONAL DE ESTUDIANTES DE FARMACIA Y BIOQUIMICA, AREQUIPA 2010.**

**EFFECTO ANTILITIÁSICO DEL EXTRACTO SECO HIDROALCÓHOLICO DE *Mikania cordifolia* (HUACO) IN VITRO Y EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN**

Suímer Amao, L; Mamani Aguilar, J.K ; Collavinos Huancachoque, C; Choque Soto, F.J.

**RESUMEN.**

La urolitiasis tiene una prevalencia del 8-12% generando un alto número de ingresos hospitalarios. El tratamiento es costoso e invasivo, por lo que, los pacientes optan por tratamientos herbolarios. Entre las plantas utilizadas destaca *Mikania cordifolia* (*huaco*). Se evaluó la diuresis por la técnica de **Lipschitz**, usando como patrón furosemida, la evaluación antilitiásica *in vitro* se realizó mediante el ensayo de Riesgo Litógeno Urinario usando para este una orina artificial litógena, para luego determinar el Ca precipitado por espectroscopia de llama. Se indujo la litiasis por implantación de discos de Zinc en la vejiga de las ratas a las que se administró los extractos a las concentraciones de 300 y 500 mg durante 2 meses; usando como patrón citrato de potasio; se sacrificó a los animales y se les extrajo los cálculos. La diuresis inducida por la planta fue de 23.59% y 21.62 % para las dosis de 300 y 500 mg respectivamente comparadas con furosemida con un 70.94%; en el ensayo RLU la precipitación de Ca fue de 15 ppm en el blanco, comparados con 5, 2, 2, 0 ppm del extracto a las concentraciones de 100, 200, 300, y 400 mg respectivamente; llegando a inhibir la cristalización en un 100 % a la dosis de 400 mg. Los cálculos extraídos en el control aumentaron en 10 veces su peso inicial, en el patrón solo se llegó a duplicar, triplicándose y cuadruplicándose en los grupos tratados con el extracto a 500 y 300 mg. Se concluye que los extractos presentan actividad antilitiásica dosis dependiente.

**Palabras clave:** *Mikania cordifolia*, ANTILITIÁSICO, ENSAYO RLU, ACTIVIDAD DIURÉTICA

**ANEXO 2. TIPO DE ALIMENTACIÓN DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.**

RATONES BIOTERIO



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**  
Programa de Investigación y Proyección Social en Alimentos

**ALIMENTO PARA RATONES** PESO NETO 40 kg

*Formulación Científica.*

VALOR NUTRICIONAL			CARACTERÍSTICAS	
E. Metabolizable	(Mcal/kg)	2,9	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alimento diseñado para ratones de laboratorio (Crecimiento / Reproducción)</li> <li>• Favorece el desarrollo de una flora intestinal adecuada.</li> <li>• Condición óptima de pH estomacal.</li> <li>• Diámetro de pellets 8,0 mm</li> <li>• Longitud de pellet 7 mm</li> </ul>	<p>Producción: JUN 2012</p> <p>Vencimiento: 14 SEP 2012</p> <p>Lote: 0507-12</p>
Proteína	(% mín)	17		
Lisina	(% mín)	0,92		
Met - Cist.	(% mín)	0,98		
Graza	(% máx)	5		
Calcio	(% mín)	0,63		
Fósforo disponible	(% mín)	0,37		
Fibra	(% máx)	3,5		
Humedad	(% máx)	14		

**INGREDIENTES:**  
 Harina de maíz, torta de soya 40, harina integral extruída de soya, subproductos de molinería de trigo, aceite vegetal, carbonato de calcio, fosfato dicálcico, cloruro de colina 60%, cloruro de sodio, aminoácidos sintéticos, premezcla vitaminas - minerales, antioxidantes, antifúngicos.

Av. La Molina s/o - La Molina Teletax: 348-1524
proalimentos@lamolina.edu.pe

### ANEXO 3: IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

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

- APARTADO POSTAL  
N° 921 - Cusco - Perú
- FAX: 238156 - 238173 - 222512
- RECTORADO  
Calle Tigre N° 127  
Teléfonos: 222271 - 224391 - 224181 - 254398
- CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 - 222512 - 232270 - 243335 - 232276
- CENTRAL TELEFÓNICA: 232298 - 252210 - 243335 - 243636 - 243837 - 243838
- LOCAL CENTRAL  
Plaza de Armas s/n  
Teléfonos: 225771 - 225772 - 224015
- MUSEO INKA  
Calle del Almirante N° 103 - Teléfono: 237383
- CENTRO AGRONÓMICO K'AYTA  
San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246
- COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"  
Av. De la Cultura N° 721  
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

#### EL QUE SUSCRIBE, PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ).

##### CERTIFICA:

Que las Señoritas Doris Rimachi Daza y Liz Suimer Amao, Bachilleres de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Físicas, Químicas Matemáticas, Farmacia e Informática de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, han solicitado a la Dirección del Herbario (CUZ), la determinación taxonómica de una especie vegetal, la misma al ser diagnosticada utilizando bibliografía especializada y muestras del Herbario, corresponde a la especie: *Mikania cordifolia*, cuya posición taxonómica de acuerdo con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group), APG III 2009, es la siguiente:

División : Magnoliophyta (= Angiospermas)  
Clase : Magnoliopsida =Tricolpados (Eudicotiledoneas)  
Subclase : Magnoliidae  
Super orden : Asteranae  
Orden : Asterales  
Familia : Asteraceae  
Tribu : Eupatorieae  
Género : Mikania

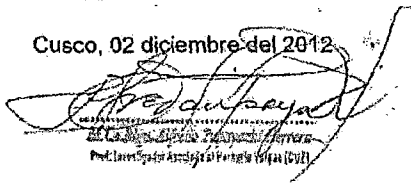
Especie : *Mikania cordifolia* (L.f.) Willdenow

Sinonimia: *Cacalia cordifolia* L.f.; *Eupatorium marquezianum* Gomez de la Maza; *Mikania cissampelina* DC; *Mikania convolvulácea* DC; *Mikania gamoclada* DC; *Mikania hotsmannii* Miquel; *Mikania mollis* H.B.K.; etc.

Nombres comunes: "Guaco", "Huaco", Orko huaco".


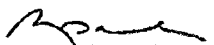
Se expide la presente certificación, para fines que vieran por conveniente las interesadas.

Cusco, 02 diciembre del 2012.



Prof. Luis Vargas Arce, Investigador Asociado al Herbario (CUZ)

**ANEXO 4: CERTIFICADO SANITARIO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN EMITIDO POR EL BIOTERIO DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD**

		<b>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO</b>	
<b>CERTIFICADO SANITARIO N°</b>		214-2012	
<b>Producto</b>	: Rata Albina	<b>Lote N°</b>	: R - 10 - 2012
<b>Especie</b>	: <u>Rattus norvegicus</u>	<b>Cantidad</b>	: 42
<b>Cepa</b>	: Holtzman	<b>Edad</b>	: 2 meses ½
<b>Peso</b>	: 180 a 220 gr.	<b>Sexo</b>	: Hembras
<b>Guía de Remisión</b>	: 026545	<b>Destino</b>	: Suimer Amao, Liz Univ. San Antonio Abad del Cusco
<b>Lima</b>	: 05-06-2012		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, <b>Arturo Rosales Fernández</b>, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 05 de Junio del 2012 (Fecha de emisión del certificado)</p> <p><b>NOTA</b> : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			
		 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586	



## ANEXO 5: PROTOCOLO PARA INDUCCIÓN DE LITIASIS POR EL MÉTODO DE HIPEROXALURIA CON ETILENGLICOL.

### EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DEL EXTRACTO ACUOSO Y CLOROFÓRMICO DE *SELAGINELLA LEPIDOPHYLLA* (HOOK. ET GREV.) SPRING EN LA UROLITIASIS EN RATA.

Estévez Carmona MM, Meléndez Camargo ME.

Fuente: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN.

**INTRODUCCIÓN:** La urolitiasis se caracteriza por la formación de cálculos dentro de las vías urinarias, con una frecuencia del 6% de la población, genera un elevado número de consultas médicas e ingresos hospitalarios con repercusión económica y social. Entre las terapias alternativas destaca el uso de las plantas medicinales como *Sellaginellalepidophyla* (Hook. et Grev.) Spring, por ser asequible y segura; diversos estudios han revelado que los alcaloides contenidos en esta planta presentan diuresis

**OBJETIVO:** Evaluar la actividad farmacológica del extracto acuoso y clorofórmico de *Sellaginellalepidophyla* (Hook. et Grev.) Spring en la urolitiasis inducida en ratas.

**MATERIAL Y MÉTODO:** se obtuvo el extracto acuoso de la planta y a partir de este se extrajo la fracción alcaloidea de la misma. Se utilizaron ratas Wistar hembra de 200 + 20g, de peso corporal (p.c.). La litiasis se indujo mediante la administración de etilenglicol y cloruro de amonio al 0.75% y 0.5% respectivamente, durante 21 días, se inició el tratamiento con el liofilizado (0.5g/kg de p.c.) y los alcaloides (50mg/Kg) por 21 días; se colectaron muestras de sangre y orina para calcular el flujo urinario, las depuraciones de iones y de creatinina.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN:** El rendimiento de extracto acuoso de *Selaginella lepidophyla* (Hook. et Grev.) Spring fue del 4.3%. El tratamiento con el extracto acuoso y clorofórmico de la planta incrementó el volumen urinario, el balance hídrico, electrolítico y la velocidad de filtración glomerular, por otra parte disminuyó la creatinina sérica y el ácido oxálico urinario a los 14 y 21 días de tratamiento.

**EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS SEMILLAS DE *Nigella sativa* L EN CÁLCULOS RENALES INDUCIDOS CON ETILENGLICOL EN RATAS.**

**Hadjzadeh MA, Khoei A, Hadjzadeh Z, Parizady M.**

**Fuente: Departamento de Fisiología, Hospital Ghaem, Mashhad Universidad de Ciencias Médicas de Mashhad, Irán. Ms-hajzadeh@mums.ac.ir**

**ABSTRACT**

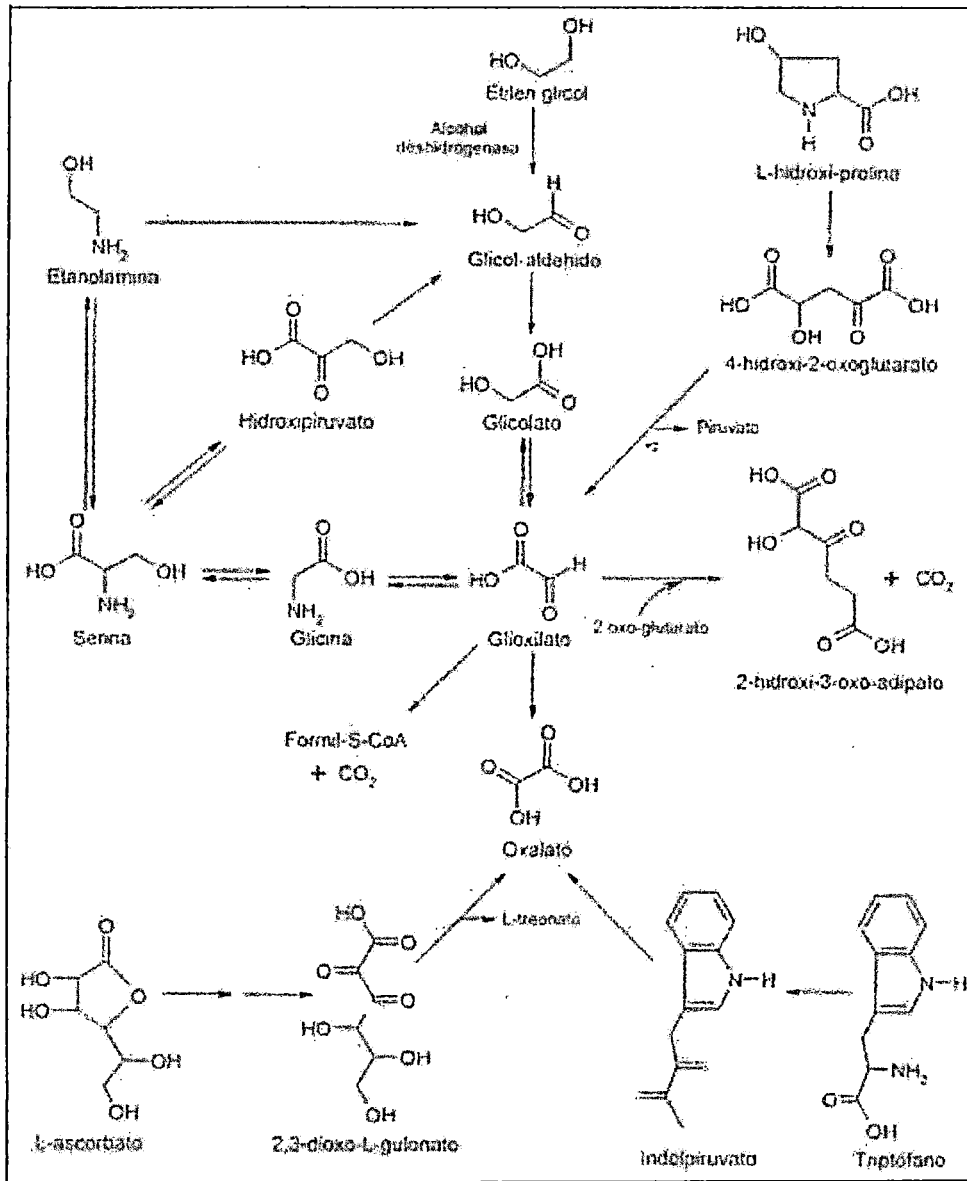
**INTRODUCCIÓN:** El objetivo de este estudio fue investigar los efectos del extracto etanólico de las semillas de *Nigella sativa* L (NS) en cálculos renales inducidos con etilenglicol en las ratas.

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Treinta y dos ratas Wistar se dividieron aleatoriamente en 4 grupos: grupo A: recibió agua potable durante 30 días (control intacto). Grupos B, C, y D recibieron etilenglicol al 1% para la inducción de la formación de cálculos de oxalato de calcio. Los grupos C (régimen preventivo) y D (régimen curativo) recibieron extracto etanólico de NS, 250 mg / kg, en el agua potable desde el día 0 y día 14, respectivamente. Se recogió la orina en los días 0, 7, 14 y 30 del periodo de estudio. Después de 30 días, los riñones fueron retirados y se prepararon para la evaluación histológica de los depósitos de oxalato de calcio. Las concentraciones de oxalato de calcio en orina se determinaron por absorción atómica.

**RESULTADOS:** El número de depósitos CaOx fue significativamente mayor en el grupo B ( $p = 0,001$ ). Las concentraciones de oxalato de calcio en la orina en los días 14 y 30 aumentaron significativamente en el grupo B y eran más altos que los del grupo C ( $P = 0,006$  y  $P = 0,002$ , respectivamente). la concentración de oxalato de la orina en el grupo D descendió en el día 30 y fue menor que en el grupo B ( $p = 0,04$ ).

**CONCLUSIÓN:** El tratamiento de ratas con extracto etanólico de NS redujo el número de depósitos de oxalato de calcio en un grupo de ratas que recibieron extracto etanólico de NS. La SN también podría disminuir la concentración de oxalato de calcio en orina. Sugerimos realizar más estudios sobre los efectos terapéuticos y preventivos de la SN en la formación de cálculos renales en humanos.

**ANEXO 6: Ruta metabólica de formación de Oxalato a partir de Etilenglicol.**



**FUENTE: Estévez; 2009**

## ANEXO 7: DOSAJE DE ELECTROLITOS EN ORINA (SODIO Y POTASIO) POR FOTOMETRÍA DE LLAMA

**Fundamento:** los metales tienen la propiedad de que al ser ionizados en una fuente de calor intenso dan una coloración específica a la llama, arco o chispa que se use para excitarlos.

Dicha ionización produce un espectro de líneas características de cada ion del metal excitado. Estas líneas espectroscópicas tienen longitud de onda características, por ejemplo el sodio 589,3nm y el potasio 765,5.

### 1. DETERMINACIÓN DE POTASIO EN ORINA.

#### a. Preparación de la solución testigo de potasio:

- *Solución madre:* 5 mEq de potasio en 100ml.
- *Solución testigo:* diluir 1 ml de solución madre a 20 ml de agua bidestilada (dilución 1:20).

#### b. Técnica:

- Una vez conectado el fotómetro de llama, ajustados el gas y la presión, esperar 15 minutos para permitir la estabilización del amplificador.
- Colocar la perilla en "K" y el filtro de potasio en su lugar correspondiente.
- Ajustar el cero con agua bidestilada.
- Colocar la cubeta con la solución testigo y llevar la aguja del micro amperímetro a 50 de la escala con la perilla de sensibilidad.
- Colocar la cubeta con el problema y leer la deflexión de la aguja en la escala.
- Efectuar el cálculo de concentración como sigue:

$$\frac{20 \times L}{50} = \text{mg de K/100ml de orina}$$

50

Siendo:

L= lectura del problema.

20= concentración del testigo (20 mg de K/100ml).

Para expresar el resultado en miliequivalentes, multiplicar el valor obtenido por el factor 0.256.

## 2.- DETERMINACIÓN DE SODIO EN ORINA.

Preparación de la solución testigo:

- *Solución madre*: 142mEq% de sodio en 100ml.
- *Solución testigo*: diluir 1 ml de solución madre a 400 ml de agua bidestilada (dilución 1:400).

Técnica:

- Una vez conectado el fotómetro de llama, ajustados el gas y la presión, esperar 15 minutos para permitir la estabilización del amplificador.
- Colocar la perilla en "Na" y el filtro de sodio en su lugar correspondiente.
- Ajustar el cero con agua bidestilada.
- Colocar la cubeta con la solución testigo y llevar la aguja del microamperímetro a 50 de la escala con la perilla de sensibilidad.
- Sustituir el testigo con el problema y leer la deflexión de la aguja en la escala.
- Efectuar el cálculo de concentración como sigue:

$$\frac{326 \times L}{50} = \text{mg de K/100ml de orina}$$

50

Siendo:

L= lectura del problema.

326= concentración del testigo (326 mg de K/100ml).

Para expresar el resultado en miliequivalentes, multiplicar el valor obtenido por el factor 0.435.

## ANEXO 8: DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE CREATININA.



# Creatinina

Método colorimétrico para la determinación cuantitativa de creatinina en suero u orina

### SIGNIFICACION CLINICA

La creatinina, compuesto sumamente difusible, se elimina del organismo casi exclusivamente por filtración renal. Su determinación en suero, así como el clearance de creatinina endógena constituyen parámetros importantes para el diagnóstico de diversas afecciones renales. Sin embargo, debido a los problemas prácticos inherentes a la determinación del clearance (recolección de orina en niños, etc.), la determinación de creatinina sérica es más utilizada como índice de funcionamiento renal.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

La creatinina reacciona con el picrato alcalino en medio tamponado, previa desproteinización con ácido picrico, obteniéndose un cromógeno que se mide a 510 nm.

### REACTIVOS PROVISTOS

Reactivo 1: ácido picrico 41,4 mmol/l  
Reactivo 2: buffer glicina/NaOH 1 mol/l, pH final 12,4.  
Standard: solución de creatinina 20 mg/l.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

Agua destilada.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivos Provistos: listos para usar.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".  
El Reactivo 2 es cáustico.

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Los Reactivos Provistos son estables a temperatura ambiente hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.

### MUESTRA

Suero u orina

a) **Recolección:** obtener suero de la manera usual. Puede emplearse también orina de 2 o de 24 horas. Su recolección debe efectuarse en un recipiente perfectamente limpio mantenido en refrigerador (2-10°C) durante el tiempo de la recolección. Medir la diuresis, tomar una alícuota y efectuar una dilución 1:50 de la misma. En caso de que la diuresis sea de 2 horas, multiplicar el volumen medido por 12 para calcular la cantidad de creatinina eliminada durante 24 horas.

b) **Aditivos:** no se requieren. No se recomienda el uso de plasma pues se obtienen resultados menores en un 8 a un 15%.

c) **Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis ligera a moderada no interfiere, pero no debe emplearse sangre total ya que aproximadamente el 60% del material Jaffe-reactivo de los eritrocitos no es creatinina. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.

d) **Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** es conveniente utilizar el suero recién obtenido. Si esto no es posible puede mantenerse hasta 24 horas en refrigerador (2-10°C) sin variaciones de los resultados. Orinas destinadas a esta determinación pueden mantenerse hasta 4 días en refrigerador (2-10°C) sin agregado de conservantes.

### MATERIAL REQUERIDO (no provisto)

- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.  
- Tubos de ensayo y de fotocolorímetro.  
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.  
- Reloj o timer.

### CONDICIONES DE REACCION

- Longitud de onda: 510 nm en espectrofotómetro o en fotocolorímetro con filtro verde (500-540 nm).  
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente, que no debe exceder los límites de 15 y 30°C.  
- Tiempo de reacción: 35 minutos  
- Volumen de muestra: 0,7 ml  
- Volumen final de reacción: 3,5 ml

### PROCEDIMIENTO

En caso de que la muestra a utilizar sea suero, debe efectuarse una desproteinización de la siguiente manera: a 0,7 ml de suero agregar 3,5 ml de Reactivo 1. Mezclar por inversión. Dejar reposar 10 minutos y centrifugar a 3000 r.p.m. durante 5 minutos como mínimo.

En tubos de fotocolorímetro marcados B (Blanco), S (Standard), D<sub>s</sub> y D<sub>o</sub> (Desconocidos suero y orina), colocar:

	B	S	D <sub>s</sub>	D <sub>o</sub>
Desproteinizado	-	-	3 ml	-
Standard	-	0,5 ml	-	-
Orina diluida (1:50)	-	-	-	0,5 ml
Agua destilada	1 ml	0,5 ml	-	0,5 ml
Reactivo 1	2 ml	2 ml	-	2 ml

Reactivo 2	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
------------	--------	--------	--------	--------

Mezclar por inversión, Incubar 20 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en espectrofotómetro a 510 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (500-540 nm), llevando a cero el aparato con agua destilada.

**MICROTECNICA**

Si es necesario usar menos cantidad de muestra y el aparato de lectura lo permite, pueden desproteinizarse 0,4 ml de suero con 2 ml de Reactivo 1 separando 1,5 ml de sobrenadante y adicionando a éste 0,25 ml de Reactivo 2. En ambos casos el Standard y Blanco se procesan de la forma habitual.

**ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL**

El color de la reacción es estable durante 10 minutos por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de ese lapso. El Blanco y el Standard pueden leerse hasta los 80 minutos.

**CALCULO DE LOS RESULTADOS**

Corregir las lecturas S y D restándoles el Blanco (B).

1) Creatinina en suero (mg/l) =  $D_s \times f$

$$f = \frac{20 \text{ mg/l}}{S}$$

2) Creatinina en orina (g/24 hs) =  $\frac{D_o}{S} \times V$

siendo:

V = volumen de la diuresis expresado en litros/24 horas.

La fórmula surge de:

$$\text{Creatinina en orina (g/24 hs)} = \frac{D_o}{S} \times 0,020 \text{ g/l} \times 50 \times V$$

donde:

0,020 g/l = concentración del Standard

50 = factor de dilución

3) Depuración de Creatinina Endógena (D.C.E.):

$$\text{D.C.E. ml/min} = \frac{\text{Creatinina en orina (g/24 hs)}}{\text{Creatinina en suero (mg/l)}} \times 894 \text{ ml/min}$$

donde:

$$894 \text{ ml/min} = \frac{\text{g/24 hs}}{\text{mg/l}} = \frac{1.000 \text{ mg} \times 1.000 \text{ ml}}{1 \text{ mg} \times 1.440 \text{ min}} = \frac{1.000.000 \text{ ml}}{1.440 \text{ min}}$$

**METODO DE CONTROL DE CALIDAD**

Standatrol S-E 2 niveles.

**VALORES DE REFERENCIA**

Suero: 8 a 14 mg/l

Orina: 0,9 a 1,5 g/24 horas.

D.C.E.: 80 a 140 ml/min (promedio 125 ml/min)

Estos valores de D.C.E. corresponden a adultos hasta 60 años.

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**

- Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA.
- En caso de haberse comprobado la presencia de acetato en la muestra, una vez agregado el Reactivo 1 (y antes de centrifugar en el caso de suero), colocar en baño de agua a ebullición durante 5 minutos, con lo que se elimina casi totalmente esta interferencia. Enfríar y continuar como se indica en PROCEDIMIENTO.
- Luego de la desproteinización del suero con Reactivo 1 pueden observarse eventualmente escasas partículas en el sobrenadante, las que no interfieren en la reacción.
- El factor colorimétrico puede utilizarse cuando la reacción se efectúa entre 20 y 25°C. De no ser así debe procesarse simultáneamente un standard con cada lote de determinaciones. De todos modos la temperatura de reacción no debe exceder los límites de 15 y 30°C.

**PERFORMANCE**

a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
7,4 mg/l	± 0,19 mg/l	2,5 %
14,1 mg/l	± 0,25 mg/l	1,7 %

b) Linealidad: la reacción es lineal hasta 40 mg/l, en caso de que los resultados superen este valor, deberá diluirse la solución coloreada final 1:2 ó 1:4 con el Blanco de Reactivos, repetir la lectura y multiplicar el resultado por la dilución efectuada.

c) Recuperación: agregando cantidades conocidas de creatinina a distintos sueros se obtuvo una recuperación entre 97 y 101%.

**PRESENTACION**

Equipó para 130-220 determinaciones (Cód. 1260001).

**BIBLIOGRAFIA**

- Biggs, H.G & Cooper, J.M. - Clin. Chem. 7:655 (1961).
- Martinek, R.G. - Amer. Med. Technol. 32:8:700 (1970).
- Searcy, R.L. - Diagnostic Biochemistry, Mc. Graw - Hill Book Co. New York (1969).
- Teger-Nilsson, A.C. - Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13:326 (1961).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACCPress, 4<sup>th</sup> ed., 2001.

Entoradada por:  
Wiener Laboratorios S.A. S.C.  
Rosario 2004  
2000 - Rosario - Argentina  
http://www.wienerlab.com.ar  
Dir. Tec.: Vinicio E. Gómez  
Bióquímico  
Producto Inscripción M.D.  
Disp. N°: 25275 - 121199



**Wiener lab.**  
2000 Rosario - Argentina

**ANEXO N° 09: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA DETERMINACIÓN DE ÁCIDO OXÁLICO**

GRUPO EXPERIMENTAL:	CANTIDAD DE PERMANGANATO DE POTASIO UTILIZADO EN LA TITULACIÓN ( ml)
Rata N°	

FUENTE: Elaboración propia

**ANEXO 10: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA DETERMINACIÓN DE SODIO, POTASIO Y CREATININA EN SUERO.**

GRUPO EXPERIMENTAL:	SODIO EN SUERO(mEq)	POTASIO EN SUERO (mEq)	CREATININA EN SUERO (mg/dl)
Rata N°			

FUENTE: Elaboración propia.

**ANEXO 11: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FLUJO URINARIO, SODIO, POTASIO, pH Y CREATININA EN ORINA.**

GRUPO EXPERIMENTAL	Volumen de orina recolectado en 6 horas ( ml )	pH	SODIO EN ORINA (mEq)	POTASIO EN ORINA (mEq)	CREATININA EN ORINA (mg/dl)
Rata N°					

FUENTE: Elaboración propia



**ANEXO 12: CÁLCULO DE DOSIS PARA LA ADMINISTRACIÓN DEL EXTRACTO.**

<b>GRUPO</b>	<b>ANIMAL DE EXPERIMENTACIÓN</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>PESO DE EXTRACTO EN mg</b>	<b>SOLUCIÓN MADRE (300 mg/ ml+ Tween 2%) A ADMINISTRAR en mL</b>
<b>Mikania 300 mg x 14 días</b>	<b>13</b>	<b>255.6</b>	<b>76.68</b>	<b>0.256</b>
	<b>14</b>	<b>261.5</b>	<b>78.45</b>	<b>0.262</b>
	<b>15</b>	<b>291.2</b>	<b>87.36</b>	<b>0.291</b>
	<b>16</b>	<b>228.4</b>	<b>68.52</b>	<b>0.228</b>
	<b>17</b>	<b>228.5</b>	<b>68.55</b>	<b>0.229</b>
	<b>18</b>	<b>253.7</b>	<b>76.11</b>	<b>0.254</b>
	<b>19</b>	<b>256.6</b>	<b>76.98</b>	<b>0.257</b>
<b>Mikania 500 mg x 14 días</b>	<b>20</b>	<b>295.4</b>	<b>147.7</b>	<b>0.492</b>
	<b>21</b>	<b>243.2</b>	<b>121.6</b>	<b>0.405</b>
	<b>22</b>	<b>314.6</b>	<b>157.3</b>	<b>0.524</b>
	<b>23</b>	<b>319.5</b>	<b>159.75</b>	<b>0.533</b>
	<b>24</b>	<b>345.5</b>	<b>172.75</b>	<b>0.576</b>
	<b>25</b>	<b>371.2</b>	<b>185.6</b>	<b>0.619</b>
	<b>26</b>	<b>249.6</b>	<b>124.8</b>	<b>0.416</b>
<b>Mikania 300 mg x 21 días</b>	<b>27</b>	<b>235.2</b>	<b>70.56</b>	<b>0.235</b>
	<b>28</b>	<b>276.4</b>	<b>82.92</b>	<b>0.276</b>
	<b>29</b>	<b>246.4</b>	<b>73.92</b>	<b>0.246</b>
	<b>30</b>	<b>245</b>	<b>73.5</b>	<b>0.245</b>
	<b>31</b>	<b>285</b>	<b>85.5</b>	<b>0.285</b>
	<b>32</b>	<b>236.5</b>	<b>70.95</b>	<b>0.237</b>
	<b>33</b>	<b>240.6</b>	<b>72.18</b>	<b>0.241</b>
<b>Mikania 500 mg x 21 días</b>	<b>34</b>	<b>243.3</b>	<b>121.65</b>	<b>0.406</b>
	<b>35</b>	<b>212.5</b>	<b>106.25</b>	<b>0.354</b>
	<b>36</b>	<b>222.8</b>	<b>111.4</b>	<b>0.371</b>
	<b>37</b>	<b>231.5</b>	<b>115.75</b>	<b>0.386</b>
	<b>38</b>	<b>246.6</b>	<b>123.3</b>	<b>0.411</b>
	<b>39</b>	<b>257.1</b>	<b>128.55</b>	<b>0.429</b>
	<b>40</b>	<b>240</b>	<b>120</b>	<b>0.400</b>

**FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA.**

## **ANEXO 13: PRUEBAS DE ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO - IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS Y SECUNDARIOS**

### **1.- IDENTIFICACIÓN DE ALMIDONES.**

#### **a.-PRUEBA DE LUGOL O YODO (K<sub>2</sub>I<sub>2</sub>)**

A 0.5 ml de extracto agregar gotas de solución de yodo. Es positivo coloración azul intensa.

### **2.- DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES.**

#### **a.-PRUEBA DE FEHLING.**

A 0.5 ml de extracto agregar 1 ml de agua destilada hirviendo, luego se hace actuar el Reactivo de Fehling (1 ml de Fehling A y 1 ml de Fehling B), llevar al calor. Es positivo la formación de un precipitado de color rojo ladrillo.

#### **b.- PRUEBA DE BENEDICT.**

A 0.5 ml de extracto agregar 0.2 ml del Reactivo de Benedict. Se somete a ebullición por 5 minutos y se deja enfriar. Es positiva la formación de un precipitado rojo ladrillo.

#### **c.- PRUEBA DE MOLISH.**

A un ml de extracto agregar 4 gotas del Reactivo de Molich, agitar y agregar por la pared del tubo 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Es positivo formación de un halo rojo en el tubo de ensayo.

### **3.- DETERMINACIÓN DE GLICÓSIDOS.**

#### **a.- PRUEBA DE FEHLING.**

A 0.5 ml de extracto agregar 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(c) y llevar al calor hasta que hierva, luego de neutralizar con NaOH se hace actuar el Reactivo de Fehling. La formación de un precipitado rojo ladrillo, indica prueba positiva.

#### **b.- PRUEBA DE BENEDICT.**

A 200 mg de extracto agregar 2 ml de HCl al 1%, reflejar por 5 minutos, enfriar, neutralizar con NaOH al 1 %, luego tratar con carbón activado si es necesario y filtrar, agregar 0.2 ml del Reactivo de Benedict, someter a ebullición por 5 minutos y dejar enfriar. Es positiva la formación de un precipitado rojo ladrillo.

#### **4.- DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS.**

##### **a.- PRUEBA DE LA NINHIDRINA.**

A 0.5 ml de extracto acidificado con HCl al 1% agregar 2 a 3 gotas de la solución de ninhidrina al 1 %, calentar por 5 minutos en baño de agua a ebullición. Es positivo coloraciones rojizas, violetas, amarillentas o rojizas anaranjadas.

#### **5.- DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES.**

##### **a.- PRUEBA DE SHINODA (Mg/HCl).**

A 0.5 ml de extracto agregar limaduras de magnesio metálico (Mg), y de 2 a 3 gotas de HCl (c). Es positivo coloraciones dependiendo del tipo de flavonoide, así:

- Anaranjado : flavonas
- Rojo : dihidroflavonas
- Rojo-azulado: flavonoles.
- Violeta : dihidroflavonoles y xantonas.

##### **b.- PRUEBA DEL AMONIACO (NH<sub>3</sub>).**

A una pequeña porción de papel filtro dejar caer de 1 a 2 gotas de extracto, observar el color y fluorescencia a la luz UV, exponer a vapores de amoniaco y observar el cambio de color producido fuera y dentro de la lámpara UV . Es positiva la fluorescencia o cambio de color dependiendo del tipo de flavonoide pueden ser:

- Amarillo : flavonas, flavonoles y xantonas.
- Amarillo a rojo : chalconas y auronas.
- Anaranjado : dihidroflavonoles.
- Incoloro-anaranjado : dihidroflavonas
- Azul : antocianinas.

**c.- PRUEBA DEL CLORURO FÉRRICO ( $FeCl_3$ ).**

A 0.5 ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de  $FeCl_3$ . Es positivo si da complejos coloreados.

**d.- PRUEBA DEL ÁCIDO SULFÚRICO ( $H_2SO_4$ ).**

En un tubo de ensayo se introducen 10 mg de extracto y 2 ml de  $H_2SO_4$  (c). Es positivo si da las siguientes coloraciones:

- Amarillo : flavonas y flavonoles.
- Anaranjado a guinda : dihidriflavonas, flavanonas
- Rojo-guindo o rojo-azulado: chalconas y auronas.

**e.- PRUEBA DEL CLORURO DE ANTIMONIO EN TETRACLORURO DE CARBONO ( $SbCl_5/CCl_4$ ; PRUEBA DE MARINI- BETTOLO).**

En un tubo de ensayo se introducen 2ml de extracto alcohólico y 3 gotas de una solución de cloruro de antimonio en tetracloruro de carbono. Es positivo coloraciones o precipitaciones, así:

- Amarillo o naranja (flavonas).
- Rojo oscuro o violeta (chalconas).

**f.- PRUEBA DEL ÁCIDO BÓRICO-ANHÍDRIDO ACÉTICO (REACCIÓN DE DIMROTH).**

En un tubo de ensayo se introducen 2ml de extracto y 2ml de solución de ácido bórico disuelto en anhídrido acético. Las 5-hidroxiflavonas dan coloraciones de color naranja o roja.

**g.- PRUEBA DEL ZINC Y ÁCIDO CLORHÍDRICO ( $Zn/HCl$ ).**

A 0.5 ml de extracto agregar limaduras de zinc metálico (Zn), y de 2 a 3 gotas de HCl (c). Es positivo coloraciones rojizas o amarillentas (flavanoles).

**h.- PRUEBA DEL ACETATO DE PLOMO.**

A 0.5 ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de acetato de plomo. Es positivo coloraciones rojizas o amarillentas.

***I.- PRUEBA DEL ÁCIDO BÓRICO Y ÁCIDO CÍTRICO.***

Disolver en acetona el ácido bórico y ácido cítrico, y agregar al extracto. Es positivo coloración amarillo o fluorescencia verdosa.

***j.- PRUEBA DEL ÁCIDO CLORHÍDRICO 2N (HCL 2N).***

La solución material vegetal se hierve con HCl 2N .Se usa para diferenciar leucoantocianidinas y catequinas, la primera da coloración roja y la última coloración café amarillenta.

***k.- PRUEBA DE LA BENCIDINA.***

Agregar a la muestra la solución de bencidina y calentar a 100°C por 15 min. Es positiva la formación de coloraciones características.

***l.- PRUEBA DE ROSENHEIM.***

Agregar a la muestra HCl 2N en 1 propanol. Hervir de 15-30 min. Es positivo coloración roja para leucoantocianidinas y color marrón para catequinas.

***m.- PRUEBA DEL NITRATO DE PLATA.***

Los flavonoides con dos hidroxilos orto o para entre sí, forman espejo de plata cuando se mezclan (5-10 mg) en solución etanólica (1-2 ml) con 3 gotas de nitrato de plata al 12% en agua, si después de agitar 15 min no se forma el espejo de plata, se puede calentar 1 min y observar.

***n.- PRUEBA DEL ÁCIDO ASCÓRBICO.***

Agregar solución de ácido ascórbico a la muestra. Es positivo para la quercetina y no para la rutina. Observar coloraciones características.

**6.- DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.**

***a.- PRUEBA DEL CLORURO FÉRRICO (FECL<sub>3</sub>).***

A 0.5 ml de extracto agregar de 1 a 2 gotas de cloruro férrico al 1% en solución acuosa. Es positivo la presencia de precipitados o coloraciones azuladas-verdosas

**b.- PRUEBA DEL ÁCIDO SULFÚRICO ( $H_2SO_4$ ).**

A 0.5 ml de extracto agregar de 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico  $H_2SO_4$  (c) es positivo la presencia de coloraciones rojas.

**7.- DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES.**

Para realizar las pruebas se utilizó 0.5 g del extracto solubilizado en HCl al 5%. Se filtra y se calienta por 10 min, en este se realiza las siguientes pruebas:

**a.- PRUEBA DE DRAGENDORFF.**

A 0.5 ml de extracto ácido agregar de 2 a 3 gotas del Reactivo de Dragendorff. Es positiva la presencia de un precipitado naranja o marrón.

**b.- PRUEBA DE MAYER O VALSER**

A 2 ml de extracto se le agrega 3 a 4 gotas del Reactivo de Mayer. Es positiva la presencia de un precipitado blanquecino, blanco amarillento o amarillo limón claro.

**c.- PRUEBA DE WAGNER O BOUCHARDAT.**

A 0.5 ml de la solución ácida agregar 2 a 3 gotas del Reactivo de Wagner. Es positiva la formación de un precipitado marrón.

**d.- REACTIVO DE MARME.**

A 2 ml de extracto se le agrega 3 a 4 gotas del Reactivo de Marme. Es positiva la presencia de precipitados incoloros y amorfos, que más tarde cristalizan y se hacen amarillentos, solubles en exceso de reactivo y etanol.

**e.- PRUEBA DE BOUCHARDAT.**

A 2ml de la muestra agregar 3 a 4 gotas de reactivo de Bouchardat. Son positivas coloraciones naranjas o precipitados floculentos café claro, rojo o pardo oscuro.

**f.- REACTIVO DE HAGER (ACIDO PÍCRICO). Para reacciones macroquímicas.**

Se coloca una pequeña fracción de residuo alcaloideo en el centro de un portaobjetos se le añade una gota de solución acuosa de HCl 1%, se evapora a sequedad a calor lo más bajo posible y sobre el residuo obtenido constituido por el clorhidrato de alcaloide se agrega una gota de solución saturada de ácido pícrico, facilitando la disolución con una varilla de vidrio. Se cubre con el portaobjetos, se calientan con mucho cuidado, exponiendo la preparación sobre una llama lo suficiente alejada hasta eliminar toda el agua, observar al microscopio. Es positiva la formación de precipitados de picratos de color amarillo.

**g.- REACCIÓN CON EL ÁCIDO TÁNICO.**

Se utiliza solución hidroalcohólica de tanino o tanino al 5% recientemente preparada. A mg de muestra se agrega la solución. Es positiva la formación de precipitados blancos o amarillos, amorfos algo soluble en agua caliente y poco en el alcohol.

**h.- PRUEBA DEL CLORURO DE MERCURIO AL 5%.**

A 1 mg de extracto agregar la solución de cloruro de mercurio al 5 %. Es positivo la formación de precipitados blancos o amarillentos, amorfos o cristalizables.

**i.- PRUEBA DEL CLORURO DE PLATINO AL 10%. ( $H_2PtCl_6 \cdot 6H_2O$ ).**

A 1 mg de extracto agregar la solución de cloruro de platino al 10 %. Es positiva la formación de precipitaciones de color blanco amarillento a amarillo.

**j.- REACTIVO DE MARQUIS (FORMOL-SULFÚRICO).**

A 1 mg de extracto agregar la solución del Reactivo de Marquis. Es positivo cambios de coloración.

**k.- REACTIVO DE SONNENSCHNEIN.**

A 1 mg de extracto agregar la solución del Reactivo de Sonnenschein. Los fosfomolibdatos de alcaloides que se forman son precipitados amorfos, amarillos claros o pardo amarillento, algunos de los cuales se colorean después en azul o verde por reducción.

**l.- REACTIVO DE SCHEIBLER. (ÁCIDO FOSFOTÚNSTICO).**

A 1 mg de extracto agregar la solución del Reactivo de Scheibler. Es positivo precipitados coposos que luego se hacen densos y que se pueden lavar con agua acidulada.

**m.- PRUEBA DEL ÁCIDO NÍTRICO.**

A mg de extracto agregar la solución de ácido nítrico. Es positiva la aparición de manchas rojas.

**n.- PRUEBA DEL YODO - YODURO DE POTASIO ÁCIDO.**

Agregar a la muestra el Reactivo yodo – yoduro de potasio ácido. Es positiva la formación de coloraciones características.

**ñ.- PRUEBA DEL YODO-ÁCIDO CLORHÍDRICO.**

Agregar a la muestra: Primero la solución A, luego la solución B. Es positiva la formación de manchas marrones.

**o.- PRUEBA DE ERDMANN.**

Agregar a la muestra 8-10 gotas del Reactivo de Erdmann. Es positiva la formación de una coloración roja u otros colores.

**p.- PRUEBA DEL ACIDO CLOROÁURICO. ( $HAuCl_4 \cdot 4H_2O$ )**

Agregar a la muestra la solución al 10% de ácido cloroaúrico. Es positiva la formación de precipitados característicos.

**q.- PRUEBA DE FROHDE.**

A 1 – 2 mg de muestra agregar de 2 a 3 gotas del reactivo. Es positiva la formación de una coloración característica.

**8.-DETERMINACIÓN DE TANINOS**

**a.- PRUEBA DEL CLORURO DE GELATINA-SAL.**

Realizar lo siguiente:

- **Tubo 1:** A 0.5 ml de extracto agregar de 3 a 5 gotas de solución de NaCl al 5%



- **Tubo 2:** A 0.5 ml de extracto agregar una solución de gelatina al 1%.
- **Tubo 3:** A 0.5 ml de extracto agregar el Reactivo de cloruro de gelatina-sal (gelatina al 1% disuelto en solución de NaCl al 5%).

Si solamente en el primer tubo se presenta el precipitado, se considera reacción negativa para taninos. Si en el segundo y tercer tubo se forma precipitado se considera reacción positiva para taninos.

**b.- PRUEBA DEL ACETATO DE PLOMO AL 5%.**

A 0.5 ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de acetato de plomo al 5%. Es positiva la presencia de un precipitado pardo de tanato de plomo.

**c.- PRUEBA DEL CLORURO FÉRRICO ( $FeCl_3$ ).**

Colocar 0.5 ml en un tubo de ensayo, adicionar gota a gota la solución de  $FeCl_3$  al 10%. Es positivo si se producen coloraciones azul o verde dependiendo del tipo de tanino, así:

- Taninos gálicos o hidrolizables (coloración azul-negruzca).
- Taninos catéticos o condensados (coloración verdosa).

**d.- PRUEBA DEL DICROMATO DE POTASIO.**

A 0.5 ml de muestra agregar la solución de dicromato de potasio al 5%. Es positivo precipitados pardo amarillento o pardo oscuro

**e.- PRUEBA DEL CIANURO DE POTASIO.**

A 0.5 gr de extracto agregar cianuro de potasio al 5%. Es positivo para ácido gálico con colocación roja.

**f.- PRUEBA DEL HIPOCLORITO DE SODIO.**

A 0.5 ml de muestra agregar hipoclorito de sodio es positivo para ácido elágico con coloración naranja.

**g.- PRUEBA DEL AGUA DE CAL.**

A 0.5 gr. de muestra agregar agua de cal. Es positivo precipitado pardo amarillento.

**h.-PRUEBA DEL ACETATO DE ZINC.**

A 0.5 ml de muestra agregar solución de acetato de zinc. Es positiva la formación de una coloración y precipitado pardo claro.

**i.- PRUEBA DEL CIANURO DE ZINC EN SOLUCIÓN ACUOSA.**

A 0.5 ml de muestra agregar solución acuosa de cianuro de zinc. Es positivo:

- Acido gálico: coloración roja.
- Acido tánico: coloración amarilla.

**j.- PRUEBA DEL FERROCIANURO DE POTASIO Y AMONIACO.**

A 0.5 ml de muestra agregar ferrocianuro de potasio. Luego agregamos amoniaco. Es positivo coloración rojo intensa.

**9.-DETERMINACIÓN DE SAPONINAS.**

**a.- PRUEBA DEL ÁCIDO SULFÚRICO.**

A 0.5ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de  $H_2SO_4$  (c). Es positivo coloraciones amarillentas que luego pasan al rojo.

**b.- PRUEBA DE LA ESPUMA.**

A un tubo de ensayo que contenga 2 ml del extracto al 1% diluir 5 veces su volumen en agua y filtrar, agitar vigorosamente por 30 seg. Es positiva la formación de espuma persistente por 30 min.

**c.- PRUEBA CUANTITATIVA.**

**ÍNDICE AFRO SIMÉTRICO O ÍNDICE DE ESPUMA.**

Numero de mililitros en que se halla disuelto 0.1 g de espuma para producir un centímetro de espuma.

Colocar en 10 tubos de ensayo de igual diámetro, de 1 a 10 ml de solución de saponina al 1% y completar la diferencia con agua hasta 10 ml cada uno de los tubos. Agitar por 30 segundos y dejar en reposo durante 15 minutos, observar cuál de los tubos presenta 1 cm. de espuma y anotarlo.

**d.- PRUEBA DE LA VASELINA LÍQUIDA.**

A 5 ml de extracto agregar gotas de vaselina líquida, agitar fuertemente y observar la emulsión formada, dejar en reposo. Se separan así los dos componentes de la emulsión lograda. Las saponinas emulsionan inestablemente los aceites.

**e.- PRUEBA DEL MERCURIO METÁLICO.**

Agitar enérgicamente en un tubo de ensayo otra porción de extracto, agregar una gota de mercurio, observar como este queda dividido en el fondo del tubo en gotas muy pequeñas con la particularidad de permanecer juntos sin unirse, hecho que sucede en el caso de existir saponósidos debido a la gran tensión superficial del mercurio con respecto al agua.

**f.- PRUEBA DEL HIDRÓXIDO DE CALCIO. [Ca (OH)<sub>2</sub>]**

Adicionar a la muestra la solución de Ca (OH)<sub>2</sub>. Es positiva la formación de un precipitado blanquecino.

**g.- PRUEBA DEL HCL.**

Agregar 5 ml de solución con 2ml de HCl (c). Hervir durante 3 minutos. Observar la aparición de abundante precipitado. Filtrar a través de un papel filtro. Al filtrado añadir solución de NaOH al 5% hasta reacción alcalina y un volumen de Reactivo de Fehling. Calentar a ebullición, aparecerá un precipitado rojo ladrillo de óxido de cobre.

**10.- DETERMINACIÓN DE CARDIOTÓNICOS.**

A 10 ml del extracto etanólico de la planta adicionar 5 ml de solución de acetato de plomo al 10% y 4 ml de agua destilada. Calentar la mezcla a baño maría durante 10 min. Filtrar. Agitar el filtrado con 20 ml de cloroformo, separar la capa clorofórmica en 6 tubos de ensayo, llevar a sequedad.

**a.-PRUEBA DE BALJET.**

Agregar 1ml del reactivo al extracto. Es positivo coloraciones roja, naranja-rojiza o violeta.

**b.-PRUEBA DE KEDDE. (GLICÓSIDOS CARDIOTÓNICOS)**

Agregar 1 ml del reactivo al extracto. Es positivo coloración azul violeta. Los bufadienólidos no reaccionan. El color se atenúa en pocos segundos.

**c.-PRUEBA DE RAYMOND-MARTHOUD.** (ANILLO LACTÓNICO DE LOS CARDENÓLIDOS)

Agregar 1 ml de reactivo al extracto. Es positivo coloraciones roja, naranja-rojiza o violeta.

**d.-PRUEBA DE KELLER KILLIANI.**

Agregar 1 ml del Reactivo a mg de extracto. Es positivo coloraciones intensas.

**e.-PRUEBA DE LIEBERMANN- BURCHARD.**

A 1 mg de muestra agregar pocas gotas de ácido acético más 3 ml de anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1). Es positiva la formación de una coloración verde, azul verdoso, vía rojo al azul.

**f.-PRUEBA DE SALKOWSKI.** (NÚCLEO ESTEROIDAL)

Agregar 1 ml del reactivo a mg del extracto. Es positivo coloraciones amarilla-rojo sangre.

**g.-PRUEBA DEL ACIDO 2, 4, 6 TRINITROBENZOICO.**

Agregar al extracto primero la solución A y luego la solución B, calentar por 4-5 min a 100°C, después enfriar y agregar finalmente la solución C. Es positivo coloraciones rojas –anaranjadas.

## **10.- DETERMINACIÓN DE LACTONAS SESQUITERPÉNICAS**

**a.- PRUEBA DEL HIDROXAMATO FÉRRICO.**

A 0.5 ml de extracto agregar solución de clorhidrato de hidroxilamina 0.5 N en etanol, más 1 ml de KOH 2N en etanol, calentar a ebullición por 1-2 min. Enfriar y acidular con HCl 0.5 N. Luego agregar de 2 a 3 gotas de solución de FeCl<sub>3</sub> al 1%. Es Positivo coloración violácea.

**b.- PRUEBA DE BALJET.**

A 2 ml de extracto agregar de 2 a 3 ml del Reactivo de Baljet en volúmenes iguales. Es positivo coloración naranja o rojo.

**c.- PRUEBA DE LEGAL.**

En un tubo de ensayo se introducen 2 mg de extracto, 2 gotas de piridina, 1 gota de una solución de nitroprusiato de sodio al 5% recién preparado y 2 gotas de solución 2N de NaOH. Es positivo coloración violeta o rosa palo.

**d.- PRUEBA DE TOLLENS.**

En un tubo de ensayo se introducen 5 mg de extracto, 3 gotas de piridina y 3 gotas del Reactivo de Tollens recién preparado. Es positivo precipitados negro o espejo de plata

**11.- DETERMINACIÓN DE CUMARINAS.**

**a.- PRUEBA DE BALJET.**

A 0.5 ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de Reactivo de Baljet. Es positivo coloraciones naranja a rojo oscuro.

**b.- PRUEBA DEL NaOH.**

En un tubo de ensayo agregar 0.2 g de muestra pulverizada y añadir 2 ml de agua destilada, cubrir el tubo con papel filtro humedecido con NaOH al 10% y mantener en baño de agua a ebullición por varios min, luego exponer el papel a luz UV. Es positiva la aparición de una fluorescencia amarillo verdosa o azul (cumarinas volátiles)

**12.- DETERMINACIÓN DE TRITERPENOS.**

A 0.5 gr. de extracto se solubilizo con éter de petróleo. Luego se separó la parte soluble del residuo sólido, la parte soluble en éter de petróleo se evapora a sequedad realizada para las agliconas y en la parte insoluble para los glucósidos.

**a.- PRUEBA DE LIEBERMAN-BURCHAR.**

A 0.5 ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de Reactivo de Lieberman-Burchar. Es positivo coloraciones rosadas o rojo púrpuras.

**b.-PRUEBA DEL ÁCIDO FOSFOMOLÍBDICO.**

Agregar a mg de extracto la solución de ácido fosfomolibdico al 10% en etanol. Es positiva la formación de coloraciones características.

**c.-PRUEBA DEL ÁCIDO SILICOTÚNGTICO.**

Agregar a mg de extracto la solución de ácido silicotúngtico al 15% en agua. Es positiva la formación de coloraciones características.

**d.-PRUEBA DEL ACIDO TRICLOROACETICO.**

Agregar a la muestra cristales de ácido tricloroacetico. Es positivo coloraciones naranja, rojo, o rojo oscuro. Los triterpenos tetracíclicos y esteroides desarrollan color a 60°C, y los triterpenos pentacíclicos a 110°C.

**e.-PRUEBA DE ROSENTHALER.**

A 1-2 g de muestra agregar solución etanólica de vainillina al 1 % más 1 gota de HCl (c). Es positivo formación de coloraciones diferentes.

**13.- DETERMINACIÓN DE ESTEROIDES.**

**a.- PRUEBA DE LIEBERMAN-BURCHAR.**

A 0.5 ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de Reactivo de Lieberman-Burchar. Es positivo coloraciones azul a azul verdosa.

**b.- PRUEBA DE LIEBERMAN-BURCHARMODIFICADO.**

En un tubo de ensayo se introducen 1ml de anhídrido acético y 1 ml de cloroformo. Se mezcla y se enfría a 0 °C, luego se añade una gota de ácido sulfúrico (c). Se toma 1 ml de la mezcla y se pone en contacto con la sustancia disuelta en cloroformo. Es positivo coloración rojo púrpura que luego pasa al azul luego a verde azulado y finalmente al amarillo.

**c.- PRUEBA DE SALKOWSKI.**

En un tubo de ensayo se introducen 2 mg de extracto y 1ml de cloroformo, luego se añade 1 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (c). Es positivo coloraciones rojo o amarillos.

**d.- PRUEBA DE LA VAINILLINA – ÁCIDO CLORHÍDRICO.**

En un tubo de ensayo, a un volumen de 2 ml de la muestra adicionar igual volumen de solución de vainillina clorhídrica al 1%. Es positivo coloraciones violeta o violeta azulado.

**e.-PRUEBA DEL CLORURO DE ANTIMONIO (V)**

Mezclar 2 volúmenes de cloruro de antimonio (V) con 8 volúmenes de tetracloruro de carbono o cloroformo (preparar poco antes de su uso). Agregar al extracto y calentar a 120°C hasta que aparezcan coloraciones.

**f.-PRUEBA DEL CLORURO DE ZINC.**

Agregar al extracto la solución de cloruro de zinc y calentar de 5-10 min a 105 °C hasta observar coloraciones.

**g.-PRUEBA DE LAVAINILLINA –ÁCIDO SULFÚRICO.**

Agregar el Reactivo a la muestra y calentar a 120°C hasta intensidad de coloración óptima.

**h.-PRUEBA DEL ÁCIDO FOSFOMOLÍBDICO.**

Agregar a mg de extracto la solución de ácido fosfomolíbico al 10% en etanol. Es positiva la formación de coloraciones características.

**i.-PRUEBA DEL ÁCIDO SILLICOTÚNSTICO.**

Agregar a mg de extracto la solución de ácido silicotúngtico al 15% en agua. Es positiva la formación de coloraciones características.

**j.-PRUEBA DEL ÁCIDO TRICLOROACÉTICO.**

Agregar a la muestra cristales de ácido tricloroacético. Es positivo coloraciones naranja, rojo, o rojo oscuro. Los triterpenos tetracíclicos y esteroides desarrollan color a 60°C, y los triterpenos pentacíclicos a 110°C.

**k.-PRUEBA DE ROSENTHALER.**

A 1-2 g de muestra agregar solución etanólica de vainillina al 1 % más 1 gota de HCl  
(c). Es positivo formación de coloraciones diferentes

#### ***I.-PRUEBA DE ROSENHEIM.***

La soluciónclorofórmica de la sustancia se pone en contacto con ácido tricloroacético al 90% en agua. Si hay dienos nucleares reales o potenciales se forma color violeta que cambia a azul después de 20 min.

#### **14.- DETERMINACIÓN DE QUINONAS.**

##### ***a.- PRUEBA DE BORNTTRAGER.***

El material seco y pulverizado se macera en benceno por 24 horas, se separa el extracto del benceno el cual se agita con solución acuosa de NaOH al 5% es positivo coloraciones rosadas o rojas en la capa acuosa.

##### ***MÉTODO ALTERNATIVO***

A mg de extracto agregar 0.5 ml de KOH al 5 % luego se calienta y se filtra si es necesario, enfriar y acidular, luego se separa con benceno. A la fase de benceno separada se agrega 0.5 ml de hidróxido de amonio. Es positivo si da coloraciones rojas en la fase de amoniaco (naftoquinonas y antroquinonas)

##### ***b.- MICRO SUBLIMACIÓN.***

Colocar en una luna de reloj 0.5 gr de hojas secas pulverizadas, tapar con otra luna de reloj y someter a calentamiento hasta obtener micro cristales, se identifica los glicósidos con gotas de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Es positivo coloración rojo intenso.

##### ***c.- PRUEBA DEL AMONIACO ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ).***

A 0.5 gr de muestra, adicionar 5 ml de etanol, calentar, filtrar y agregar gotas de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Es positiva coloración rojo-parduzca.

##### ***d.- PRUEBA DEL ACETATO DE MAGNESIO.***

Al extracto agregar 1ml de la solución de acetato de magnesio al 0.5% en metanol. Es positivo coloración roja (Para antraquinonas libres).

##### ***e.- PRUEBA DEL HIDRÓXIDO DE POTASIO (KOH).***



Se mezclan 0.5 gr del polvo con 10 ml de solución alcohólica de KOH (1:10), hervir 2 minutos, diluir en 10 ml de agua y filtrar, el filtrado se acidula con HCl y se agita con éter. La capa etérea se descarta y se agita con 5 ml de solución diluida de  $\text{NH}_4\text{OH}$ . Es positivo coloración es rosa-rojizo o rosa-azulado.

**f.- PRUEBA DEL ÁCIDO SULFÚRICO.**

A 0.5 ml de muestra agregar ácido sulfúrico. Es positivo coloración amarilla-rojiza.

**g.- PRUEBA DEL ÁCIDO NÍTRICO.**

A 0.5 ml de muestra agregar ácido nítrico. Es positivo coloración amarilla verdosa

**h. -PRUEBA DEL ÁCIDO CLORHÍDRICO.**

A 0.5 ml de muestra agregar ácido clorhídrico. Es positivo coloración amarilla.

**i.- PRUEBA DEL HIDRÓXIDO DE SODIO (NAOH).**

A 0.5 ml de muestra agregar hidróxido de sodio. Es positivo coloración amarilla intensa.

**15.- DETERMINACIÓN DE GOMAS.**

**a.- PRUEBA DEL ACETATO BÁSICO DE PLOMO.**

A 0.5ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de acetato básico de Plomo. Es positivo coloraciones rosadas o rojo púrpuras.

**16.- DETERMINACIÓN DE MUCILAGOS**

**a.- PRUEBA DEL ACETATO NEUTRO DE PLOMO.**

A 0.5ml de extracto agregar 2 a 3 gotas de acetato neutro de Plomo. Es positivo coloraciones rosadas o rojo púrpuras.

**16.- DETERMINACIÓN DE RESINAS**

**a.- PRUEBA DE BARFOEF**

A 0.5ml de extracto agregar de 2 a 3 gotas de Reactivo de Barfoef. Es positivo coloración verde esmeralda.

**b.- PRUEBA DEL AGUA**

A 0.5 ml de extracto agregar 5 veces su volumen de agua. Es positiva la formación de una turbidez blanquecina o lechosa.

**c.- PRUEBA DE MURAWSKY:**

Disolver 1mg de resina en éter o cloroformo y añadir en un tubo de ensayo partes iguales ácido sulfúrico (c) y anhídrido acético. Es positivo coloración violeta.

**d.- PRUEBA DE HOLDEN:**

Colocar 1 ml de solución etérea en una cápsula de porcelana, agregar 3 gotas de  $H_2SO_4$  (c). Es positivo coloración roja.

**17.- DETERMINACIÓN DE LIGNANOS.**

**a.- PRUEBA DEL CLORURO FÉRRICO.**

Es una prueba general para hidroxilos fenólicos, se agrega solución de cloruro férrico en etanol a la muestra. Es positivo cambio de coloración.

**b.-PRUEBA DEL ACIDO SULFÚRICO Y CROMOTRÓPICO.**

Se agrega a la muestra ácido sulfúrico y ácido cromotrópico. Es positivo cuando forman colores rojos con el grupo metilendioxi.

**c.-PRUEBA DEL ÁCIDO SULFÚRICO CONCENTRADO.**

Es una prueba que sirve para localizar el anillo aromático. Agregar a la muestra gotas de ácido sulfúrico concentrado. Es positiva la formación de una coloración.

(Domínguez 1973, Bruneton 1993, Lock de Ugaz 1994, Gibaja 1998.)

**ANEXO 14: RESULTADOS DEL ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO EMITIDOS POR EL MÉDICO ANÁTOMO PATÓLOGO**

**RESULTADOS DE LECTURA TESIS RIÑÓN**

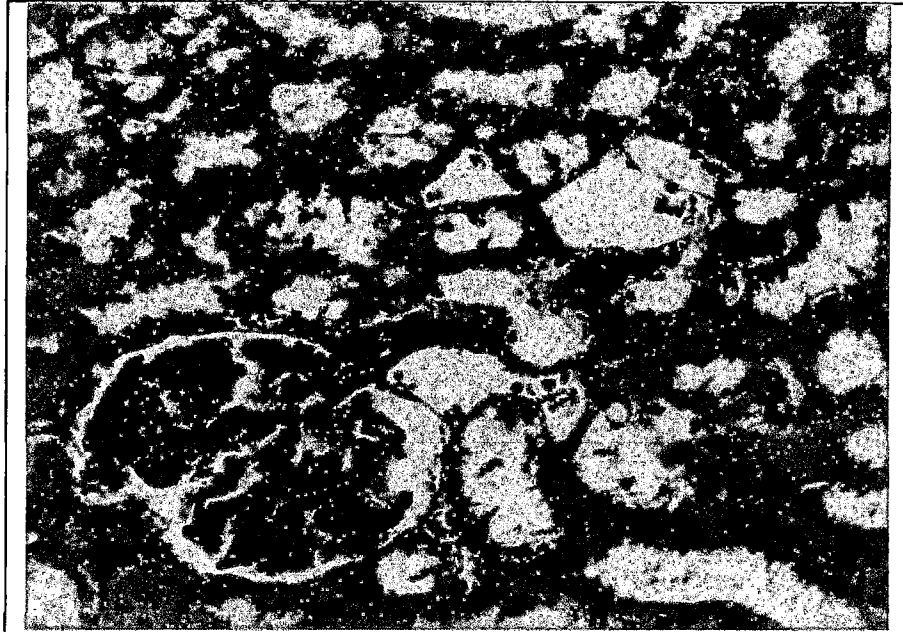
	HEMATOXILINA - EOSINA		
	LAMINAS	morfología	
T(-)	5	conservada	congestión leve
T(+)	9	alterada	hemorragia tubular

dosis	PIZOLATO	
	LAMINAS	microlitias
T(-)	5	ausente
T(+)	9	presente
Mikania 300 mg/14d	14	+++
Mikania 500 mg/14d	24	+
Mikania 300 mg/21d	30	+
Mikania 500 mg/21d	39	-

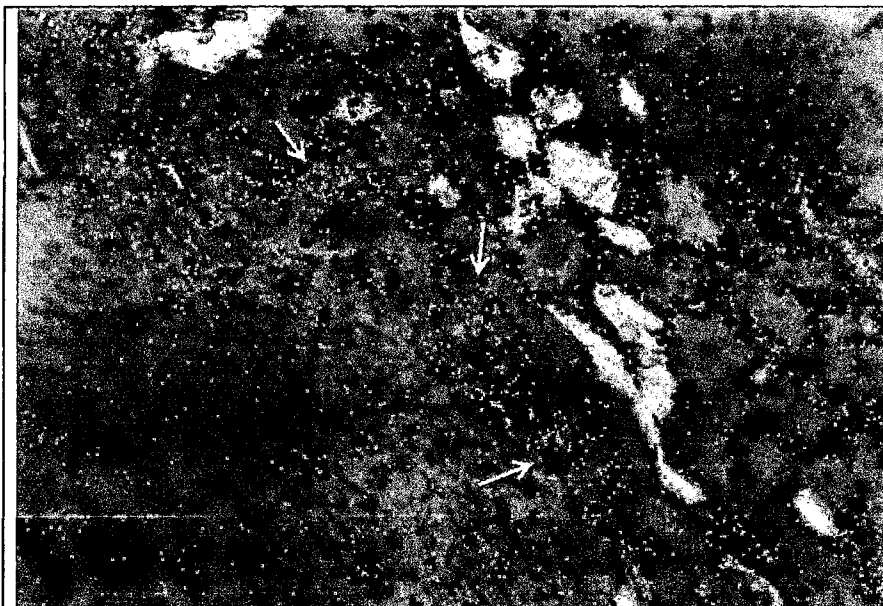
Cusco, 24 de mayo del 2013

*[Firma]*  
 Valmir Flores  
 Médico Anatómopatólogo  
 C.O.P. 1000

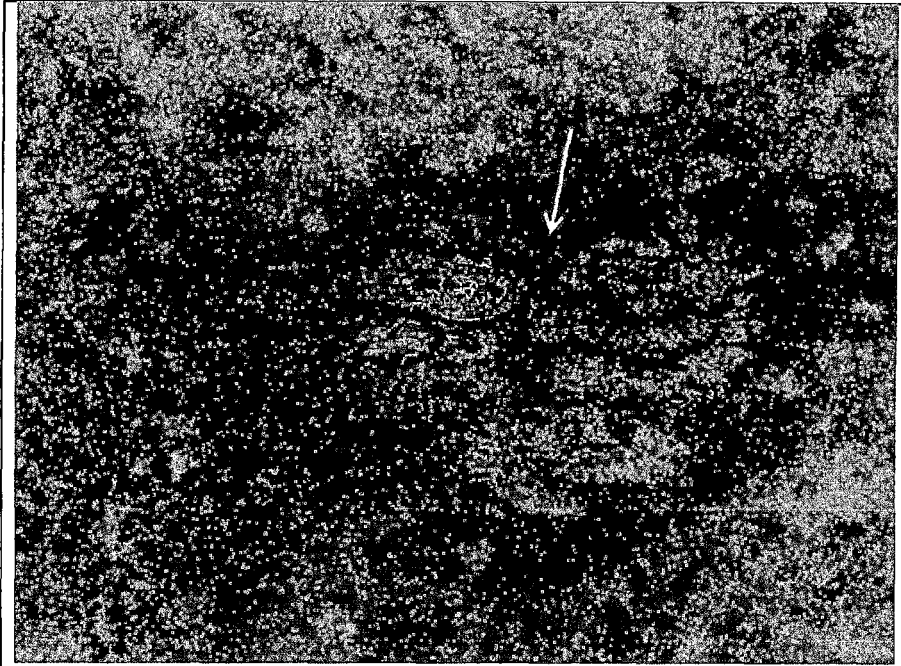
## ANEXO 15: FOTOS DEL ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO



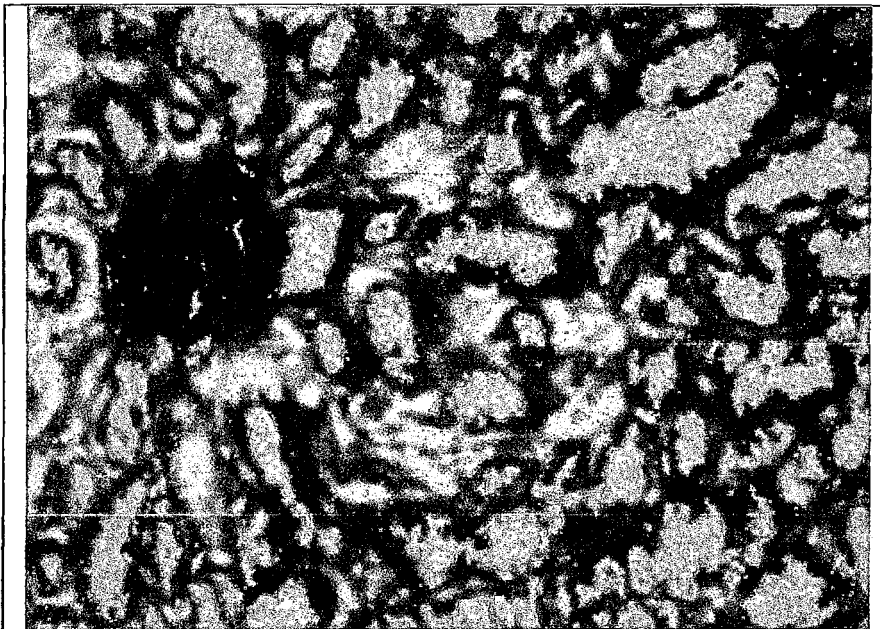
**Figura N° 16:** Microfotografía de la tinción hematoxilina-eosina del grupo testigo negativo, donde se puede observar una morfología celular conservada, con células bien delimitadas en donde se pueden diferenciar las fracciones de la nefrona, las cuales poseen una organización celular íntegra y continua.



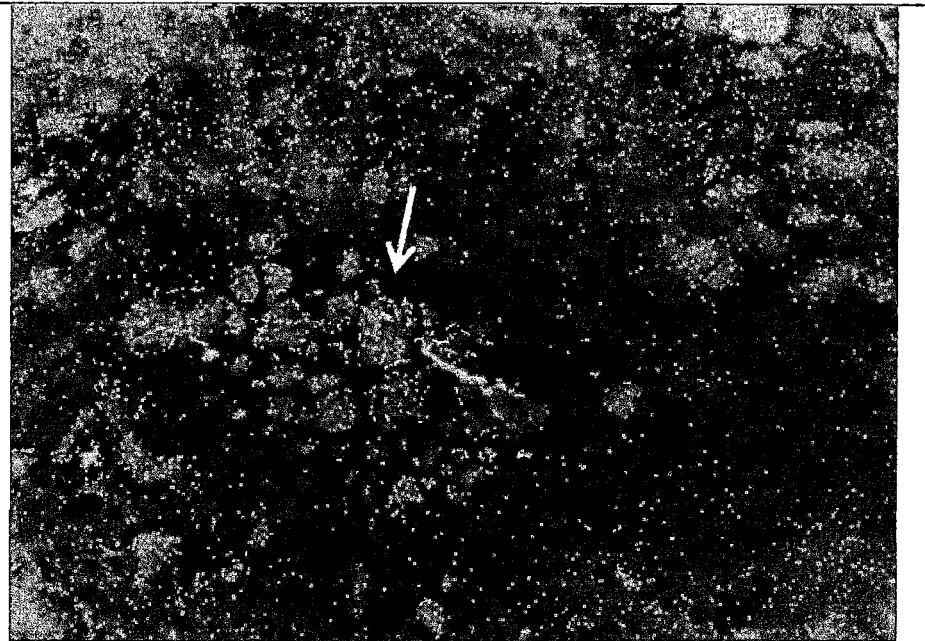
**Figura N° 17:** Microfotografía de la tinción hematoxilina eosina del grupo testigo positivo, donde se observa la presencia de secreciones celulares abundantes, eritrocitos (flechas amarillas) en la mayoría de las porciones del tejido renal, existe una evidente discontinuidad celular con pérdida de la morfología celular.



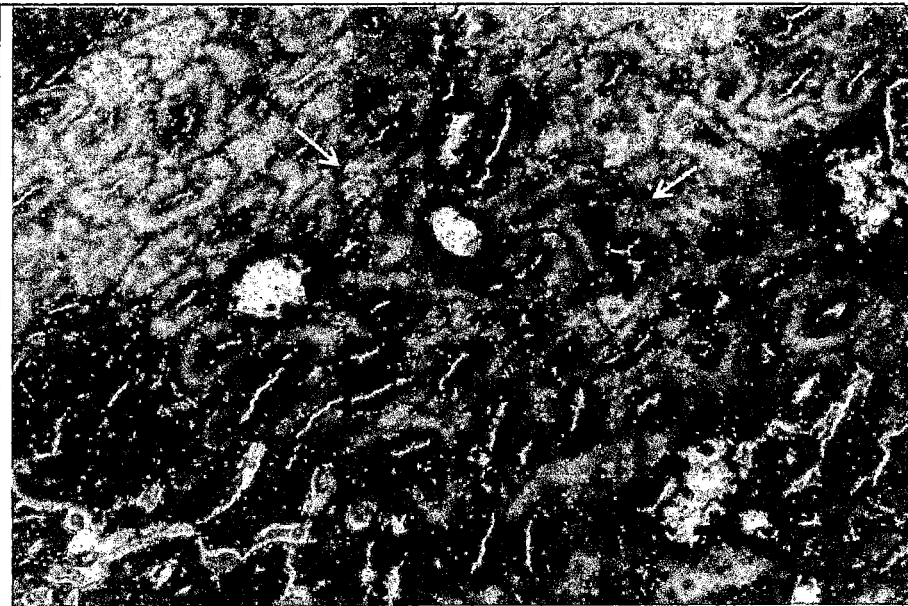
**Figura N° 18:** Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo testigo positivo, donde se observa la presencia abundante de microcristales en el lumen de los tubulos renales (flecha amarilla).



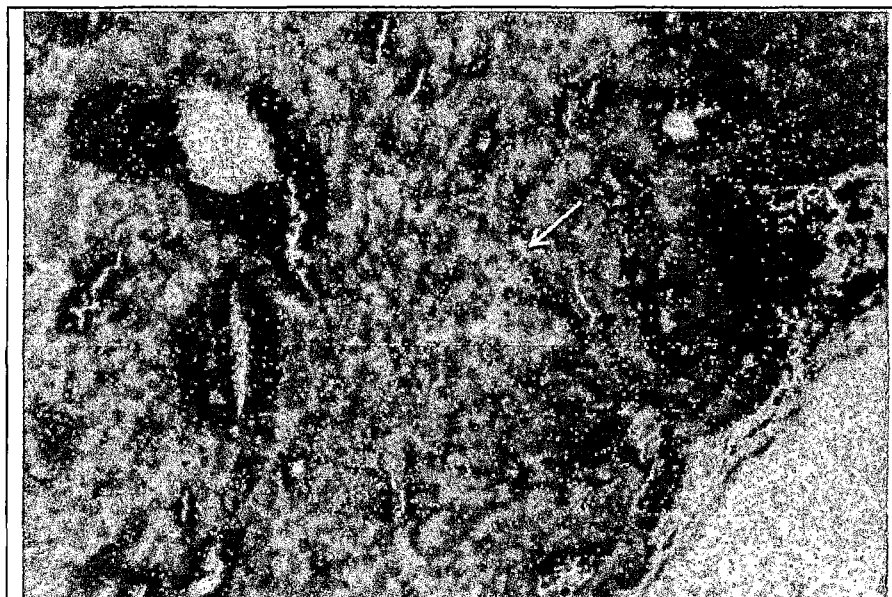
**Figura N° 19:** Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo testigo negativo, en esta fotografía se evidencia la ausencia de microcristales en el tejido renal.



**Figura N° 20:** Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo que recibió tratamiento con el extracto de *M. cordifolia* a la dosis de 300 mg/kg de peso durante 14 días, donde se observa la presencia abundante de microcristales en el lumen de los tubulos renales (flecha amarilla).



**Figura N° 21:** Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo que recibió tratamiento con el extracto de *M. cordifolia* a la dosis de 500 mg/kg de peso durante 14 días, donde se observa la presencia mínima de microcristales en el lumen de los tubulos renales (flechas amarillas).



**Figura N° 22:** Microfotografía de la tinción Pizzolato del grupo que recibió tratamiento con el extracto de *M. cordifolia* a la dosis de 300 mg/kg de peso durante 21 días, donde se observa la presencia mínima de microcristales en el lumen de los tubulos renales (flecha amarilla).

## ANEXO 16: RESUMEN FOTOGRÁFICO

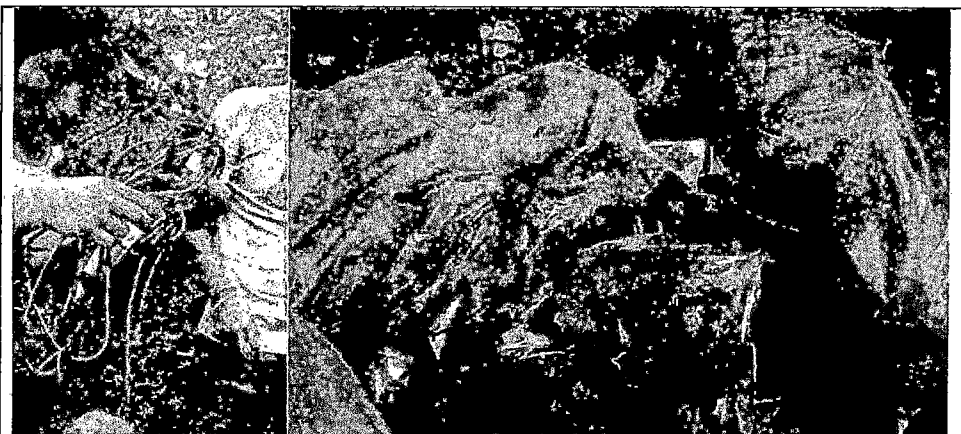


FOTO 01: A la izquierda se observa la recolección de los tallos de *M. cordifolia* (L.F.) Willdenow. en la comunidad de Wayanay – Quillabamba.

FOTO 02: A la derecha se observa los tallos recolectados en bolsas de polietileno.

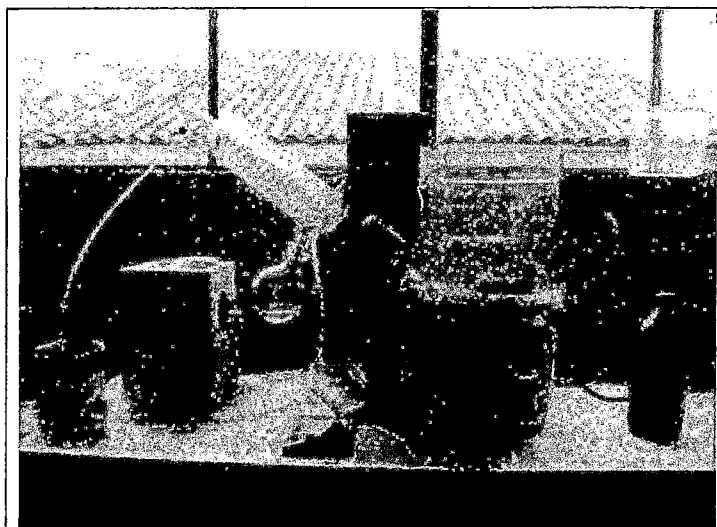
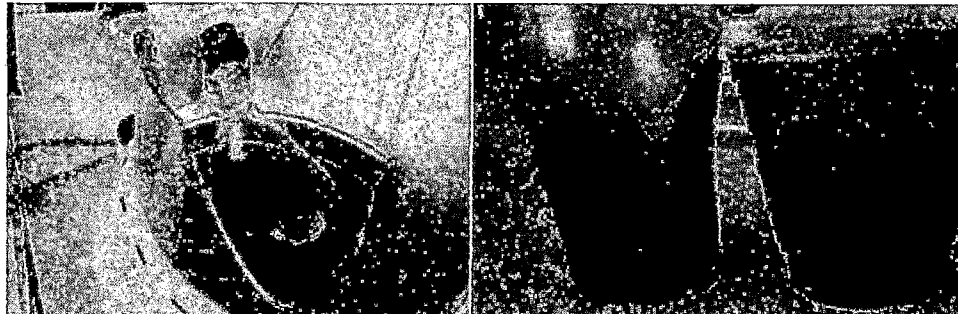


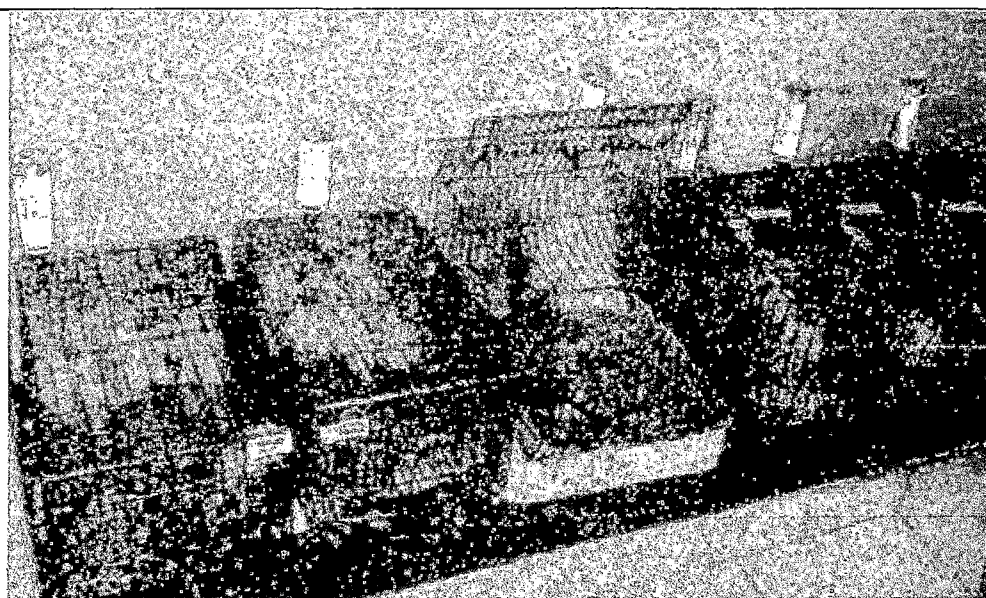
FOTO 03: Vista frontal del equipo de rotavaporación concentrando el extracto de *Mikania cordifolia* (L.F.) Willdenow.





**FOTO 04:** A la izquierda se observa la vista central del extracto de *Mikania cordifolia*(L.F.) Willdenow dentro del equipo de rotavaporación

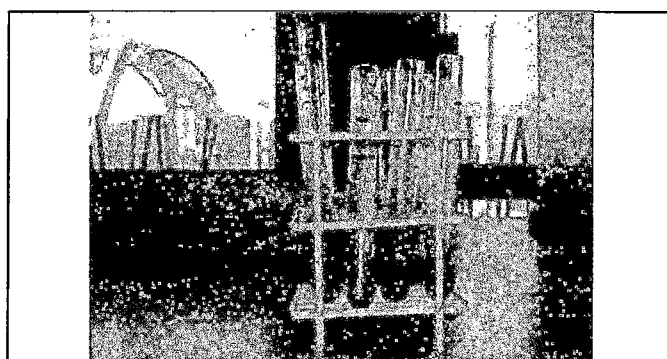
**FOTO 05:** A la derecha se observa el extracto hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.F.) Willdenow. concentrado después de ser sometido al equipo de rotavaporación.



**FOTO 06:** Administración de solución de etilenglicol 0.75% y cloruro de amonio 0.5% para la inducción de litiasis oxalocálcica; en la fotografía se observa a los animales de experimentación distribuidos en 6 grupos de 7 animales cada uno, a los cuales se les administró el agente inductor de litiasis en el agua de diario.



**FOTO 07:** Administración de la solución del extracto hidroalcohólico de *Mikania cordifolia* (L.F.) Willdenow. por vía oral a los animales de experimentación.



**FOTO 08:** Muestras de orina recolectadas en un transcurso de 6 horas.

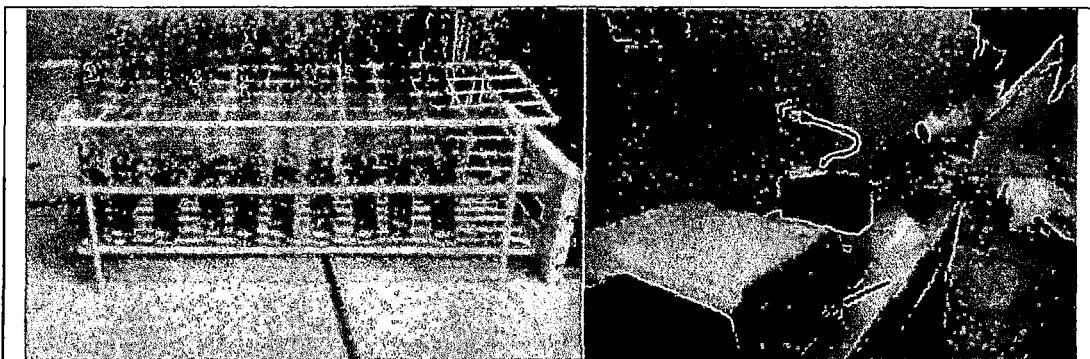


**FOTO 09:** A la izquierda se observa la toma de muestras de sangre por punción cardiaca.

**FOTO 10:** A la derecha se observan las muestras de sangre de los animales de experimentación, para la obtención de suero por centrifugación.



**FOTO 11:** Muestra de tejido renal, obtenida de los animales de experimentación; para el análisis histopatológico.

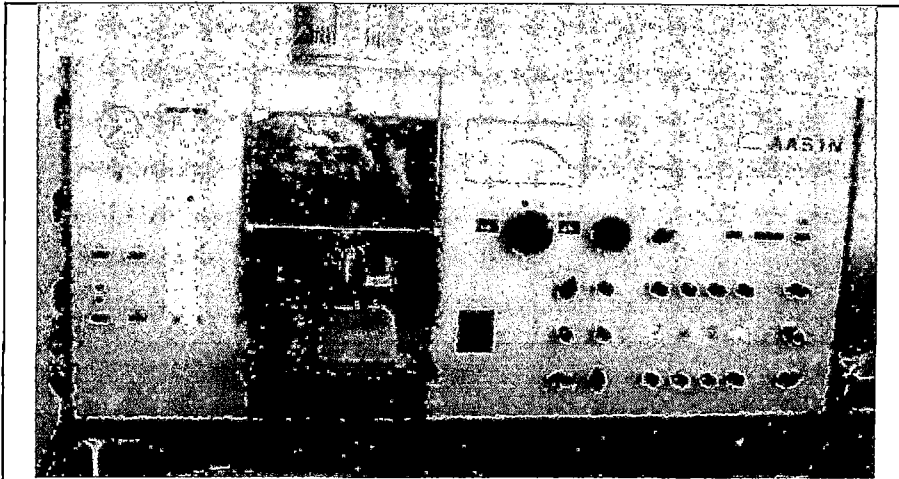


**FOTO 12:** A la izquierda se observan las muestras de suero y orina procesadas con el kit de creatinina de Wiener.

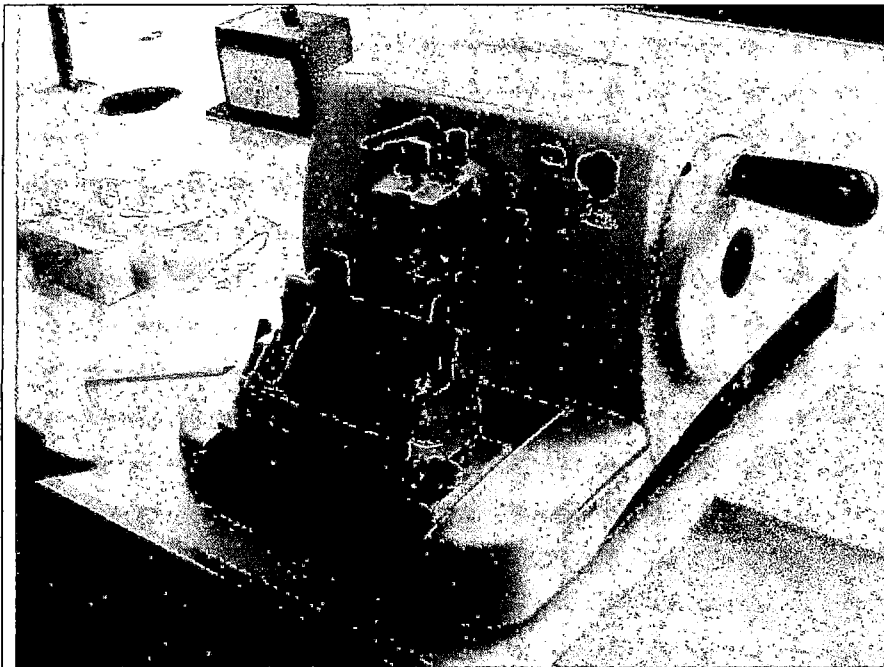
**FOTO 13:** A la derecha se observa la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro UV (JASCO DB 2200) para la determinación de creatinina.



**FOTO 14:** Procesado de las muestras de orina para la determinación de ácido oxálico por métodos volumétricos.



**FOTO 15:** Espectrofotómetro de llama (CARLZEISS JENA MODELO AAS1N), utilizado para la determinación de sodio y potasio en orina.



**FOTO 16:** Micrótopo (LEICA RM2125 RTS) utilizado para realizar los cortes histológicos (3 $\mu$ m) del tejido renal, para sus posteriores tinciones Hematoxilina-eosina y Pizzolato