

EFFECTO DIURÉTICO DE LAS HOJAS DE MAYTENUS MACROCARPA “CHUCHUHUASI” EN RATAS ALBINAS

Bastidas Garcia Fanny ^{1,2,a} Huaccho Rojas Juan Jesús ^{1,2,a} Chambi Torres Javier ^{1,2,a} Padilla Alexander Antonio ^{1,2,a} Aguirre Tipisman Luis ^{1,2,a} Salazar Granara Alberto ^{1,b}
 Castañeda Castañeda Benjamín ^{1,b}

¹ Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Martín de Porres, sede Lima, Perú

² Sociedad Científica de Estudiantes Medicina de la Universidad San Martín de Porres

^a Estudiante de Medicina

^b Médico cirujano

CIMEL 2016; 21(1)14-18

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la actividad diurética del extracto acuoso obtenido a partir de las hojas del *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” en ratas albinas.

Material y Métodos: Se utilizaron 68 ratas albinas machos, con pesos medios de 250 g, se empleó el Método de Lipschitz, donde se registró el volumen de orina por hora y total a la sexta hora. Los grupos experimentales fueron: Control (suero fisiológico al 0.9%), chuchuhuasi 1 (250mg/kg), chuchuhuasi 2 (500mg/kg), chuchuhuasi 3 (750mg/kg), hojas de chuchuhuasi 4 (1000mg/kg), furosemida 1 (10mg/kg) y furosemida 2 (20mg/kg). Para la validación estadística se usó la prueba de Shapiro-Wilk, Tukey y Dunns.

Resultados: El mayor volumen total obtenido durante las primeras 24 horas fue de 5,17ml para chuchuhuasi de 1000 mg/kg, llegando a tener inclusive mayor valor que la furosemida de 20 mg/kg. Por otro lado el grupo de chuchuhuasi de 250 mg/kg (2.32) obtuvo menor acción diurética que el grupo control (2.55 ml). El test de Tukey no indicó diferencias significativas. Sin embargo, en el análisis bioquímico el test de Xi cuadrado tuvo un $p < 0.05$ para el PH.

Conclusión: Se demuestra una respuesta diurética positiva en todos los niveles de dosis ensayadas del extracto etanólico de *Maytenus macrocarpa*: 250, 500, 750 y un mayor efecto 1000 mg/kg de peso, al compararlos con el grupo control y la Furosemida.

Palabras Clave: Diuresis, Furosemida, Medicina Tradicional, Etnofarmacología.

DIURETIC EFFECT FROM THE LEAVES OF MAYTENUS MACROCARPA “CHUCHUHUASI” IN ALBINE RATS

ABSTRACT

Objective: To evaluate the diuretic activity of the aqueous extract obtained from the leaves of *Maytenus macrocarpa* “Chuchuhuasi” in albino rats.

Material and Methods: 68 male albino rats were used, with average weight of 250 g. The Lipschitz method was used, recording the urine volume per hour and the total volume at the sixth hour. The experimental groups were: control (saline 0.9%), chuchuhuasi 1 (250 mg / kg), chuchuhuasi 2 (500 mg / kg), chuchuhuasi 3 (750 mg / kg), chuchuhuasi leaves 4 (1000 mg / kg), furosemide 1 (10mg / kg) and furosemide 2 (20mg / kg). For statistical validation Shapiro-Wilk, Turkey and Dunns tests were used.

Results: The largest total volume obtained during the first 24 hours was from the chuchuhuasi 1000 mg / kg group with 5,17 ml. This was an even greater result than the one obtained with furosemide 20 mg/kg. On the other hand, chuchuhuasi 250 mg/kg group (2.32 ml) achieved less diuretic action than the control group (2,55 ml). Tukey's test indicated no significant difference. Nevertheless, the Xi squared test's results from the biochemical analysis got a $p < 0.05$ for pH.

Conclusion: A positive diuretic response it's demonstrated in all dose levels tested using ethanolic extract of *Maytenus macrocarpa*: 250mg/kg, 500mg/kg, 750mg/kg and a greater effect of 1000 mg/kg compared with the control group and furosemide.

Keywords: Diuresis, Furosemide, Traditional Medicine, Ethnopharmacology.

INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), se calcula que las dos terceras partes de la población mundial (4000 millones de personas), recurren al uso de plantas con fines medicinales ^{1,2}

El Chuchuhuasi, cuyo nombre científico es *Maytenus macrocarpa* según Briquet, es un árbol grande que crece en todo el Perú, especialmente en la Amazonía, presenta características botánicas particulares como por ejemplo: ramas verticiladas, hojas enteras, coriáceas, semillas oblongas con arilo blanco, etc. ³

Las plantas que pertenecen al género *Maytenus* (Celastraceae)

son usadas en la medicina popular por sus múltiples acciones terapéuticas, algunos de estos efectos ya son conocidos, pero hay muchos otros que se desconocen aún y que pueden originar reacciones adversas, intoxicación e incluso la muerte. Es conocido el uso del Chuchuhuasi para gran variedad de enfermedades, entre ellas: el reumatismo, artritis, lumbago, resfríos, bronquitis, diarreas, hemorroides, esterilidad y otros, siendo su uso más común en el alivio de trastornos gástricos ^{4,5}. Se hicieron estudios para hallar los componentes fotiquímicos de la planta y se encontraron dos eterpenoides, glucósidos flavonoides ⁶ saponinas, esteroides, derivados fenólicos, vitaminas, almidones, fenoldienonas y maytenina, proantocianidinadiméricas y triterpenofriedelina ⁷, a su vez se demostró la actividad antioxidante y analgésica de la planta ⁸⁻¹⁰. Estos

antecedentes nos demuestran la actividad polifarmacológica del chuchuhuasi.

Aunque *Maytenus macrocarpa* se utiliza en la medicina popular como un diurético, ningún estudio se ha llevado a cabo hasta la fecha para evaluar esta afirmación etnofarmacológica. Es por ello que nuestro objetivo de trabajo fue evaluarlo en la actividad diurética del extracto acuoso obtenido a partir de las hojas del *Maytenus macrocarpa* "Chuchuhuasi" en ratas albinas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del estudio: Se realizó un estudio cuasi-experimental preclínico, prospectivo longitudinal y a doble ciegas durante los meses de marzo hasta octubre del 2014.

Muestras:

- **Muestra vegetal:** se utilizaron hojas de *Maytenus macrocarpa* recolectadas en Pucallpa (Ucayali-Perú). La certificación taxonómica se hizo bajo los criterios de Cerrate, E.1969. El extracto etanólico se extrajo de las hojas secas y luego molidas de *Maytenus macrocarpa*.iendo macerado en etanol al 70% durante una semana, luego la mezcla se filtró y el residuo que se obtuvo fue secado en una estufa por 48 horas. La muestra obtenida fue molida en un mortero hasta obtener un polvo muy fino que se almacenó en envases herméticos y refrigerados hasta su próximo uso.

- **Muestra animal:** se utilizaron 68 ratas albinas machos *Rattus norvegicus*, cuyos pesos oscilaban entre 200 y 300 gramos, procedentes del bioterio del Instituto Nacional de Salud. Los animales fueron utilizados mediante los códigos éticos de International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animal (1985)

- **Muestra química:** Furosemida en ampollas, lote 071011, registro sanitario (RS) GBE 10008-03-07 (vence 08/14).

- **Medición de la diuresis:** Los animales fueron mantenidos durante 3 días en adaptación a las condiciones experimentales con una temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, humedad relativa de $60 \pm 5\%$ y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas.

Fueron alojados en jaulas de aluminio con rejilla metálica a razón de 3 animales por jaula. Siendo privados de alimentación y agua potable 24 horas antes de iniciar el experimento y de agua potable una hora antes. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas y se procedió al registro del volumen de orina excretada a la 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 24 horas post administración utilizando 2 micropipeta de 5 y 10 ml, dependiendo del volumen de orina a medir.

Análisis bioquímico: El examen bioquímico fue realizado después de haberse obtenido una cantidad de orina mayor a 0,5 ml (volumen mínimo requerido para el examen bioquí-

mico) de cada rata, para ello se utilizaron tiras reactivas de orina, para así analizar los valores de bilirrubina, urobilinógeno, cetonas, glucosa, proteína, sangre, nitrito, pH, densidad y leucocitos en las muestras de orina.

Los grupos:

Grupo 1: Control

Grupo 2: Furosemida de 10 mg/kg¹¹

Grupo 3: Furosemida de 20 mg/kg¹²

Grupo 4: Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) de 250 mg/kg

Grupo 5: Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) de 500 mg/kg

Grupo 6: Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) de 750 mg/kg

Grupo 7: Chuchuhuasi (*Maytenus macrocarpa*) de 1000 mg/kg

Análisis estadístico: Se elaboró una base de datos en el programa Microsoft Excel con los volúmenes de orina medidos y con los datos obtenidos del análisis bioquímico.

Para el análisis, los datos fueron ingresados al paquete estadístico GraphPrism 5.0 y SPSS V.19.0. Las variables cuantitativas fueron expresadas en base a su media y desviación estándar, esto con el fin de poder observar la variación de volúmenes según la hora de medida. Adicionalmente, para el análisis de varianza y de correlación se tomaron solo los volúmenes de orina obtenidas a las 24 horas post administración, realizando el test de ShapiroWilk para conocer si se encontraban los resultados en distribución gaussiana, para luego hacer una comparación de medias según el test que corresponda.

Para obtener los resultados del examen bioquímico se realizó un análisis cualitativo mediante tablas de contingencia, realizando el test de Xi cuadrado en cada combinación posible pareada.

Aspectos Éticos: El presente trabajo de investigación fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad de San Martín de Porres, previa evaluación por el Centro de Investigación de Medicina Tradicional y Farmacológica de la Universidad de San Martín de Porres, cuyos representantes realizaron un seguimiento constante del proceso de investigación.

RESULTADOS

Análisis Cuantitativo

El mayor volumen total obtenido durante las primeras 24 horas fue de 5,17ml para Chuchuhuasi de 1000 mg/kg, llegando a tener inclusive mayor valor que la furosemida de 20 mg/kg. Por otro lado el grupo de Chuchuhuasi de 250 mg/kg (2.32) resulto obteniendo menor acción diurética que el grupo con-

trol (2.55 ml), como se observa en la Tabla N°1. La prueba de Shapiro-Wilk demostró una distribución no Gaussiana, donde el análisis cuantitativo no obtuvo diferencias estadísticas por la prueba de Dunns, resultado que se comprobó realizando el test de Tuckey asumiendo una distri-

Tabla N°1.- Comparación de las medias de los volúmenes de orina a las 24 horas

Grupos	Solución	Min.	Max.	Media	DS
G1	Control	0.5	5.8	2.5	2.0
G2	Furosemida 10 mg/kg	1.1	5.7	2.8	1.5
G3	Furosemida 20 mg/kg	1.3	10	4.2	3.2
G4	Chuchuhuasi 250 mg/kg	0.2	8	2.3	2.8
G5	Chuchuhuasi 500 mg/kg	0.5	9.4	3.7	3.4
G6	Chuchuhuasi 750 mg/kg	1.1	5.6	2.9	1.8
G7	Chuchuhuasi 1000 mg/kg	2	7	5.1	2.0

* La prueba de Shapiro Wilk demostró una distribución no Gaussiana

** La prueba de Tuckey no mostró diferencia estadística en ni una relación

bución Gaussiana. Sin embargo, en la gráfica N°1 se pueden observar algunas diferencias entre los progresos de volumen de orina en las 24 horas.

Análisis Cualitativo

La prueba de Chi cuadrado mediante tabla de en los resultados bioquímicos nos dio un valor $p < 0.05$ para el pH entre el grupo control y el grupo Chuchuhuasi de 750 mg/Kg ($p=0.036$) y entre el grupo de furosemida 20 mg/kg y Chuchuhuasi 750 mg/kg ($p=0.027$). También se obtuvo, mediante la misma prueba, un valor $p < 0.05$ para los leucocitos entre los grupos: furosemida 10 mg/kg y Chuchuhuasi de 250 mg /kg ($p=0.036$), furosemida 10 mg/kg y Chuchuhuasi 500 mg/kg ($p=0,030$), furosemida 10 mg/kg y chuchuhuasi 1000 mg/kg ($p=0.009$).

DISCUSIÓN

En el presente estudio se evidenció un efecto diurético de dosis respuesta entre la furosemida de 10 y 20 mg/kg como también

una acción diurética superior a la obtenida en el grupo control, el cual recibió únicamente solución salina (ClNa0.9%). Estos resultados le otorgan validez a la metodología usada como también a nuestros resultados, pues demuestra condiciones fisiológicas normales en los animales estudiados.

Entre los resultados de *Maytenus macrocarpa*, la dosis de 1000 mg/kg produjo mayor diuresis a las 24 horas que la obtenida con las dosis de 250mg/kg, 500mg/kg e incluso la de 750mg/kg, lo cual nos da el esbozo de un posible rango de respuesta pico. Debemos resaltar que el efecto de esta dosis sobrepasó también al dado por Furosemida 10 mg/kg y Furosemida 20 mg/kg en las 24 horas. La Furosemida tiene un tiempo de vida media de 30 minutos, una duración de efecto de 8 horas dependiendo de la dosis y biodisponibilidad del 50%⁵. Un efecto parecido tuvo *Xanthiumstru marium L.* a dosis de 400 mg/kg con relación a la Furosemida a dosis de 5 mg/kg, el cual logró un efecto diurético superior al del fármaco desde la 1ra hora de aplicación¹³. A diferencia de *C. alata* y *P.americana*, las cuales lograron igualar el poder diurético de la Furosemida a las 5 horas de aplicadas¹⁴. Otro estudio concluye que *Maytenus krukovii* también a la dosis de 1000 mg/kg posee una actividad hipotensora, dando ya indicios de un posible efecto diurético de esta planta, la cual pertenece al mismo género de la que estudiamos en este trabajo.¹⁵ Podemos observar que la dosis de 1000 mg/kg de *Maytenus macrocarpa* tiene una actividad diurética a largo plazo, similar a la Furosemida lo cual nos podría indicar un mecanismo de acción también similar. El principal mecanismo de acción de la Furosemida es el bloqueo de la bomba de co-transporte de $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ en la rama gruesa ascendente del asa de Henle, lo cual altera el flujo de iones y agua a través de las membranas de las células que se encuentran bajo su acción, aumentando así la excreción de sodio, potasio y cloruro, generando concomitantemente la excreción de agua y por ende su efecto diurético. Adicionalmente existe un cambio en el potencial eléctrico de la célula, que altera la dinámica del transporte de Ca^{2+} y Mg^{2+} ⁸, también se ha planteado la inhibición del cotransporte $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ o de la anhidrasa carbónica, a nivel de células epiteliales, inflamatorias o vías neurológicas colinérgicas⁹. La Furosemida es un bloqueador no competitivo subtipo específico de los receptores GABA-A que sufre glucuronidación y antagoniza reversiblemente corrientes evocadas de GABA-a62.¹⁶ Se considera que los principales metabolitos activos de las plantas medicinales que pueden tener efecto diurético pueden ser: aceite esencial, saponosido, sales de potasio y flavonoides, este último se encontró presente en el *Maytenus macrocarpa* en estudios previos. Su principal lugar de acción es el glomérulo, más que el túbulo. Esto ocasiona un aumento de la circulación renal y una tasa incrementada de filtración glomerular

y formación de orina primaria. Asimismo se considera que los heterosidos cardiotónicos estarían involucrados en la actividad diurética.¹⁻⁹

Con respecto al análisis bioquímico la diferencia significativa del pH, nos indica un efecto de acidificación sobre la orina, esto se explica debido a que la furosemida ejercería un efecto inhibitorio sobre el cotransportador Na-K-2Cl de la rama ascendente gruesa del asa de Henle, y también favorecería, a nivel del túbulo colector cortical, la secreción de H⁺ y K⁺, al generar una elevada electronegatividad luminal,^{17,18} Las medias obtenidas por los grupos administrados con Chuchuhuasi a dosis de 250, 500, 750 y 1000 mg/kg también nos indica un efecto de acidificación urinaria. El mecanismo de dicho efecto podría estar relacionado a la propiedad inhibitoria de *Maytenus macrocarpa* sobre las prostaglandinas¹⁹, ya que a nivel renal se han descrito diversos receptores de este²⁰. Sin embargo hasta la actualidad no existen estudios directos que demuestren el efecto de *Maytenus macrocarpa* sobre el pH urinario. Recomendamos que esta evidencia científica se tome en cuenta y se aplique en la praxis médica, dado que un segmento importante de la población consume fitofármacos con la creencia común que no presentan efectos adversos ni interacciones medicamentosas exponiéndose, por ejemplo, a insuficiencia renal e hipotensión debido a la depleción de sodio⁷ y la consecuente hipovolemia, debido a la interacción con IECAS, intoxicación digitalica por interacción con Digoxina; ototoxicidad y nefrotoxicidad por el uso conjunto con Anfotericina B u otros medicamentos otológicos, cuyo efecto se vería potenciado; entre otros.^{21,22}

Sobre la base de los resultados se recomienda continuar con la investigación preclínica de esta planta y se requieren más estudios con el objetivo de determinar los mecanismos de acción, la interacción de la planta con medicamentos de uso frecuente y aislamiento de los principios activos del *Maytenus macrocarpa*.^{13,14} Al finalizar la investigación podemos concluir que el efecto diurético del extracto etanólico de *Maytenus macrocarpa* queda presentado en el presente trabajo al existir una respuesta diurética positiva en todos los niveles de dosis ensayadas: 250, 500, 750 y 1000 mg/kg de peso, al compararlos con el grupo control y la Furosemida.

Correspondencia:

Fanny Bastidas García
 fannyliiss_1792@hotmail.com

Recibido: 23-08-2015

Aprobado: 05-03-2016

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hurrel J, Bazzano D. et al. *Arbusto I Biota Rioplatense*. 8° edición. Buenos Aires, Argentina; 2003; 68-69
- Morikawa C, Miyaura R, Figueroa M, Rengifo S, et al. Presentación de 170 especies de plantas peruanas para la actividad alelopática mediante el método de Sandwich. *Biología y Manejo de Malezas*, 2012; 12: 1-11
- Gonzales J, Delle G, Delle F, et al. Chuchuhuasi – a drug used in folk medicine in the Amazonian and Andean areas. A chemical study of *Maytenus laevis*. *Journal of Ethnopharmacology* 1982; 5:73 – 77
- Sergio E. Filho V. A Review of the Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of Plants of the *Maytenus* Genus. *Current Pharmaceutical Design*; 2010
- Estrella E. *Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectiva*. Lima, Perú: Tratado de Cooperación Amazónica. Secretaría Pro-Tempore, 1995.
- Kvist L, Oré I, Gonzales A, Llapapasca C. Estudio De Plantas Medicinales en la Amazonía Peruana: Una evaluación de ocho métodos etnobotánicos. *FOLIA AMAZÓNICA* 2010; 12: 53-73.
- Cerón E. *Plantas medicinales de los Andes ecuatorianos. Botánica Económica de los Andes Centrales*. La Paz, Bolivia; 2006: 285-293. (Accessed July 5, 2014 at <http://www.beisa.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdf/Capitulo%2018.pdf>)
- Villegas E, Marino C, Novoa L, Tito A, Rospligiosi R, Sánchez C, Segura J, Lupinta V, Sialer L, Segovia A, García M, Salazar A, Loja B, Alvarado A. Actividad dosis respuesta sobre la motilidad intestinal in vivo e in vitro del extracto de las hojas de *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). Lima, Perú: Catálogo de Investigaciones, Instituto de Investigación, FMH-USMP; 2009
- Salazar A, Alvarado A, Loja B, De la Cruz J, Morales A, Ríos K, Rivera D, Robles V, Rodríguez N, Rubio A, Santa Cruz C, Tarqui L, Velasco G. Evaluación fitoquímica, toxicológica y analgésica de las hojas del *Maytenus macrocarpa* (Chuchuhuasi). Lima, Perú: Catálogo de investigaciones, Instituto de Investigación, FMH-USMP; 2008.
- López P, Otero L, Román V, Sánchez C, Tang S, Valdivia M, Vallejos K, Salazar A, Alvarado A, Loja B. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación de la Dosis Letal Media (LD50) de *Mimosa pudica*, *Calliandra angustifolia* y *Maytenus macrocarpa*. Lima, Perú: Catálogo de Investigaciones, Instituto de Investigación, FMH-USMP; 2009
- Ríos, J. Paris E. Repetto G. *Toxicología alimentaria*; 2012.
- Reyes J, Álvarez E, Domínguez A, Padilla I. et al. *Interacción plantas medicinales y fármacos Barranquilla, Colombia*; 2011.
- Hropot M, Greger R, Gögelein H, Bleich M. Activity on urinary tract, *Drug Discovery and Evaluation. Pharmacological Assays*. Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2011; 323:324.
- Perez M, Sueiro M, Boffill M, Moron F, Marrero E. Validación de un método in vivo para evaluar la actividad diurética. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2011; 30: 332-344.
- Jiménez L, León M, Herrera R, García G, Cadenas J. Efecto diurético del *Xanthium strumarium* L (guizajo de caballo). *Rev Cubana de PlantMed*. 1999; vol 4(1).
- Machín, M et al. Validation of an in vivo method to assess the diuretic activity. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 2011; 30:332-344.
- Salazar A, et al. Efecto sobre la presión arterial y la frecuencia cardiaca del *Maytenus crukovii* (chuchuhuasi) en rata. *Revista Horizonte Médico*. Guía de plantas medicinales CONCYTEC; 2008.

18. López M. et al. Plantas con actividad diurética. 2014. (Accessed July 5, 2014 at http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13761&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=04v20n01a01015pdf001.pdf&ty=81&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es)
19. Weinstein A. et al. A mathematical model of distal nephron acidification: diuretic effects. *Am J Physiol Renal Physiol.* noviembre de 2008;295: 1353-1364.
20. Han S, Kim H, et al. Comparison of the urine acidification tests of torsemidevs furosemide in healthy volunteers. *Nephrol Dial Transplant.* 11 de enero de 2005;20:2582-3.
21. Okuyama E, Shimamura K, Nagamatsu C, Fujimoto H, Ishibashi M, Shirota O, et al. BioactiveComponents of a Peruvian Herbal Medicine, Chucuhuasi (Maytenusamazonica). En: Şener B, editor. Biodiversity [Internet]. Springer US; 2002. (Accessed July 5, 2014 at http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4419-9242-0_10)
22. Breyer M, Breyer R. Prostaglandin E receptors and the kidney. *Am J Physiol - RenPhysiol.* 2010;279:12-23.