

Validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética

Validation of an *in vivo* method to assess the diuretic activity

MSc. Maykel Pérez Machín,^I MSc. Mario L. Sueiro Oyarzun,^{II} Dra. C. María de los Ángeles Boffill Cárdenas,^I Dr. C. Francisco J. Morón Rodríguez,^{III} Dra. C. Evangelina Marrero Faz^{IV}

^I Departamento de Farmacología Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Villa Clara, Cuba.

^{II} Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Villa Clara, Cuba.

^{III} Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Salvador Allende". La Habana, Cuba.

^{IV} Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria. La Habana. Cuba.

RESUMEN

Con el objetivo de proporcionar un modelo farmacológico *in vivo* para determinar la actividad diurética de plantas medicinales, se prepararon extractos acuosos a partir de la droga seca de 8 plantas con actividad diurética atribuida por la medicina tradicional cubana, pero que carecían de validación experimental. Se distribuyeron al azar 88 ratas machos *Sprague-Dawley* a razón de 8 animales por grupo: controles positivos (furosemida 20 mg/kg e hidroclorotiazida 10 mg/kg); control negativo (NaCl 0,9 %) y 8 grupos tratados con extractos acuosos de plantas que se administraron por vía oral a dosis de 400 mg/kg, sobre la base de la determinación de los sólidos totales. La dosis fue completada con solución salina fisiológica para lograr una sobrecarga hidrosalina con un volumen total de administración constante de 40 mL/kg de peso vivo. Las ratas se colocaron en jaulas metabólicas y se midieron los volúmenes de orina excretados a las ½, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h posadministración y las concentraciones de electrolitos (Na⁺ y K⁺) en la orina total colectada a las 24 h. Se observó que todos los grupos tratados incrementaron el volumen de orina en relación con el grupo control negativo. La excreción urinaria, acción y actividad diurética fueron mayores en los grupos experimentales: *Persea americana* Miller (similar a la furosemida) y *Cassia alata* L, *Zanthoxylum fagara* L. (similar a las tiazidas).

Palabras clave: Diuréticos, preclínica, plantas medicinales, ratas.

ABSTRACT

To supply a *in vivo* pharmacological model to determine the diuretic activity of medicinal plants, aqueous extracts were prepared from dry drug of 8 medicinal plants with diuretic activity attributed by the Cuban traditional medicine, but there was an experimental validation. Eighty *Sprague-Dawley* eight male rats were random distributed at a rate of eight rats by group: positive controls (20 mg/kg furosemide and 10 mg/kg hydrochlorothiazide); negative control (NaCl 0.9 %) and 8 groups treated with aqueous extracts from plants supplied by oral route at doses of 400 mg/kg, on the base of determination of total solids. Dose was completed with physiological saline solution to achieve a hydrosaline overload with a total volume of constant administration of 40 mL/kg of weight lives. Rats were placed in metabolic cages measuring the volumes of urine extracted at ½, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 h post-administration and the electrolytes concentrations (Na⁺ and K⁺) in total urine collected at 24 h. It was noted that all the treated groups increased the urine volume in relation to negative control group. Urinary excretion, diuretic action and activity were higher in experimental groups: *Persea Americana* Miller (similar to Furosemide) and *Cassia alata* L, *Zanthoxylum fagara* L. (similar to thiazides).

Key words: Diuretics, preclinical, medicinal plants, rats.

INTRODUCCIÓN

Por definición los diuréticos son fármacos que estimulan la excreción renal de agua y de electrolitos por lo que son utilizados para regular tanto el volumen como la composición del medio interno en diferentes afecciones como la hipertensión, insuficiencia cardiaca, síndromes nefróticos, entre otros. Históricamente, la clasificación de los diuréticos ha sido variada, considerándose en ello: el sitio de acción (diuréticos de asa), eficiencia (diuréticos de techo alto), estructura química (diuréticos tiazida), similitud de acción con otros diuréticos (diuréticos parecidos a tiazidas), efectos sobre la excreción de potasio (diuréticos ahorradores de potasio) y otros.^{1,2}

La actividad diurética puede ser evaluada a través de diferentes métodos que permiten de una forma u otra determinar las potencialidades que tiene una sustancia de estimular la excreción renal de agua y electrólitos. Se reportan métodos *in vitro* como la inhibición de la anhidrasa carbónica, técnicas *patch clamp* en células renales, perfusión de túbulos renales aislados y riñón aislado. Métodos *in vivo* como el de la actividad diurética en rata (Test de Lipschitz), actividad salurética en ratas y actividad diurética y salurética en perros. Dentro de los métodos *in vivo* el Test de Lipschitz se ha considerado como un método estándar y ha sido ampliamente utilizado en el tamizaje de fármacos con potencial actividad diurética. Fue descrito por Lipschitz en 1943 y se basa en la comparación de la excreción de agua y electrólitos en ratas previamente tratadas con la sustancia en estudio y una sustancia de referencia o control positivo.³ Describe la utilización de ratas albinas machos que se colocan en jaulas metabólicas que permiten recolectar la orina excretada, se administra solución de cloruro de sodio 0,9 %, 5 mL por 100 g

de peso vivo, como control negativo y se realizan mediciones de orina que pueden llegar hasta las 24 h.³ Se han propuesto modificaciones al Test de Lipschitz por varios autores, una de las más aceptadas y referidas es la propuesta por Kau en 1984 que propone igualar el nivel de hidratación en los animales administrando una carga hidrosalina correspondiente al 4 % del peso del animal con solución de cloruro de sodio 0,9 %.⁴

Se conocen varios estudios publicados en la literatura de investigadores de diversos países, en el campo de las técnicas diuréticas de farmacología experimental que utilizan ambas líneas de ratas. Se ha descrito un estudio realizado en el Departamento de Biología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias en la Universidad de Zulia, Venezuela, donde se evaluó el efecto diurético a diferentes concentraciones del extracto de la concha del fruto de *Cucumis melo* L. se utilizó el modelo de ratas machos de la línea *Wistar* adultas, con peso ente 180 a 200 g, como control negativo se emuló la solución de cloruro de sodio y como control positivo la acetazolamida.⁵ En el Departamento de Biología del Desarrollo, Instituto Superior de Investigaciones Biológicas (INSIBIO) y Universidad Nacional de Tucumán (UNT), se realizó un estudio experimental en ratas de la línea *Wistar* con el fin de analizar la actividad diurética de los extractos acuosos de hojas y corteza de *Polylepis australis* Bitter (queñoa), administrados por vía oral, quedando demostrado el efecto diurético a las dosis de 200 y 400 mg/kg.⁶ En el Departamento de Botánica de la Universidad de Paranaense de Brasil evaluaron la actividad diurética de la infusión y el extracto hidroalcohólico de *Tropaeolum majus* L., determinando la excreción urinaria, los niveles de electrolitos, urea y creatinina. Como modelo biológico emplearon ratas machos y hembras *Wistar* (180-200 g) y como control negativo solución de cloruro de sodio y furosemida como control positivo.⁷ En investigaciones más recientes se ha evaluado la actividad diurética de *Orthosiphon stamineus* Benth en ratas machos *Sprague-Dawley*, usando furosemida e hidroclorotiazida como controles positivos y agua destilada como control negativo.⁸

En varias universidades de Cuba se ha evaluado la acción diurética de otras plantas con actividad atribuida. Fue estudiada la acción diurética de *Commelina elegans* H.B.K. (canutillo),⁹ *Peperomia pellucida* LH.B.K (corazón de hombre),¹⁰ *Bryophyllum pinnatum* LAM¹¹ y *Tamarindus indica* L. (tamarindo).¹²

La literatura describe disímiles métodos *in vivo* para evaluar la actividad diurética, pero uno de los más utilizados ha sido el anteriormente mencionado que sigue el propósito descrito por Lipschitz y otros (1943), se consideran además las modificaciones propuestas por Kau (1984). Este método se ha empleado en la Unidad de Toxicología Experimental de la Universidad Ciencias Médicas de Villa Clara por más de 10 años con sus adecuaciones. El objetivo del presente trabajo propone validar un modelo *in vivo* para evaluación de la actividad diurética de plantas medicinales, de manera que pueda ser fácilmente reproducible por otros centros de investigación que incursionen en esta acción farmacológica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio preclínico para evaluar la actividad diurética atribuida a 8 plantas medicinales usadas en la medicina tradicional cubana, en la Unidad de Toxicología Experimental (UTEX) de la Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara "Dr. Serafín Ruiz de Zárate Ruiz".

Las plantas objeto de estudio se recolectaron de diferentes localidades de la provincia de Villa Clara y todas fueron identificadas por un especialista del Jardín Botánico de la Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas y depositadas en el herbario de este centro con su correspondiente número de serie.

El material recolectado de cada planta, especificando las partes empleadas en cada caso: hojas (*Cassia alata* L., *Persea americana* Miller, *Costus pictus* D. Don; tallo (*Zanthoxylum fagara* L., *Nectandra coriacea* (Sw.) Griseb.; bulbo (*Allium cepa* L.), jugo (*Citrus aurantium* L.) y raíces (*Urera baccifera* L.), después de verificar en él, la ausencia de materia extraña, fue secado en una estufa a 40°C y reducido a polvo fino mediante un molino (Retsch, tipo SR-2 with a sieve of 2,0 mm). Se elaboraron todos los extractos acuosos al 30 % (30 g de droga seca en 100 mL de agua destilada).

Se utilizaron ratas albinas machos de la línea *Sprague Dawley* (S/D), con un peso comprendido entre 180-220 g. Fueron divididas, aleatoriamente en 11 grupos experimentales con 8 animales cada uno. Todas las administraciones fueron por vía oral usando sonda nasogástrica rígida 16G y recibieron un volumen total de hidratación de 40 mL/kg de peso vivo (p.v).

Grupos control:

- I. Control negativo: cloruro de sodio 0,9 %: se administró 40 mL/kg (p.v)
- II. Control positivo: furosemida 10 mg/mL: se administró 20 mg/kg (p.v)
- III. Control positivo: hidroclorotiazida 5 mg/mL: se administró 10 mg/kg (p.v)

Grupos experimentales: estuvieron constituidos por los extractos acuosos de las 8 plantas estudiadas (*Cassia alata* L., *Persea americana* Miller, *Costus pictus* D. Don, *Zanthoxylum fagara* L., *Nectandra coriacea* (Sw.) Griseb., *Allium cepa* L., *Citrus aurantium* L. y *Urera baccifera* L.

Se consideraron como variables de control el horario de administración del producto, el volumen de administración y la dosis del producto a administrar (400 mg/Kg), la cual fue determinada a partir de los sólidos totales.¹³

Los animales fueron mantenidos durante 7 días en adaptación a las condiciones experimentales con una temperatura de 27 ± 1 °C, humedad relativa de 60 ± 5 % y ciclos de luz/oscuridad de 12 h/12 h. Recibieron alimentación controlada (alimento concentrado EMO 1002 en forma de pellet con su correspondiente Certificado de Calidad emitido por el CENPALAB, y agua potable apta para consumo *ad libitum*).¹⁴ Se alojaron en jaulas de polietileno con rejilla metálica a razón de 8 animales por jaula. Fueron privados de alimentación 18 h antes de iniciar el experimento y de agua potable 1 h antes. Las ratas fueron colocadas en jaulas metabólicas, se registró el volumen de orina excretado a la ½, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 h posadministración conforme a otros estudios.¹⁵⁻¹⁸ Una vez concluido el experimento se procedió a la eutanasia de los animales mediante anestesia con éter.¹⁴

La excreción urinaria, acción y actividad diurética se calcularon según las ecuaciones descritas en la literatura:⁶

Fórmulas para el cálculo de las variables relacionadas con la diuresis:

$$\text{Excreción urinaria} = \frac{\text{Orina producida}}{\text{Solución fisiológica administrada}} \times 100$$

$$\text{Acción diurética} = \frac{\text{Excreción urinaria grupo tratado}}{\text{Excreción urinaria grupo control}}$$

$$\text{Acción diurética (AD)} = \frac{\text{Acción diurética}}{\text{Acción diurética fármaco dependencia}}$$

Escala: Alta: AD $\geq 0,90$, Moderada: AD (0,89 -,0,70), Baja: AD (0,69 -,0,50), Nula: AD < 0,50

A las 6 h se colectó la orina acumulada y se realizaron determinaciones de Na⁺ y K⁺. Las concentraciones de estos iones en orina se midieron mediante un espectrofotómetro de absorción atómica para cada grupo en estudio. El equipo fue calibrado con soluciones estándares que contenían diferentes concentraciones de sodio y potasio. Se estableció una presión de aire de 0,3 Mpa, presión de acetileno de 0,09 Mpa, flujo de aire 7,0 L/min, flujo de acetileno 1,5 L/min, una longitud de onda para el sodio de 589 nm y para el potasio de 766,5 nm.

El procesamiento de los resultados fue realizado utilizando el paquete estadístico SPSS para Windows versión 8.0. Se hallaron las medias y desviaciones estándar de cada uno de los parámetros evaluados en cada grupo experimental, y fueron comparados utilizando las pruebas de *Kruskal Wallis* y *Mann Whitney*.

RESULTADOS

El análisis de los volúmenes de orina excretados (figura), en diferentes momentos del estudio, permite apreciar cómo en los grupos controles positivos (furosemida e hidroclorotiazida) y en los grupos tratados se incrementa en el tiempo la orina excretada, superando la excreción provocada en el grupo control negativo (cloruro de sodio). El mayor volumen de orina excretada, en los intervalos de tiempos evaluados, correspondió al control positivo furosemida.

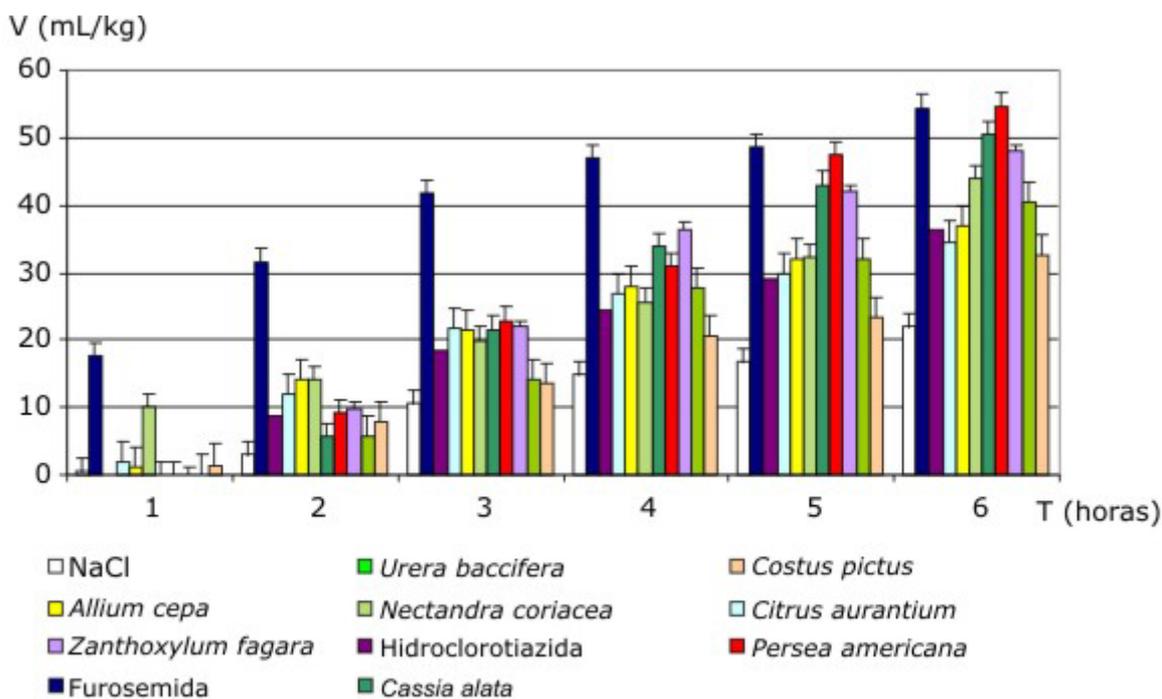


Fig. Volúmenes de orina acumulados a las 6 h (mL/kg).

Al aplicar el *test* no paramétrico de Kruskal-Wallis se pudo conocer que existían diferencias estadísticas significativas ($p < 0,05$) entre todos los grupos analizados (controles furosemida, hidroclorotiazida y extractos). Este análisis sugirió que los extractos evaluados provocaron cambios en los parámetros estudiados. Con la posterior realización de la prueba de M-W se hicieron notables las diferencias entre el grupo furosemida y los extractos evaluados, los cuales difieren de este control, excepto *P. americana* que a las 6 h logra alcanzar el efecto de la furosemida. Por otra parte *C. alata* no supera la excreción urinaria pero muestra valores muy similares a este control ($p > 0,05$). Los volúmenes excretados, en el tiempo, de los restantes grupos experimentales tratados a dosis de 400 mg/kg fueron similares a los volúmenes excretados por el grupo tratado con el control positivo hidroclorotiazida, apreciándose la no existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) cuando se compararon con este control.

En cuanto a la rapidez de aparición del efecto diurético, puede observarse en la figura que las sustancias de ensayo, conjuntamente con los controles comenzaron su actividad diurética de manera muy irregular, a partir de la 3ra. hora es que comienza una cierta estabilización de la excreción urinaria de los extractos evaluados.

El grupo tratado con *U. baccifera* mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) con el control negativo desde la 1ra. hora de administración y se mantuvo de manera estable durante el transcurso de todo el estudio, mientras que en el grupo al que se le administró *A. cepa* se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) con este control a partir de la 3ra. hora en adelante. Con relación a la acción diurética y la excreción urinaria se obtuvieron los mejores resultados para estos indicadores en las especies: *U. baccifera* L, *C. alata* L, *P. americana* Millar y *Z. fagara* L (tabla 1).

Tabla 1. Excreción urinaria y acción diurética de los grupos experimentales a las 6 h de administradas las sustancias ensayadas

Tratamiento	Excreción urinaria (%)	Acción diurética
NaCl 0,9 % (Control negativo)	32,45	-
<i>C. aurantium</i> L. 400 mg/Kg	86,5	2,66
<i>A. cepa</i> L. 400 mg/Kg	103,0	3,25
<i>U. baccifera</i> L. 400 mg/Kg	109,6	3,48
<i>C. alata</i> L. 400 mg/Kg	126	3,99
<i>P. americana</i> Millar 400 mg/Kg	136,7	4,33
<i>Z. fagara</i> L. 400 mg/Kg	119,85	3,83
<i>N. coriacea</i> (Sw.) 400 mg/Kg	101,15	3,12
<i>C. pictus</i> D. Don 00 mg/Kg	48,42	2,49
Furosemida (Control positivo) 20 mg/Kg	135,97	4,19
Hidroclorotiazida (Control positivo) 10mg/Kg	90,80	2,80

La actividad diurética relaciona el volumen de orina excretado (mL/kg) por los grupos experimentales tratados con los extractos acuosos, y el volumen de orina excretado (mL/kg) por los grupos experimentales controles positivos (furosemida e hidroclorotiazida), los resultados obtenidos al evaluar la actividad diurética de los extractos en relación con los diuréticos de referencias furosemida e hidroclorotiazida son mostrados en la tabla 2.

De manera general, con relación con el control positivo furosemida los extractos no manifestaron una actividad diurética comparable a este diurético de referencia, sí es válido señalar que a partir de las 5 h en adelante, *C. alata* y *P. americana* muestran un comportamiento muy similar a la furosemida ($p > 0,05$).

En cuanto al control positivo hidroclorotiazida los extractos manifestaron una actividad diurética más similar a este diurético de referencia. A la dosis evaluada, los resultados no fueron estadísticamente significativos al compararlos con la hidroclorotiazida ($p > 0,05$).

Tabla 2. Actividad diurética de los grupos experimentales a las 6 h de administradas las sustancias ensayadas

Grupos	Actividad diurética Furosemida	Actividad diurética Hidroclorotiazida
NaCl 0,9 % (Control negativo)	-	-
<i>C. aurantium</i> L. 400 mg/Kg	0,63	0,95
<i>A. capa</i> L. 400 mg/Kg	0,77	1,16
<i>U. baccifera</i> L. 400 mg/Kg	0,82	1,23
<i>C. alata</i> L. 400 mg/Kg	0,95	1,42
<i>P. americana</i> Millar 400 mg/Kg	1,03	1,54
<i>Z. fagara</i> L. 400 mg/Kg	0,91	1,37
<i>N. coriacea</i> (Sw.) 400 mg/Kg	0,74	1,11
<i>C. pictus</i> D. Don 400 mg/Kg	0,59	0,90

En todos los casos la variable actividad diurética fue menor al calcularla sobre la base del control positivo furosemida, hallazgo que puede ser explicado por la gran eficacia diurética de este fármaco, que se traduce en una alta excreción urinaria, prácticamente insuperable por ninguno de los extractos evaluados. Se encontró correspondencia en las determinaciones de las actividades diuréticas calculadas en función de ambos controles positivos, fue mayor para el caso de la tiazida por la causa anteriormente explicada, aún así, todos los extractos evaluados presentaron una actividad diurética alta. Considerando el comportamiento de los extractos, el análisis de las variables estudiadas y su análisis estadístico, señalamos que solamente la *P. americana* presenta una acción similar a la furosemida, el resto de las plantas presentan una acción más parecida a las tiazidas.

La excreción de sodio en orina para la mayoría de los grupos experimentales tratados con los extractos acuosos no superan la excreción que para este ión manifestaron los grupos experimentales control negativo y el control positivo furosemida, se apreciaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en relación con el control negativo y el control positivo furosemida, para gran parte de estos grupos. En relación con el control positivo hidroclorotiazida, la mayoría de los grupos experimentales tratados con los extractos acuosos de las planta en estudio, no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Las concentraciones de potasio excretadas por los grupos experimentales tratados con los extractos acuosos superaron la excreción que para este ión manifestaron los grupos experimentales control negativo y el control positivo furosemida; no superaron (los tratados con extractos acuosos) la excreción provocada por el control positivo hidroclorotiazida.

La razón Na^+/K^+ (tabla 3) para la gran mayoría de los grupos experimentales tratados con extractos acuosos, muestra valores menores que 1 lo que sugiere que las sustancias ensayadas incrementan la excreción de potasio, manifestando un comportamiento similar a los diuréticos tiazídicos, lo cual permite inferir que el

mecanismo a través del cual estos extractos pueden ejercer su acción, es similar a la forma en que la ejercen los diuréticos tiazídicos. La única planta en la que se aprecian valores cercanos a 1 en este cociente es *P. americana*, en la cual se obtienen valores de excreción urinaria muy similares a la furosemida, lo que nos permite inferir que el extracto de esta planta posee una acción más similar a los diuréticos de alta eficacia.

Tabla 3. Concentraciones de sodio y potasio (mEq/L) en orina y razón Na⁺/K⁺ en los grupos experimentales, a las 6 h de administradas las sustancias

Grupos	Concentración de Na ⁺ mEq/L	Concentración de K ⁺ mEq/L	Razón Na ⁺ / K ⁺
NaCl 0,9 % (Control negativo)	98,6± 10,2	20,60±11,0	4,76
Furosemida 20 mg/kg (Control positivo)	98,27±11,3	39,43±10,6	2,49
Hidroclorotiazida (Control positivo)	41,42±10,4	89,58±11,1	0,46
<i>C. aurantium</i> L. 400 mg/Kg	34,82±11,1 a, b	41,30±16,0 a, c	0,84
<i>A. cepa</i> L. 400 mg/Kg	42,32±10,6 a, b	57,70±10,4 a, c	0,55
<i>U. baccifera</i> L. 400 mg/Kg	39,66±15,2 ab	71,52±12,3 a, b,c	0,55
<i>C. alata</i> L 400 mg/Kg	22,80±11,3 a, b, c	61,39±14,1 a, c	0,37
<i>P. americana</i> Miller 400 mg/Kg	42,44 ±12,1 a, b	41,27±10,6 a, b,c	1,02
<i>Z. fagara</i> L. 400 mg/Kg	36,19±13,3 a, b	81,38±14,7 a, b	0,44
<i>N. coriacea</i> (Sw.) 400 mg/Kg	17,20 ± 6,13 a,b,c	44,42 ± 5,9 a,c	0,40
<i>C. pictus</i> D. Don 400 mg/Kg	32,20 ± 11,83 a,b	53,42 ± 23,10 a,c	0,60

Significación estadística, Test *Mann-Whitney*. a) Diferencia significativa respecto al control negativo (cloruro de sodio) ($p < 0,05$). b) Diferencia significativa respecto al control positivo (furosemida) ($p < 0,05$). c) Diferencia significativa respecto al control positivo (hidroclorotiazida) ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Si se comparan estos resultados con otras investigaciones que han evaluado este efecto a dosis de 400 mg/kg, se puede apreciar que a este nivel se ha encontrado la mejor respuesta farmacológica, elemento que se tuvo en cuenta en la selección de esta dosis intermedia utilizada durante el tamizaje farmacológico primario necesario para identificar plantas activas farmacológicamente. Es válido destacar que también se ha encontrado una correlación positiva entre la dosis y el efecto. Estudios realizados en los extractos acuosos de *Bidens pilosa* L. y *Costus cylindricus* Jacq. no fueron dosis dependientes, debido a que la excreción de orina de los grupos tratados a la dosis de 800 mg/kg fue más baja que cuando se trataron con la dosis de 400 mg/kg.¹⁸ Este fenómeno no debe ser generalizable a esta acción farmacológica en particular y de hecho se ha observado correlación positiva en estudios realizados en una decocción de *Orthosiphon aristatus* (Blume) Miq. que resultó ser dosis dependiente, acompañada de una natriuresis y kaluresis significativas.¹⁹ Otros estudios con resultados similares se realizaron en la concha del melón donde se encontró correlación positiva entre la dosis y el efecto diurético.⁵ Aparece reportado además un estudio realizado recientemente en la

Universidad Central de Las Villas donde se comprueba la acción diurética con un comportamiento dosis dependiente similar a la hidroclorotiazida para la planta *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn.²⁰

La acción diurética calculada a la 6 h de todas las plantas estudiadas fue alta, aún así la volúmenes excretados a este tiempo fueron inferiores a los descritos por: *Bodoa purpurascens* Cav. ($58,2 \pm 5,74$ mL/kg),²¹ y *Carica papaya* L. ($54,08 \pm 10,23$ mL/kg) y en algunos casos similares a los mostrados por *B. pilosa* ($50,22 \pm 7,72$ mL/kg), *Rhoeo spathacea* (Sw.) Stearn ($47,98 \pm 8,26$ mL/kg), *C. cylindricus* Jack ($52,89 \pm 9,57$ mL/kg) y *Capraria biflora* L. ($42,71 \pm 8,10$ mL/kg).⁵

Respecto de la eliminación de Na^+ y K^+ , los extractos de las plantas incrementaron los niveles de este último, mostrando un efecto kalurético superior al natriurético. El cociente Na^+/K^+ puede orientar el mecanismo diurético. La furosemida con valor aproximado a 1 elimina igual ambos electrólitos; las tiazidas (<1) aumentan la excreción de K^+ , y espironolactona (>1) es ahorrador de K^+ .⁶

Se encontró correspondencia entre el volumen de orina y la concentración de Na^+ , este aspecto es lógico porque los mecanismos de acción de un gran número de fármacos diuréticos es decrecer la reabsorción de este ión, esto produce el arrastre del equivalente osmótico del agua, otra explicación que puede justificar el efecto diurético de estas plantas es la concentración de K^+ . Todas las plantas mostraron también elevadas concentraciones de este ión en la orina, esto pudiera ser explicado si tenemos en cuenta los informes sobre varias especies vegetales que presentan potasio en su composición inorgánica, por lo que a la cantidad de este ión excretada debido al efecto diurético de la planta, se sumaría el aportado por el propio vegetal.²¹

La actividad diurética de la *P. americana* puede estar relacionada con la presencia de potasio en sus hojas,²² pues la literatura refiere que el elevado contenido de las sales potásicas presentes en la planta se asocia a la poderosa acción diurética.²⁰

En estudios publicados sobre la caracterización fitoquímica de la *C. alata* se determinó la presencia de algunos metabolitos que pudieran estar asociados con su efecto diurético: se determinaron aceites volátiles en el extracto etéreo, en el extracto acuoso y alcohólico se observaron taninos y flavonoides.²³ Estudios realizados en cuanto al mecanismo de acción diurético de estos metabolitos plantean que parece ser que algunos aceites esenciales, saponósidos y flavonoides podrían actuar a nivel glomerular más que en el túbulo, provocando un aumento de la circulación renal e incrementando así la tasa de filtración glomerular y la formación de orina primaria. El efecto obtenido sería, por tanto, una acuairesis. Sin embargo, las sales de potasio podrían producir un efecto diurético gracias a un proceso osmótico.²³⁻²⁵

Finalmente se puede concluir que la gran mayoría de los extractos evaluados a dosis de 400 mg/kg, muestran una actividad diurética similar a la hidroclorotiazida. Las concentraciones de sodio y potasio en la orina excretada se incrementan y la razón Na^+/K^+ permitió comparar su acción con las tiazidas, mostró una eficacia diurética moderada excepto para *P. americana*, cuyo comportamiento presenta similitud a la furosemida a dosis de 20 mg/kg con una alta eficacia. El empleo de este modelo farmacológico *in vivo*, fácilmente reproducible, contribuye a la validación de las plantas medicinales y a su uso ulterior una vez desarrollados los estudios farmacológicos y toxicológicos establecidos en la ruta crítica de desarrollo de un medicamento herbario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Flórez J, Armíño J. Fármacos diuréticos. En: Flórez J. Farmacología humana. Barcelona: Masson; 2003. p. 835-49.
2. Mudge G. Diuréticos y otros agentes empleados en el tratamiento del edema. En: Goodman A, Goodman LS, Gilman A, Mayer SE. Las bases farmacológicas de la terapéutica. La Habana: Científico Técnica; 1994. p. 840-73.
3. Lipschitz WL, Haddian Z, Kerpscar A. Bioassay of diuretics. J Pharm Exp Ther.1943;79:110-6.
4. Kau ST, Keddie JR, Andrews D. A method for screening diuretic agents in the rat. J Pharmacol Meth; 1984;11:67-75.
5. Álvarez G, Fernández I, Rodríguez IE. Efecto diurético del extracto acuoso de pericarpio de melón (*Cucumis melo* L). Variedad *reticulatus* Naud) en ratas. Rev Cubana Plan Med. [serie en Internet]. 2008 Ene [citado 5 Mar 2010];13(2): [aprox. 5 p.] Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol13_2_08/pla02208.htm
6. Daud A, Habit N, Sánchez A. Actividad diurética de extractos acuoso de *Polylepis australis* Bitter (queñoa). Rev Cubana Plan Med. [serie en Internet]. 2007 Oct [citado 5 Mar 2010];12(4):[aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/pla/vol12_4_07/pla07407.html
7. Gasparotto A, Aurelio M, Botelho EL. Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majos* (tropaeolaceae) in rats. Journal of Ethnopharmacology. 2009;122:517-22.
8. Adam Y, Somchit MM, Sulaman MR, Nasaruddin AA. Diuretic properties of Orthosiphon Staminues Benth. Journal of Ethnopharmacology. 2009;124:154-8.
9. Pérez I, Field AM, Churches AN, Herrera R, Eagle M, García L. Acute toxicity and diuretic effect of the *Commelina elegans* H.B.K (tube). Rev Cubana Farm. 2006;40:101.
10. Iglesias E, Turiño JE, Fernandiz D, Herrera R. Efecto diurético y toxicología oral aguda de la decocción de la *Peperomia pellucida* L H.B.K. Rev Cubana Farm. 2002;36:97.
11. Pérez I, Olivera O, Reynaldo I, Batista J, Grinión LE, Pestano Y. Acute Toxicity and diuretic effect of the *Bryophyllum pinnatum* LAM (everlasting flower). Rev Cubana Farm. 2006;40:101.
12. Martínez Novellas Y. Efecto diurético del *Tamarindus indica* en ratas. Rev Cubana Farm. 2007;41:179.
13. Soler B, Méndez G, Brook M, Migdalia M. Medicamentos de origen vegetal, extractos fluidos y tinturas. Métodos de ensayo. NRSP 312 MINSAP, La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 1992.
14. Consejo Canadiense de Protección de Animales: Manual sobre el cuidado y uso de los animales de experimentación. Vol 1. 2a ed. Canadá: Brada Printing Services; 1998.

15. Masereel B, Schints M, Krzesinski JM, Pirotte B, Rorive G, Delarge J. A sulphonilthiourea (BM20) related to torasemide: a new loop diuretic with relative potassium sparing properties. *J Pharm Pharmacol.* 1993;45(8):720-4.
16. Jiménez L, León MC, Herrera R, García G, Cárdenas L. Efecto diurético del *Xanthium strumarium* L. (guizajo de caballo). *Rev Cubana Plant Med.* 1999;1(4):22-5.
17. Isea GA, Rodríguez I.M, Gil AM, Sánchez EE. Efecto diurético del extracto acuoso de pericarpio de melón (*Cucumis melo* L. variedad *reticulatus* Naud) en ratas. *Rev Cubana Plant Med [serie en Internet].* 2008 [citado 8 Mar 2010]13(2):[aprox. 3 p.]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
18. Boffill MA. Plantas medicinales usadas en cuba con efecto diurético comprobado experimentalmente. *Medicentro.* 2008 [serie en Internet]. 2008 Ene [citado 12 Feb 2010]12(1): aprox. 4 p.]. Disponible en:
<http://www.vcl.sld.cu/sitios/medicentro/paginas%20de%20acceso/Sumario/ano%202008/v12n1a08/plantas81.htm>
19. Leon MC, Tillán J. Diuretic effect and acute toxicity of *Orthosiphon aristatus* Blume (kidney tea). *Rev Cub Plant Med.* 1996;1(3):30-6.
20. Sueiro ML, Ribalta V, González Y, Hernández E. Evaluation of diuretic activity from *Dichrostachys cinerea* (L.) Wight & Arn. leaves and bark aqueous extracts. *VacciMonitor.* 2010;19(2). Disponible en:
<http://www.finlay.sld.cu/publicaciones/vaccimonitor/Vm2010/vm2010.htm#n5>
21. Pérez M, Boffill M, González DM, Monteagudo E. Efecto de la administración oral continuada de *Boldoa purpurascens* Cav. sobre diferentes variables fisiológicas en ratas. *BLACPMA.* 2009;8(3):204-10.
22. El potasio, magnesio y azufre en el aguacate. [Internet].Ene 2008. México:[citado 25 Feb 2009] [aprox. 1 pantalla]. Disponible en:
[http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/\\$webindex/30A2F255C4C5DF0C06256C15005FAC89?opendocument&navigator=aguacate](http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/$webindex/30A2F255C4C5DF0C06256C15005FAC89?opendocument&navigator=aguacate)
23. Barrese Y, Hernández ME, García O. Caracterización y estudio fotoquímico de *Cassia alata* L. *Rev Cubana Plant Med. [serie en Internet].* 2008 Ene [citado 26 Ene 2009];9(1): [aprox. 5 p.]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962005000200009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
24. Arteché A, Vanaclocha B, Güenechea JI. *Fitoterapia.* (3ª ed.). *Vademécum de prescripción. Plantas medicinales.* Barcelona: Masson; 1998.
25. Peris JB, Stübing G, Vanaclocha B. *Fitoterapia aplicada.* Valencia: MICOV Valencia; 1995.

Recibido: 1 de abril 2011.
Aprobado: 19 de abril 2011.

MSc. *Maykel Pérez Machín*. Departamento de Farmacología Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara. Correo electrónico: maykelpm@ucm.vcl.sld.cu. Teléfono: 224727.