



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO
DE MORELOS
FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARIA DE DOCENCIA
JEFATURA DE POSGRADO



**Estudio Químico y Actividad Nefroprotectora del
Extracto Hidroalcohólico Estandarizado de la
Raíz de *Sechium edule*.**

**TESIS
PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO
EN CIENCIAS (BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA
MOLECULAR)**

QUE PRESENTA

**Lic. en Ciencias (Bioquímica y Biología Molecular)
Alejandro Costet Mejía**

DIRECTORES DE TESIS

**Dra. Gabriela Rosas Salgado
Facultad de Medicina, UAEM**

**Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez
Centro de Investigación Biomédica del Sur, IMSS**

Cuernavaca, Morelos, México, Julio 2020

SINODALES

Dr. Mario Ernesto Cruz Muñoz

Dr. Jesús Enrique Jiménez Ferrer

Dr. Gerardo Joel Barrita Cruz

Dr. Martín Gustavo Pedraza Alva

CÓMITE REVISOR

Dra. Gabriela Rosas Salgado

Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez

Dr. Mario Ernesto Cruz Muñoz

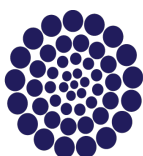
Dr. Jesús Enrique Jiménez Ferrer

Dra. Gladis Frago González



El presente trabajo se realizó en

El Laboratorio de Inflamación y Enfermedades Crónicas degenerativas de la Facultad de Medicina de la UAEM (Cuernavaca, Morelos), bajo la tutoría de la Dra. Gabriela Rosas Salgado. En colaboración con el Laboratorio de Fitoquímica del Centro de Investigación Biomédica del Sur del IMSS (Xochitepec, Morelos), bajo la cotutoría del Dr. Alejandro Zamilpa Álvarez.



CONACYT

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología

Apoyos recibidos.

Este proyecto se realizó gracias al financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) No. 889488.

Agradecimientos.

A la Dra. Gabriela Rosas por permitirme ser parte del laboratorio de Inflamación y enfermedades crónico-degenerativas. Fueron dos años de experiencias y enseñanzas que fortalecieron mis conocimientos en la investigación.

Al Dr. Alejandro Zamilpa por brindarme todo su apoyo a lo largo de la maestría, el poder trabajar en su laboratorio es una gran satisfacción, agradezco los comentarios y sugerencias para la elaboración de este trabajo.

Al comité de sinodales y revisores antes mencionados por el tiempo invertido en cada una de las evaluaciones y revisión de este trabajo.

A cada una de las personas que conforman la unidad de bioterio de la facultad de medicina, M.v.z Gerardo Arrellín y a Nancy por las facilidades brindadas para el desarrollo experimental del proyecto. Al personal del Centro de Investigación Biomédica del Sur, al Dr. Manasés González, Dra. Maribel Herrera, Lolita Pérez, Arturo, Jonathan Orduño por todo la ayuda y apoyo.

Sin ser menos importantes, a los compañeros del Laboratorio de Inflamación y Enfermedades Crónico-degenerativas, en especial a la Dra. Celeste Trejo que siempre ha estado en todo momento aclarando dudas, aconsejando y apoyando. A la Marisol por ser mas ameno el trabajo y a Zinri por su apoyo y dedicación el trabajo experimental.

Aunque fue una maestría en la que hubo desastres naturales, paros administrativos y demás, sin el apoyo brindado por cada uno de ustedes este trabajo no se hubiera podido hacer. ¡Gracias por todo!

ÍNDICE

RESUMEN	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Función y Estructura de los Riñones	1
1.1.1 Nefrona	2
1.1.2 Corpúsculo Renal	2
1.2 Enfermedad Renal Crónica	4
1.2.1 Parámetros de la Función Renal	5
1.2.1.1 Creatinina	6
1.2.1.2 Albúmina	6
1.2.1.3 Urea	7
1.2.1.4 Ácido Úrico	7
1.3 Glomeruloesclerosis	8
1.4 Sistema Renina-Angiotensina	10
1.5 Disfunción Endotelial	11
1.5.1 Estrés Oxidante	12
1.5.2 Inflamación	13
1.6 Hipertensión	13
1.7 Fibrosis	14
1.8 Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica	15
1.9 Tratamientos Farmacológicos de la Enfermedad Renal Crónica	15
2. ANTECEDENTES	17
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPÓTESIS	19
5. OBJETIVO GENERAL	19
6. OBJETIVOS PARTICULARES	19
7. MATERIALES Y MÉTODOS	20
7.1 Obtención del Extracto Hidroalcohólico de la Raíz de <i>Sechium edule</i>	20
7.1.1 Extracción líquido-líquido del Extracto Integro	20
7.1.2 Fraccionamiento Químico de la F-AcOEt	21
7.1.3 Purificación del Extracto Integro	22

7.1.4	Análisis CLAR	23
7.1.5	Curva de Calibración del Ácido Cinámico	23
7.1.6	Elucidación Estructural de los Compuestos Aislados	24
7.2	Animales de Experimentación	24
7.3	Grupos Experimentales	24
7.4	Pruebas Bioquímicas para el Análisis de los Parámetros Renales	24
7.5	Histopatología	26
7.6	Detección de Citocinas por ELISA	26
7.7	Estadística	26
8.	RESULTADOS	27
8.1	Identificación de Ácido Cinámico	27
8.2	Estandarización del EHrSe: 11mg/kg	29
8.3	Perfil Químico de la Fracción Activa	30
8.4	El EHrSe Previene el Incremento de la Concentración Sérica de Albúmina y Ácido Úrico	37
8.5	El EHrSe Mantiene la Concentración de Creatinina	39
8.6	La Concentración de Urea no se Modificó por la Administración de Ang-II	39
8.7	El EHrSe Evita el incremento de las Citocinas Proinflamatorias IL-1y TNF- α en Riñón	40
9.	DISCUSIÓN	41
10.	CONCLUSIONES	45
11.	PERSPECTIVAS	45
12.	BIBLIOGRAFÍA	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Conformación Estructural del Riñón	1
Figura 2. Esquema de las Nefronas Corticales y Yuxtamedulares	2
Figura 3. Conformación del Corpúsculo Renal	3
Figura 4. Planta de <i>Sechium edule</i>, Cuautlapan, Veracruz	20
Figura 5. Cromatograma A) de la FAErSe, B) del EHrSe	27
Figura 6. Cromatograma de CLAR del estándar de ácido cinámico	28
Figura 7. Curva patrón para la determinación de la dosis terapéutica	30
Figura 8. Placas de sílica fase reversa (C1)	30
Figura 9. Cromatograma de CLAR C1F30-31	31
Figura 10. Cromatograma de CLAR	31
Figura 11. Cromatograma de CLAR de C1F58-60	32
Figura 12. Cromatograma por CGM de C2F11	33
Figura 13. Cromatograma por CGM de C3F20, C3F23 y C3F43	37
Figura 14. Medición de la concentración de albúmina sérica	38
Figura 15. Medición de la concentración de ácido úrico sérico	38
Figura 16. Medición de la concentración de creatinina sérica	39
Figura 18. Medición de la concentración de urea sérica	40
Figura 19. Niveles de citocinas proinflamatorias en riñón	41

RESUMEN

Datos epidemiológicos indican que la enfermedad renal crónica (ERC) se ha convertido en un problema de salud pública debido principalmente a trastornos de alta prevalencia como la hipertensión y la diabetes. Se manifiesta por alteraciones en la composición de sangre u orina que prevalecen al menos tres meses debido a cambios estructurales o funcionales en los riñones.

En este trabajo se realizó el estudio de *Sechium edule*, una planta trepadora, perene nativa de los estados de Puebla, Oaxaca y Veracruz. Se emplea en la medicina tradicional para el tratamiento de padecimientos como la presión arterial elevada, cálculos renales e inflamación de la uretra. Previos estudios realizados en nuestro laboratorio reportaron que la administración de la raíz de *Sechium edule* (10mg/kg) en ratones fue eficiente para combatir el daño renal por la aplicación crónica de Ang-II (0.01µg/Kg). Además, se identificaron diferentes compuestos en la fracción acetónica que podrían ser responsables de la actividad farmacológica de la raíz de *S.edule*, siendo el ácido cinámico el compuesto mayoritario. Sin embargo, el uso de fitofármacos a base de acetona no está del todo aceptado para su administración en humanos. En este trabajo se evaluó el efecto nefroprotector del extracto hidroalcohólico estandarizado de la raíz de *S.edule* en un modelo murino. Tomando como referencia lo reportado, se realizó la estandarización del extracto hidroalcohólico de la raíz de *S.edule* con base en la concentración de ácido cinámico, resultando la dosis de 11mg/kg. Además, se realizó el fraccionamiento químico y elucidación estructural de los compuestos de este extracto, identificando principalmente compuestos de tipo éster de ácidos grasos, terpenos y alcoholes. Posteriormente a ratones C57BL6 se les administró el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* (11 mg/kg) en paralelo a la continua administración Ang-II (0.01µg/Kg) durante 11 semanas. Se cuantificaron los parámetros renales (niveles de albúmina, creatinina, urea enzimática y ácido úrico), para determinar la función renal de los animales. De acuerdo con los resultados obtenidos se observó que, la aplicación crónica de Ang-II incrementó de manera significativa la concentración sérica de albúmina posiblemente porque repercutió en la calidad del hígado. Además, propicio el incremento de ácido úrico, relacionado con el establecimiento del estrés oxidante renal y el incremento de la concentración de creatinina, debido al daño en el corpúsculo renal. Sin embargo, la concentración de urea se mantuvo a una concentración similar en cada unos de los grupos. Estos cambios no se presentaron en los animales administrados con el EHRSe por lo que se demostró que tiene un efecto nefroprotector al contrarrestar los efectos causados por la aplicación de Ang-II durante 11 semanas en los ratones.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Función y estructura de los riñones

El sistema renal está constituido por dos riñones situados en el espacio retroperitoneal de la cavidad abdominal posterior, a ambos lados de la columna vertebral. Dos uréteres, conductos que conectan a cada uno de los riñones con la vejiga y la uretra, que llevan la orina desde la vejiga hacia el exterior¹⁻⁶. Los riñones son los encargados de mantener la homeostasis del agua y de los solutos mediante diversas funciones 1) función reguladora del equilibrio hidroelectrolítico sistémico soportado por mecanismo glomerulares (filtración) y tubulares (reabsorción y secreción), así como la regulación de la presión arterial. 2) función excretora, resultando la eliminación de productos del metabolismo (urea, creatinina y ácido úrico) y la eliminación de productos provenientes de la dieta (sodio, potasio, cloro, calcio, fosfato y agua) 3) función endocrina mediante la producción de hormonas (renina, eritropoyetina y prostaglandinas) y 4) función metabólica, realizando gluconeogénesis^{2,5,7}.

Cada riñón presenta en su superficie una cápsula fibrosa de tejido conjuntivo (cápsula renal) conformada por una capa interna de miofibroblastos y una capa externa de fibras de colágeno y fibroblastos que cubren a las estructuras internas del riñón^{2,3}. Esta cápsula posee una región cóncava denominada hilio; por donde ingresa la arteria renal (provee vascularización al riñón) y

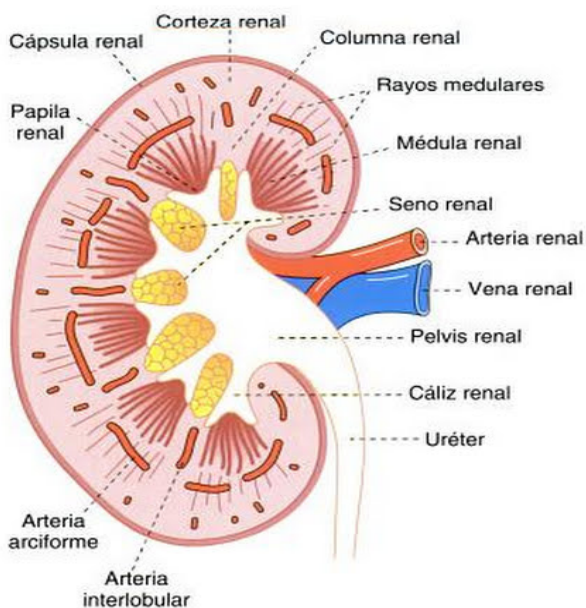


Fig. 1. Conformación Estructural del Riñón.
Imagen tomada de Histología, Welsch & Sobotta (2008)

nervios renales, permite la salida de la vena renal (encargada de drenar la sangre venosa), vasos linfáticos y el segmento inicial del uréter llamado pelvis renal^{2,5-8} (Fig. 1). Internamente, el riñón se conforma por la corteza (región periférica granular) y la médula (región interna)^{3,5,7,8}. La corteza se encuentra por debajo de la cápsula, conformada por una gran cantidad de nefronas^{2,3,6,8,9}. Mientras que la médula contiene los vasos rectos, el asa de Henle y la porción medular del conducto colector. En esta región, los túbulos se dividen en

pirámides renales donde su base está orientada hacia el borde corticomedular y su vértice (papila renal) protruye hacia la pelvis renal; esta última se divide en cálices mayores que se extienden y dividen en cálices menores captando y transportando la orina (Fig.1)^{2,3,6,7,9,10}.

1.1.1 Nefrona

La capacidad de mantener el equilibrio hidroelectrolítico sistémico y al mismo tiempo eliminar selectivamente las sustancias de desecho provenientes del metabolismo y conducirlos a través de la sangre, es efectuado por la unidad morfofuncional del riñón; la nefrona¹⁰. Cada riñón alberga alrededor de 1 a 1.5 millones de nefronas en la corteza renal, presentando dos componentes: el corpúsculo renal; constituido por la cápsula de Bowman y el glomérulo renal, y la sección tubular; conformada por el túbulo contorneado proximal, la asa de Henle, el túbulo distal y el tubo colector^{10,11}. Todas las nefronas presentan los mismos componentes, sin embargo, se clasifican con respecto a su ubicación, las nefronas corticales que se localizan en la corteza renal y presentan asas de Henle cortas. Las nefronas yuxtamedulares donde su corpúsculo renal se ubica en la zona corticomedular, además presenta asas de Henle alargadas que se extienden hasta la zona interna de la médula^{5,7}.

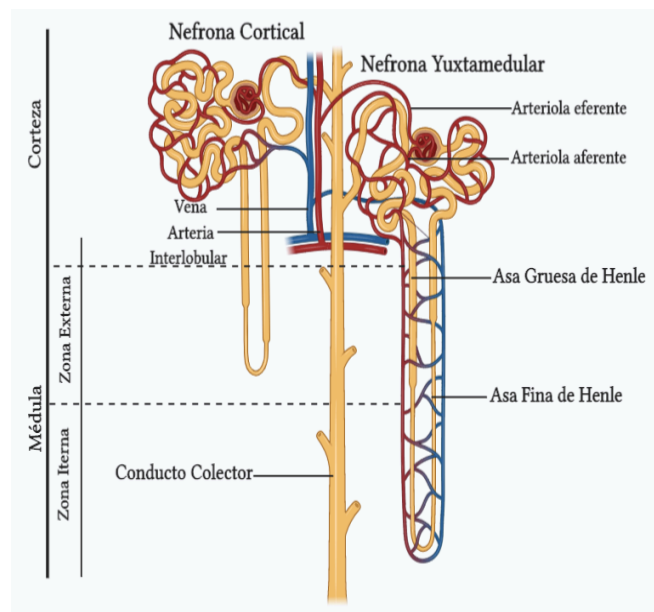


Fig. 2. Esquema de las Nefronas Corticales y Yuxtamedulares. Imagen tomada y modificada de Tratado de Fisiología Médica, Guyton & Hall (2011)

1.1.2 Corpúsculo Renal

El corpúsculo renal es el segmento inicial de la nefrona responsable de la filtración del plasma a través de dos estructuras; el glomérulo y la cápsula de Bowman^{10,12-15}. Se diferencia en un polo vascular conformado por la arteriola aferente (entrada) y la arteriola eferente (salida), además de polo urinario que inicia con la cápsula de Bowman y el túbulo contorneado proximal que conducen y regulan al filtrado glomerular^{10,12,13}. La cápsula de Bowman (Fig. 2 y 3) es el segmento tubular inicial de la nefrona que recubre al glomérulo, presenta una capa externa parietal constituida por un epitelio de células poligonales que se asientan sobre la membrana basal^{10,13,16} y una capa interna visceral constituida por células estrelladas con prolongaciones primarias que dan origen a los pedicelos que se adosan contra las

paredes de los capilares que conforman al glomérulo^{10,13}. Entre ambas capas queda el espacio urinario por donde fluye el líquido que constituye al filtrado glomerular, el cual posteriormente es conducido por el túbulo contorneado proximal hacia el asa de Henle y terminar en el túbulo contorneado distal⁷. Adjunto a la capa visceral se localiza la barrera de filtración glomerular que permite el paso selectivo de las moléculas provenientes del flujo sanguíneo a través de las estructuras que lo constituyen; el glucocálix, las células endoteliales, la membrana basal glomerular y los pedicelos de los podocitos^{2,10}. El glucocálix presenta glucosaminoglicanos que evitan el paso de macromoléculas cargadas negativamente². Las células endoteliales están rodeadas casi en su totalidad por la membrana basal glomerular y por una capa de pedicelos que limitan la filtración de células sanguíneas y proteínas grandes a través de sus fenestraciones (70-90nm de diámetro), además presentan conductos acuosos de acuaporinas 1 (AQP-1) que permiten el desplazamiento de agua y pequeños solutos^{2,7,15}. La membrana basal es una lámina basal gruesa, producto del endotelio y los podocitos que separa la capa endotelial de la capa epitelial, está compuesta de

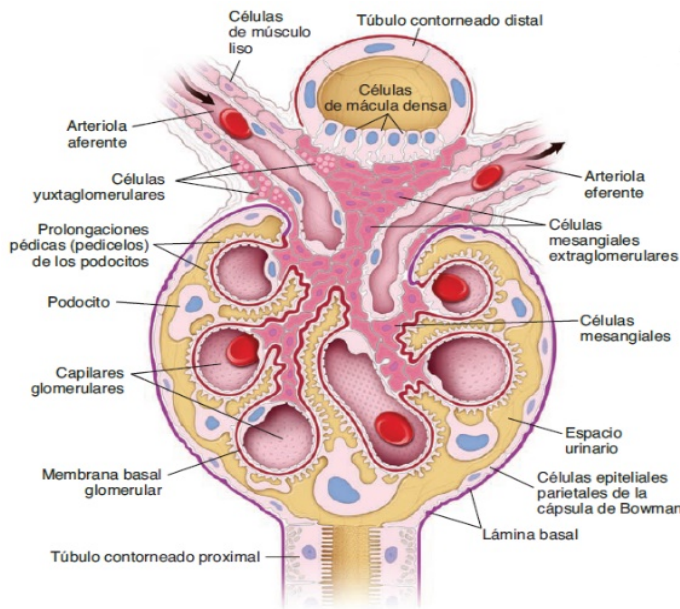


Fig. 3. Conformación del Corpúsculo Renal Imagen tomada de Histología Texto y Atlas, Ross & Pawlina

laminina, colágeno IV y proteoglicanos heparina sulfato, que determinan la permeabilidad de la barrera de filtración al restringir el paso de solutos de tamaño intermedio y grande^{2,7,15}. Los podocitos presentan una serie de procesos pediculares interdigitados conectados por diafragmas que recubren la membrana basal situándose entre cada interdigitación las hendiduras de filtración^{2,16}. Estos tres elementos están recubiertos de glucoproteínas con cargas negativas que restringen la filtración de aniones grandes². Otro componente del

corpúsculo renal es el mesangio, conformado por células mesangiales que se localizan entre los espacios de los capilares glomerulares adyacentes y tienen la función de regular el flujo sanguíneo a través de los capilares, así como la capacidad de fagocitar^{7,9}.

En conjunto, estas estructuras dan lugar a los glomérulos, cada riñón contiene alrededor de 900,000 glomérulos, los cuales se consideran la unidad de filtración renal, realizando la primera etapa de

formación de la orina^{2,5,17-19}. El mal funcionamiento de cualquiera de los componentes del corpúsculo renal, conlleva a la pérdida de filtración selectiva con respecto al tamaño y carga de las moléculas propiciando el desarrollo de la enfermedad renal crónica (ERC) independientemente de la patología¹⁸.

1.2 Enfermedad Renal Crónica (ERC)

La enfermedad renal crónica es un problema de salud pública a nivel mundial, se presenta como consecuencia de cambios en la dinámica poblacional y trastornos de alta prevalencia. En el primer caso, el aumento en la esperanza de vida con el consecuente aumento en los estratos de mayor edad (envejecimiento poblacional) y por otro lado, el incremento de la incidencia de enfermedades crónicas degenerativas como hipertensión arterial, diabetes y obesidad²⁰⁻²². La ERC se establece por el daño que prevalece al menos tres meses debido a cambios estructurales o funcionales del riñón con o sin descenso del filtrado glomerular ($<60\text{ml/min}/1.73\text{m}^2$)^{23,24}. Se manifiesta por alteraciones en la composición de sangre u orina a causa de lesiones (sección 1.3) que llevan a la acumulación excesiva de la matriz extracelular en los glomérulos y la adhesión local de los pedicelos a la cápsula de Bowman²⁵. Aunado a esto, se observa el incremento de angiotensina-II (Ang-II), que promueve el desarrollo de hipertensión, hipertrofia vascular y disfunción endotelial mediante efectos no hemodinámicos como la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs), la liberación de factores de crecimiento profibróticos (TGF- β , TNF- α) así como la activación y liberación de macrófagos^{22,24,26-28}. En conjunto, afectan los diferentes tipos celulares que conforman a los glomérulos (células mesangiales, células endoteliales y células epiteliales viscerales y parietales) incitando un círculo vicioso de lesión e inflamación, resultando en un mecanismo fisiopatológico por el cual se establece la glomeruloesclerosis llevando a la pérdida eventual de las nefronas^{24,26-28}.

Dado que, la ERC es una enfermedad progresiva, se clasifica en cinco estadios evolutivos, representando los estadios 3-5 como ERC y específicamente los estadios 4 y 5 como ERC avanzada (Tabla 1)¹⁰.

Tabla 1: Estadios evolutivos de la Enfermedad Renal Crónica

Estadio	Descripción	FG (ml/min/1.73 m ²)
1	Daño renal con FG normal	≥90
2	Daño renal con FG levemente disminuido	60-89
3	FG moderadamente disminuido	30-59
4	FG gravemente disminuido	15-29
5	Falla renal	<15 o diálisis

Tomada de “Métodos de evaluación de la función renal en el paciente anciano: fiabilidad e implicaciones clínicas” Carracedo & Baztán; 2009

En el estadio 1, se establece la presencia de alteraciones histológicas en la biopsia renal o por marcadores indirectos (albuminuria o alteraciones en el sedimento urinario). En el estadio 2 se debe descartar el daño renal determinando el cociente albúmina/creatinina por estudios de muestra aislada de orina y alteraciones en el sedimento urinario²⁹. Además, se valora la existencia de patologías principalmente hipertensión arterial y diabetes, con la finalidad de evitar la progresión de la ERC. En el estadio 3 existe mayor riesgo en la progresión de la ERC y de complicaciones cardiovasculares, así como la presencia de factores que lleven a la insuficiencia renal, como anemia y alteraciones del metabolismo calcio-fósforo. En el estadio 4, dado la disminución grave del filtrado glomerular, se debe valorar al paciente para el tratamiento renal sustitutivo. En el estadio 5, el filtrado glomerular es deficiente y se debe iniciar el tratamiento renal sustitutivo²⁹.

1.2.1 Parámetros de la Función Renal

Para establecer la progresión de la ERC se emplean marcadores bioquímicos renales (Tabla 2) que permiten conocer la calidad de la función renal¹⁰.

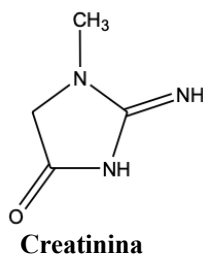
Tabla 2. Pruebas químicas para la determinación de la función renal

Pruebas	Valor normal
Filtración glomerular (ml/min/1.73m ²)	Hombre 124 ± 25 Mujer 119 ± 13
Aclaramiento de creatinina (ml/min/1.73m ²)	90-130
Creatinina sérica (mg/dl)	0.5-1.1
Aclaramiento de urea (ml/min/1.73m ²)	60-100
Urea sérica	5-50

Tabla tomada y modificada de “Nefrología Clínica, 2008”

1.2.1.1 Creatinina

Estudios de laboratorio permiten estimar el índice del filtrado glomerular mediante la cuantificación creatinina sérica o en orina. La creatinina es el producto de la degradación de creatina en el metabolismo muscular que no se reabsorbe, pero se excreta a través de la orina. En el metabolismo muscular, la creatina se sintetiza en el hígado a partir de glicina, arginina y metionina, se libera al torrente sanguíneo hasta el tejido muscular donde la creatina fosfoquinasa cataliza la conversión de creatina a fosfocreatina, que funge como un almacén de energía. Al darse la contracción muscular se da la degradación de fosfocreatina por la acción catalítica de la creatina cinasa mitocondrial formando nuevamente ATP y creatina, ésta última puede deshidratarse y generarse creatinina que será excretada por la orina^{8,30-32}. La depuración de creatinina representa la estimación clínica más aproximada del índice de filtrado glomerular, se define como el volumen de plasma que debe ser depurado en su totalidad de creatinina a través de los riñones por unidad de tiempo en una concentración de 1.65-2.33 ml/s. Sin embargo, el uso clínico de la creatinina presenta ciertas restricciones en pacientes con ERC dado que, la secreción de creatinina por el túbulo proximal incrementa a medida que eleva la concentración sanguínea, por lo que, la cantidad que se elimina incrementa en forma concomitante^{8,10,32}. Por lo tanto, a medida que el deterioro funcional renal progresa, se da una sobreestimación del índice del filtrado glomerular verdadero mediante la depuración de creatinina. Es por ello que se recurre a la determinación de otros parámetros para la determinación de la función renal en pacientes con la enfermedad^{8,10,33}.



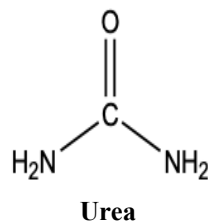
1.2.1.2 Albúmina

La albúmina es un producto proveniente del hígado que se distribuye entre los compartimientos intravasculares. Constituye alrededor del 50% de las proteínas plasmáticas y es responsable del 70-80% de la presión oncótica, así como del transporte de hormonas, enzimas y oligoelementos^{34,35}. Actúa como agente antioxidante, presenta efectos hemostáticos y favorece la estabilización endotelial, es por ello que las fibras de colágeno y la electronegatividad de la pared capilar impiden la pérdida de proteínas a través del riñón^{34,35}. Sin embargo, cuando los glomérulos presentan un

daño se vuelven más permeables permitiendo el paso de moléculas de mayor peso molecular³⁵. Uno de los primeros indicios de daño renal, es el aumento de albúmina en la orina (albuminuria), la cual precede a la disminución de la función renal^{21,36-39}.

1.2.1.3 Urea

La urea es un producto final del catabolismo de aminoácidos a nivel hepático por el ciclo de la urea, así como en músculo y riñón^{10,30,31}. Su producción depende del metabolismo proteico, la dieta, la función renal y la función hepática^{30,31}. Se sintetiza en la matriz mitocondrial por la condensación de la L-ornitina y carbamoil fosfato produciendo L-citrulina, que entra en el citosol formando arginosuccinato, al ser escindido por la arginosuccinasa forma L-arginina y fumarato. A partir de la arginina se genera la urea y se regenera la ornitina. La urea se filtra libremente por los glomérulos y se elimina en su totalidad a través de los riñones^{30,31,33}. Sin embargo, cualquier proceso que sea extrarrenal (incremento en la carga proteica) o renal (disminución del aclaramiento) conlleva a una disminución del filtrado glomerular o del volumen sanguíneo incrementando los niveles de urea plasmáticos^{10,30}. La azoemia es un incremento significativo de la concentración plasmática de compuestos nitrogenados no proteicos, principalmente urea y creatinina⁴⁰. Siendo prerrenal como consecuencia de una disminución del filtrado glomerular, pero con una función normal; renal cuando hay una disminución del filtrado glomerular con una retención de la urea como consecuencia de un proceso renal agudo o crónico; postrenal, siendo secundaria a una obstrucción ureteral o uretal, reabsorbiendo urea a la circulación⁴¹.

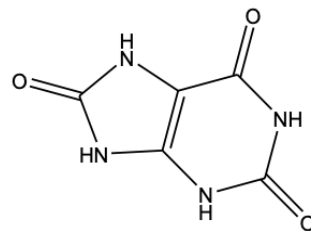


1.2.1.4 Ácido Úrico

Otro parámetro para determinar el daño renal es el ácido úrico. Se produce en el hígado, músculo e intestino por la degradación de purinas. Cuando el adenilato cinasa hace la ruptura del grupo amino del adenilato para formar inosinato (IMP) al ser desfosforilado se libera la hipoxantina y la ribosa-1-fosfato. La xantina-oxidasa convierte la hipoxantina en xantina y posteriormente en ácido úrico^{42,43}. La mayor parte de ácido úrico se produce endógenamente y alrededor de un tercio proviene de la dieta por el aporte de bases púricas y ácidos nucleicos procedentes de la fructosa y

del alcohol. Cerca del 70% se excreta por la orina en forma de urato y en menor proporción por las heces^{10,44}.

La síntesis excesiva de ácido úrico (hiperuricemia) es un marcador de riesgo para el desarrollo de la enfermedad renal crónica. Este incremento propicia la hipertensión sistémica y glomerular que llevan a la progresión de la enfermedad renal en estado terminal. Además, la hiperuricemia lleva a la precipitación de cristales intratubulares llegando a depositarse en el intersticio medular produciendo fibrosis intersticial^{10,44-46}.



Ácido Úrico

1.3 Glomeruloesclerosis

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es un patrón morfológico constante en la enfermedad renal crónica caracterizado por la combinación de diversas lesiones como el colapso de los capilares glomerulares por la deposición excesiva de la matriz extracelular y acumulación de colágeno tipo I y fibronectina (obliteración), hiperplasia, esclerosis mesangial, formación de adhesiones (sinequia), eliminación extensiva de los procesos podocitarios e hialinosis que llevan a la formación de lesiones escleróticas focales (glomeruloesclerosis focal), afectando a una porción de la población de glomérulos o segmentarias (glomeruloesclerosis segmentaria), afectando a una porción del glomérulo individual^{25,47-54}. Y en etapas avanzadas, el desprendimiento masivo de los podocitos y el colapso del penacho glomerular se establece una glomeruloesclerosis global^{50,54}.

La glomeruloesclerosis se clasifica de acuerdo a los criterios morfológicos o etiológicos⁵¹. Primeramente, la clasificación morfológica o clasificación Columbia, considera cinco tipos de variantes de la GEFS; la variante perihilar, puntual, celular, de colapso y la no específica (GNE) (Tabla 3)^{49,52,55-58}. En la variante perihilar, la lesión se presenta en el polo vascular con o sin esclerosis e hialinosis. Se presenta en la GEFS primaria y en las formas adaptativas secundarias por la pérdida de nefronas o hipertensión glomerular. En la variante celular, los glomérulos presentan hiper celularidad endocapilar llevando a la oclusión del lumen capilar. Es poco común y suele confundirse con la glomerulonefritis proliferativa local al carecer de cicatrices segmentarias. En la variante puntual, la lesión segmentaria se da en el polo urinario, presenta células espumosas,

hipercelularidad endocapilar o esclerosis, que afectan al mechón capilar glomerular. En la variante de colapso el glomérulo presenta obliteración global o segmentaria en el capilar glomerular por la presencia de hipertrofia e hiperplasia en los podocitos. Finalmente, la variante no especifica no se correlacionada con las otras variantes, se caracteriza por la solidificación segmentaria del penacho glomerular con adhesión a la cápsula de Bowman.

Tabla 3: Clasificación morfológica de las variantes de la Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria

Tipo	Criterio de inclusión	Criterio de exclusión
GEFS no especifica (NOS)	Esclerosis segmentaria. Puede haber colapso de la pared capilar sin hiperplasia de los podocitos.	Excluye variantes: perihilar, celular, puntual y de colapso.
Variante perihilar	Hialinosis en el polo vascular del glomérulo c/s esclerosis.	Excluye variantes: celular, puntual y de colapso.
Celular	Proliferación endocapilar segmentaria, con o sin cariorexis, a menudo hiperplasia de podocitos	Excluye variantes: puntual y de colapso
Puntual	Esclerosis en los pedicelos, adhesión o confluencia de los podocitos con celular parietales o tubulares en el polo tubular	Excluye las variantes de colapso y perihilar
De colapso	Colapso de los pedicelos con lesión segmentaria o global, hiperplasia e hipertrofia de los podocitos	Ninguna

Tomada de “Practical Application of Columbia Classification for Focal Segmental Glomerulosclerosis”

En lo que respecta a la etiología clínica, subdivide a la GEFS en primaria y secundaria. La GEFS primaria o idiopática, es el resultado de lesiones en los podocitos por factores permeables circulantes (CLC-1 o suPAR) que son la causa del síndrome nefrótico (hipoalbuminemia, hipercolesterolemia y edema periférico), borramiento de los procesos podocitarios y el desarrollo rápido de la insuficiencia renal^{55-57,59}. Por otra parte, en la GEFS secundaria se da el borramiento de los procesos podocitarios segmentales, hay ausencia de síndrome nefrótico pero una respuesta adaptativa estructural-funcional ante las diversas causas etiológicas como los factores genéticos (Genes que codifican proteínas específicas de los podocitos como podocina, α -actina y CD2AP), los virus (Epstein-Barr, VIH y Hepatitis C), las drogas (Heroína, interferones, inhibidores de calcio y esteroides anabólicos) o las enfermedades sistémicas (Hipertensión, Diabetes u Obesidad)^{54,55,57,60}.

1.4 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

La nefrona presenta el aparato yuxtaglomerular, se conforma por un componente tubular; la mácula densa y uno vascular; la arteriola aferente que presenta células mesangiales agranulares y las células mioepiteliales granulares (células yuxtaglomerulares)^{8,15,61}. Ya sea en situaciones fisiológicas (decremento de la liberación de Cl⁻ a la macula densa o estimulación del nervio simpático por la vía β_1 -adrenoreceptores) o patológicas (reducción del volumen sanguíneo), las células yuxtaglomerulares llevan a la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA). Este sistema influye en diversos procesos homeostáticos y moduladores que permiten mantener la estabilidad hemodinámica por la regulación de la presión arterial así como por el balance de agua y electrolitos^{8,62,63}. A nivel periférico, cuando desciende la presión arterial, se da una serie de reacciones intrínsecas en las células yuxtaglomerulares provocando la escisión de prorenina, siendo liberada al torrente sanguíneo su forma activa, la renina^{5,15,61}. En la sangre, la renina cataliza la conversión del angiotensinógeno (Agt) a angiotensina-I (Ang-I), que es transportada hasta los capilares pulmonares donde es escindida por la enzima convertidora de angiotensina (ECA) formando al octapéptido angiotensina II (Ang-II)^{5,15,61,64}.

Las acciones biológicas de Ang-II son mediadas por receptores acoplados a proteínas G de tipo 1 (AT₁) y tipo 2 (AT₂). El receptor AT₁ se encuentra en los elementos vascular, glomerular y tubular del riñón e interviene en la mayoría de los efectos fisiológicos y fisiopatológicos de Ang-II. Esto incluye acciones en el sistema cardiovascular (vasoconstricción e incremento de la presión arterial) renal (reabsorción de sodio tubular e inhibición de la secreción de renina) en el sistema nervioso simpático y en la corteza adrenal (estimulando la síntesis y secreción de aldosterona)^{24,28,63,65,66}. Asimismo, está implicado en el crecimiento y proliferación celular, en la respuesta inflamatoria y en el establecimiento del estrés oxidante. Por otra parte, el receptor AT₂ es menos abundante en etapas adultas y se localiza principalmente en los elementos vasculares. Propicia la vasodilatación y el decremento de la presión arterial por la formación de óxido nítrico. Además, participa en la diferenciación celular, síntesis de colágeno y se ha propuesto que estimula la conversión de prostaglandina E₂ a prostaglandina F_{2 α} ^{28,63,66,67}.

Por otra parte, la función de los órganos está regulada por el sistema renina-angiotensina-aldosterona local o tisular (SRAAs) que actúa de manera paracrina/autocrina^{68,69}. A diferencia del SRAA sistémico, en el SRAA intrarrenal la cascada de señalización se da como consecuencia de la enfermedad renal. La activación del receptor de pro-renina en la células mesangiales se

influenciada por el incremento de la pro-renina sistémica que además promueve la activación de la vía MAPK-ERK⁶⁸⁻⁷⁰. La secreción de renina hacia el túbulo colector es estimulada por la Ang-II a través del receptor AT₁ a diferencia del SRAA sistémico donde la Ang-II inhibe la actividad de la renina. Al escindir la renina al angiotensinógeno proveniente de las células epiteliales del túbulo proximal y secretado al lumen tubular se da la formación de Ang-I y subsecuentemente la formación de Ang-II dentro de la nefrona por la presencia de la ECA en el fluido tubular⁶⁸⁻⁷⁰. De esta manera se establece la activación del sistema SRAAs.

1.5 Disfunción Endotelial

El endotelio es un tejido de origen mesodérmico constituido por una monocapa de células que actúa como barrera física entre la pared de los vasos y el torrente sanguíneo manteniendo la homeostasis, la autorregulación de los tejidos y el tráfico de nutrientes⁷¹⁻⁷⁶. Contribuye al equilibrio local de las moléculas pro y antiinflamatorias así como en la actividad pro y anticoagulante^{72,75,77}. Además, regula el tono vascular y contribuye al control de la presión arterial mediante la producción de moléculas vasoactivas, siendo las vasodilatadoras el óxido nítrico (NO), prostaciclina, bradiquinina, diferentes factores hiperpolarizantes y el péptido natriurético tipo C que actúan inhibiendo sinérgicamente la agregación plaquetaria, al tiempo que estimulan la fibrinólisis. Por otra parte, las sustancias vasoconstrictoras y prooxidantes son la endotelina-1 (ET-1), Ang-II, tromboxano A₂, prostaglandina H₂ y especies reactivas de oxígeno (EROs)⁷²⁻⁷⁸.

Sin embargo, al presentarse alteraciones en el endotelio debido a la disminución en la secreción de los mediadores vasodilatadores con mayor producción de mediadores vasoconstrictores y la resistencia del músculo vascular liso a los vasodilatadores derivados del endotelio conllevan un desequilibrio homeostático conocido como disfunción endotelial^{10,76-78}. Además de denotar una vasodilatación deteriorada, la disfunción endotelial comprende un estado de activación endotelial en respuesta al daño. Se caracteriza por el establecimiento de un proceso proinflamatorio, proliferativo y procoagulante, incrementando la adhesividad de leucocitos y plaquetas, migración de monocitos/macrófagos, producción de citocinas y deposición de lípidos en el espacio subendotelial, así como el crecimiento y migración de la fibra muscular lisa vascular subyacente^{72,75-77}.

Los riñones presentan una de las poblaciones de células endoteliales más diversificadas que contribuyen a las capacidades de transporte diferencial a través de los diversos segmentos de la nefrona⁷⁹. Las lesiones en las células endoteliales glomerulares inducen la pérdida de las cargas

negativas de la superficie, lo que favorece al desarrollo de la albuminuria, la actividad procoagulante y el incremento en la secreción de sustancias vasoconstrictoras.

En patologías severas como la GEFS, aunado a la patología antes descrita, se da la reducción de la tasa de filtrado glomerular y del flujo peritubular, el incremento de la resistencia en la arteriola aferente y eferente, así como el incremento en la presión hidrostática intraglomerular^{80,81}. La retención de sustancias vasotóxicas y/o cambios metabólicos llevan al incremento de factores presentes en el estrés oxidante, inflamación, hipoalbuminemia y dislipidemia que contribuyen al deterioro del endotelio^{72,82}. En conjunto llevan al deterioro de la relajación dependiente del endotelio, como consecuencia de la carente biodisponibilidad de NO causada por el consumo de las EROs⁸³.

1.5.1 Estrés Oxidante

En el proceso del establecimiento de la disfunción endotelial, el óxido nítrico es un importante mediador proinflamatorio y pro-oxidante generado en las células endoteliales por la NO sintasa (NOS), la cual convierte a la L-arginina y oxígeno molecular en L-citrulina y NO a través de diferentes cofactores como tetrahidrobioterina (BH₄), flavina-adenina-dinucleótido, flavina-mononucleótido y la nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADPH)⁸³. Al interactuar con la prostaciclina el NO inhibe la agregación plaquetaria, la unión de neutrófilos a las células endoteliales, así como la expresión de moléculas de adhesión⁸⁴. Sin embargo, esto puede verse afectado como consecuencia de diversas patologías llevando a la activación de NADPH, la xantina oxidasa (XO), ciclooxigenasa, así como el desacople de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), la oxidación de BH₄ y la inactivación del sistema antioxidante (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa) dando el incremento en la producción de las EROs incluyendo los radicales libres anión superóxido (O₂⁻), el radical hidroxilo (OH) y los radicales no libres, peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el ácido hipocloroso (HOCl) y el peroxinitrito (ONOO⁻)^{85,86}. Aunado a esto, el estrés oxidante induce la proliferación celular, hipertrofia, apoptosis e inflamación alterando directamente la función, el tono vascular y la función de la matriz extracelular, dando como resultado la disfunción endotelial⁸³⁻⁸⁶. En estados patológicos como la hipertensión renovascular, el estrés oxidante está asociado con el incremento de Ang-II celular, induciendo la activación de la NADPH oxidasa a través del receptor AT₁, esto promueve la disfunción mitocondrial renal que a su vez produce grandes cantidades de especies reactivas de oxígeno como el superóxido, peróxido de hidrógeno y el peroxinitrito, afectando la integridad de la nefrona^{85,87,88}.

1.5.2 Inflamación

La inflamación es la respuesta protectora ante una lesión o infección que mediante células de la respuesta inflamatoria se identifica el tejido afectado, se realiza el reclutamiento de leucocitos en la zona afectada y se promueve la eliminación del agente ofensivo para poder realizar la reparación del sitio de lesión⁸⁹. En la inflamación crónica el desbalance entre el sistema enzimático de oxígeno con los radicales libres, consecuencia del estrés oxidante y del desequilibrio del sistema renina-angiotensina causa un efecto perjudicial que conduce a la alteración de la pared arterial^{90,91}. Esta alteración en la pared arterial da lugar a cambios como el remodelado vascular y funcional conduciendo a la disfunción endotelial y a la pérdida de la protección contra la aterosclerosis, contribuyendo al daño vascular acelerado en la hipertensión y enfermedad renal^{90,92,93}. La activación de SRAA y sobre todo el incremento de Ang-II provocan el incremento de la permeabilidad vascular al promover la expresión y secreción VEGF (Factor de crecimiento endotelial vascular) que induce la expresión de moléculas adhesivas endoteliales (P y L-selectina), moléculas de adhesión de células vasculares (VCAM-1), moléculas de adhesión intercelulares (ICAM-1) e integrinas^{79,89,94}. Además, durante la inflamación, al unirse Ang-II al receptor AT₁ el reordenamiento del citoesqueleto en células T desencadena la liberación de citocinas (IL-1 β y TNF- α) y quimiocinas específicas a través de la proteína C-reactiva (CRP) en respuesta a IL-6 favoreciendo el reclutamiento de células T en los sitios de inflamación^{23,24,62,89,91,92,94,95}.

1.6 Hipertensión

La enfermedad renal crónica es un problema de salud asociado a la enfermedad cardiovascular y progresión de la insuficiencia renal. La disminución de la tasa de filtrado glomerular y el aumento de la albumina (factores clave de la enfermedad renal crónica) coexisten con los factores de riesgo cardiovascular, siendo la hipertensión la más común^{96,97}. La hipertensión arterial sistémica es una enfermedad crónico-degenerativa, con una presión arterial por encima de los límites establecidos (120/80mmHg) que provoca accidentes cardiovasculares e insuficiencia renal derivada de la disfunción endotelial^{5,98}. En el riñón, la hipertensión renal es el resultado de cambios progresivos como arterioesclerosis, fibrosis cortical, atrofia tubular y glomeruloesclerosis⁹⁸⁻¹⁰⁰. Existen dos patrones de esclerosis glomerular: la obsolescencia y la solidificación^{98,101,102}. La forma predominante de glomeruloesclerosis en la nefropatía hipertensiva es la obsolescencia que se reconoce por el colapso del penacho glomerular y la fibrosis intracapsular⁹⁸. La obsolescencia es el resultado de una perfusión glomerular reducida a consecuencia del estrechamiento

arterioesclerótico de las arterias y las arteriolas preglomerulares^{98,100,102}. La solidificación glomerular se da por la acumulación de la matriz mesangial y la expansión del penacho glomerular que se relaciona con la hiperfiltración secundaria⁹⁸.

1.7 Fibrosis

Dado que, los riñones desempeñan un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis a través de diferentes estructuras como son los glomérulos, el sistema tubular y el intersticio; las lesiones causadas por factores como la hipertensión pueden propiciar lesiones en cualquiera de estos sitios dando una alteración del equilibrio fisiológico¹⁰³. Al presentarse el daño sostenido y como consecuencia la inflamación crónica, se promueve la fibrosis renal progresiva¹⁰⁴ mediante la sustitución del tejido funcional por proteínas de la matriz extracelular en el compartimiento intersticial así como la acumulación de colágeno (tipo I y III), elastina, fibronectina, laminina, heparan y perlecan, la pérdida de redes capilares y la activación de miofibroblastos y células inflamatorias, propiciando el remodelado vascular y la formación de cicatrices^{92,103-110}. Además, se da la muerte de células epiteliales tubulares lo que conduce a una reducción en la expresión de los marcadores epiteliales y el incremento en la expresión de los marcadores mesenquimales¹⁰⁶.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona tiene una participación en la patogénesis y progresión de la fibrosis renal al controlar la producción de mediadores profibróticos como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y las EROs^{109,111,112}. TGF- β presenta la isoforma TGF- β 1, la cual en su forma activa es liberada mediante la escisión proteolítica de la matriz extracelular, uniéndose al receptor TGF- β IIIR e inicia rutas señalización independientes y dependientes del sistema de transcripción Smad¹¹⁰⁻¹¹³. La fosforilación del complejo Smad2/3 con Smad4 se transloca en el núcleo modulando la transcripción de diversos genes que codifican a proteínas en la matriz extracelular incluyendo las de colágeno y fibronectina dando como resultado la fibrosis renal progresiva al estimular la síntesis de la matriz extracelular y evitando su degradación^{110,113}. Asimismo TGF- β 1 es un potente quimioatrayente de células de linaje macrófago/monocito y junto con las quimiocinas MCP-1, MIP-1 y MIP-2, que participan en el reclutamiento de células inflamatorias¹¹¹. Sin embargo, la vía de Smad puede ser activada por diversas moléculas como los productos finales de glicación (AGEs), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK), especies reactivas de oxígeno y quimiocinas, todas ellas involucradas en el progreso de la disfunción endotelial, inflamación y fibrosis^{110,112}. Además de la activación de Smad, TGF- β 1

activa diversas vías de proteína cinasa activadas por nitrógenos, como la vía de cinasas reguladas por señales extracelulares (ERK), p38 MAPK y la vía de cinasas c-Jun-N-terminal (JNK). Estas cascadas de señalización promueven aún más la señalización de Smad, así como la diferenciación, proliferación y apoptosis¹¹³.

1.8 Epidemiología de la Enfermedad Renal Crónica

En los últimos años la incidencia y prevalencia de pacientes con enfermedad renal crónica han incrementado debido a cambios demográficos y a la falta de reconocimiento de la enfermedad en etapas tempranas convirtiéndose en un problema de salud pública a nivel mundial¹¹⁴.

Actualmente no hay un registro nacional en México sobre la incidencia y prevalencia de la ERC, sin embargo, se han realizado diversos estudios que permiten tener un panorama de la enfermedad¹¹⁵. Obrador, *et al.* 2010, reportó un estudio de 106 pacientes con daño renal preexistente, dando seguimiento a la enfermedad, 39% permanecieron en el mismo estadio, 7% progresaron a un estadio más avanzado, 7% regresaron a un estadio menos avanzado y 47% no presentaron dicha enfermedad¹¹⁵. Estudios realizados por Valencia y colaboradores (2014) durante siete años en el Hospital General Regional 46 del IMSS, encontraron que la GEFS es la glomerulopatía primaria más común en pacientes del occidente de México, siendo el sexo masculino el más propenso al desarrollo de la ERC¹¹⁴. En el 2015 Torres-Toledano y colaboradores realizaron un estudio con un enfoque de la carga global de la enfermedad, reportando que la incidencia de la ERC aumentó 108.28% en comparación con los casos reportados en 1990 y el número de muertes en ambos sexos incrementó 11.18-16.75 por cada 100,000 habitantes, siendo las principales causas de desarrollo de la ERC la diabetes mellitus y la hipertensión arterial sistémica¹¹⁶. Además, reportes del Instituto Nacional de Estadística y Geografía establecen que la edad en México con prevalencia en el desarrollo de la ERC en ambos sexos es de 55 a 65 años, siendo la Ciudad México, Veracruz, Puebla, Guerrero y Morelos los estados con mayor incidencia de muertes, ocupando el lugar 11^{vo} de causas de muerte en México¹¹⁶.

1.9 Tratamientos Farmacológicos de la Enfermedad Renal Crónica

Los actuales tratamientos para la enfermedad renal crónica tienen como objetivo retrasar la progresión de la enfermedad renal hacia la etapa terminal. Sin embargo, debido a que los primeros estadios de la ERC son asintomáticos el poder dar un tratamiento efectivo para el paciente es limitante debido a que está basado en la detección de pruebas de laboratorio, siendo tardía su prevención. Debido a que los principales factores que llevan al desarrollo de la ERC son la

hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares, medicamentos como captopril, enalapril y fosfonopril, actúan como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y están enfocados en disminuir la presión arterial elevada. Otro tipo de medicamentos como el azilsartan, valsartan y losartán actúan como bloqueadores de los receptores de angiotensina II, permitiendo que los vasos sanguíneos se relajen y ensanchen permitiendo la reducción de la presión arterial. En personas con diabetes se debe controlar la glicemia para reducir la progresión de la enfermedad renal. En cualquiera de los casos se debe restringir dietas ricas en proteínas para evitar la acidosis metabólica y el incremento de ácido úrico.

En estadios avanzados de la ERC se debe atender el desarrollo de la glomeruloesclerosis mediante diversas terapias enfocadas en el tratamiento. En lo que respecta a la GEFS primaria, inicialmente se administran glucocorticoides (prednisona); son un tratamiento estándar que ejerce diferentes mecanismos de acción sobre citocinas (IL-6 e IL-8) y factores de crecimiento (VEGF y TGF- β), contribuyendo a la reducción de la proteinuria. Sin embargo, los polimorfismos funcionales en los receptores de los glucocorticoides codificados por NR3C1 se han asociado a recaídas en los pacientes dando como resultado la ausencia de remisión generando una resistencia a esteroides¹¹⁷. Es por ello, que los inhibidores de calcineurina (ICN), ciclosporina (CsA) y tacrolimus (TAC) se consideran una segunda línea de tratamiento a alta dosis para pacientes dependientes de esteroides, con resistencia a esteroides o con contraindicaciones de tratamiento con esteroides¹¹⁸⁻¹²⁰. Los ICN presentan un efecto dual sobre los podocitos teniendo una acción inmunosupresora mediante la inhibición del factor nuclear de células T activadas (NFAT), indispensable en la transcripción de IL-2 y la activación de células T. Además, bloquean la desfosforilación de sinanptopodina, esencial en la integridad del citoesqueleto de los podocitos y decremento de la proteinuria¹¹⁸⁻¹²⁰. Por otra parte, la ciclosporina A se considera un agente inmunosupresor para el tratamiento de nefrosis, incluyendo la GEFS. Su eficacia depende de la respuesta previa que tengan los pacientes hacia los esteroides, ya que la combinación de esteroides con CsA mejoran la respuesta y disminuyen la toxicidad, mejoran la remisión tanto en niños como en adultos reduciendo la proteinuria¹²⁰. Sin embargo, el tratamiento a tiempos prolongados conlleva a problemas de nefrotoxicidad¹²¹. En lo que respecta al tacrolimus, es otro inmunosupresor alternativo a las ciclosporinas, administrado a dosis más bajas, con una remisión por arriba del 81% y descendiendo la proteinuria hasta en un 8%^{121,122}. Los problemas asociados a la administración de tacrolimus son similares a los efectos

causados por la ciclosporinas, como la alta incidencia de recidivas al suspender el medicamento y riesgo de nefrotoxicidad¹²¹.

Dada la multiplicidad etiológica de la GEFS secundaria, el tratamiento debe orientarse en función de su causa (Genético, asociado a virus o enfermedades sistémicas)¹²¹. Un tratamiento viable son los medicamento que bloquean el sistema renina-angiotensina, como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o los antagonistas de los receptores de angiotensina-II (ARA II), que contrarrestan las alteraciones hemodinámicas y profibróticas, reducen la proteinuria, siendo efectivo para pacientes con insuficiencia renal crónica^{121,122}. Losartán fue el primer antagonista del receptor de Ang-II, actuando competitiva y selectivamente sobre el receptor AT₁ impidiendo los efectos fisiológicos inducidos por Ang-II y disminuyendo la hipertensión¹²³.

2. Antecedentes

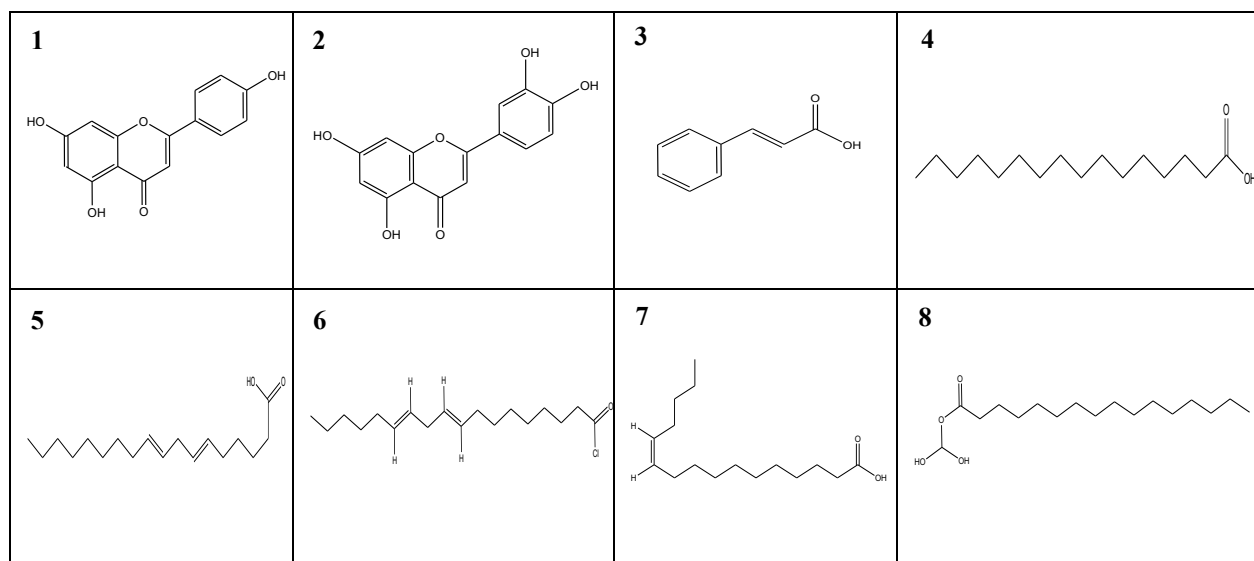
Sechium edule es una planta herbácea, trepadora, perenne perteneciente a la familia Cucurbitácea, endémica de la zona sur de México (Veracruz, Puebla y Oaxaca) que ha sido domesticada y cultivada para propósitos alimenticios¹²⁴⁻¹²⁶.

Taxonomía	
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Curcubitales
Familia	Cucurbitaceae
Género	<i>Sechium</i>
Especie	<i>Sechium edule (Jacq) Sw</i>

Se emplea en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de diversos padecimientos como el dolor de cabeza, nerviosismo y ansiedad, mediante la decocción de las hojas¹²⁵. Se ha reportado el uso empírico de las partes aéreas de esta planta para el tratamiento de desórdenes renales como inflamación de la uretra y cálculos renales, así como para disminuir la presión arterial, tratar la arterioesclerosis y las varices^{124,125}.

En diversos estudios se menciona los beneficios de diferentes extractos obtenidos de *S.edule*. Lozoya (1980) demostró que la administración del extracto acuoso e hidroalcohólico de las partes áreas y semillas de *S. edule* presentan actividad vasodilatadora. Siciliano y colaboradores (2004) reportaron que la raíz de *S. edule* presenta flavonoides, como la apigenina (1) y luteolina (2), los

cuales están relacionados con efectos vasorrelajantes^{124,126,127}. Lombardo (2006) observó que el EHrSe presenta un efecto antihipertensivo. Asimismo, estudios realizados en el laboratorio mostraron que la fracción acetónica de la raíz de *S. edule* presenta como compuesto mayoritario al ácido cinámico (3) siendo corroborado mediante resonancia magnética nuclear y cromatografía de gases-masas. Además, se identificó y reportó al ácido palmítico (4), ácido linoleico (5), cloruro de ácido linoleico (6), 11-Z-ácido hexadecenoico (7) y 2-palmitoilglicerol (8) en este extracto¹²⁸.



Dado que, estudios indican que *S. edule* posee un efecto sobre los desórdenes renales probablemente debido a que contiene diferentes polifenoles. En el laboratorio se evaluó si debido a su efecto antiinflamatorio, el extracto metanólico y acetónico de *S. edule* podían reparar el daño tisular y controlar la inflamación resultante de la hipertensión. Para esto, animales hembras C57BL/6 se administraron vía intragástrica por 10 semanas con diferentes tratamientos (PBS, Carboximetil celular, Losartán, Extracto metanólico y Extracto acetónico de *S. edule*) al mismo tiempo que fueron administrados vía intraperitoneal con Ang-II (0.01µg/Kg). Los animales administrados con los extractos de *S. edule* mostraron un efecto antihipertensivo, generaron la restauración tisular y actuaron sobre el estado inflamatorio a nivel sistémico y local¹²⁶⁻¹²⁸. Dado que, Trejo y colaboradores reportaron la presencia de compuestos sin identificar, en este estudio se pretende realizar la elucidación estructural de los compuestos del EHrSe.

3. Justificación

Aunque existen tratamientos farmacológicos para el control de la enfermedad renal crónica, estos no presentan un efecto protector contra el daño tisular producido por la enfermedad. Estudios previos realizados en un modelo murino de disfunción endotelial inducido por la aplicación crónica de angiotensina-II, indicaron que dicho extracto es altamente eficiente para el control de esta enfermedad. Además, se observó que el ácido cinámico es la que molécula que se encuentra en mayor proporción en el extracto acetónico (eficiente para el control de la hipertensión, inflamación y estrés oxidante). Sin embargo, es probable que el conjunto de moléculas que conforman el extracto sean los responsables del control del daño. Por otra parte, la administración de extractos vegetales acetónicos en personas no es del todo aceptada, por lo que es necesaria la estandarización del EH con base en varios de sus principios activos para que la dosis administrada contenga una concentración conocida del conjunto de moléculas parecida a la dosis administrada de extractos orgánicos activos.

A partir de esto, surge la pregunta de investigación que rige este proyecto, ¿El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* estandarizado en sus principios activos tiene actividad nefroprotectora?

4. Hipótesis

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* estandarizado en ácido cinámico, tiene actividad nefroprotectora en un modelo murino con enfermedad renal crónica, secundaria a disfunción endotelial

5. Objetivo General

Evaluar la actividad nefroprotectora del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* estandarizado en ácido cinámico en un modelo murino con enfermedad renal crónica, secundaria a disfunción endotelial.

6. Objetivos Particulares

- I. Estandarizar el extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* en ácido cinámico.
- II. Evaluar el efecto del EHRSeE sobre el daño renal.

III. Evaluar la actividad antiinflamatoria del EHrSeE asociada al daño renal.

7. Materiales y Métodos

7.1 Obtención del Extracto Hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule*

La raíz de *Sechium edule* (60 kg) se obtuvo en la localidad de Cuautlapan perteneciente al municipio de Ixtaczoquitlán, Veracruz (DMS: 18°53'05.1''N 97°00'57.6''W). Se sometió a un lavado con agua para eliminar las impurezas y posteriormente se trasladó al Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS) donde se secó en condiciones de oscuridad a una temperatura de 70°C con recirculación de aire durante 24-36 horas. Subsecuentemente se realizó la molienda del material vegetal hasta alcanzar un tamaño de partícula aproximadamente de 3cm. El material molido (10 kg) se sometió a una extracción por maceración en 60% etanol – 40% agua (12 litros de la mezcla) durante 24 horas a temperatura ambiente. Posteriormente se filtró y se concentró por destilación a presión reducida en un evaporador rotatorio a 56°C. Para el secado completo, el extracto fue liofilizado por 24hrs obteniendo un rendimiento del 7.12%. Finalmente, el producto fue almacenado a 4°C hasta su uso.



Figura 4. Planta de *Sechium edule*, Cuautlapan, Veracruz.

7.1.1 Extracción líquido-líquido del Extracto Integro

Para realizar el fraccionamiento de los compuestos químicos presentes en el extracto integro se realizó un proceso de bipartición usando una mezcla heterogénea de acetato de etilo/agua (10 gr de extracto, 1L de agua, 1L de acetato de etilo). Se utilizó nuevamente el proceso de destilación a presión reducida para la eliminación del disolvente de la fase orgánica. En el caso de la fase acuosa, el agua de esta fracción fue eliminada por rota-evaporación y liofilización. Las dos fracciones resultantes fueron almacenadas a -4°C hasta su utilización.

7.1.2 Fraccionamiento químico de la F-AcOEt

El proceso de separación química de los compuestos presentes en el EHrSe fue realizado mediante procesos sucesivos de cromatografía de líquidos en columna abierta (CCA). Se utilizaron como fase estacionaria silica gel 60 0.063-0.200 mm (fase normal, Merck) para la separación de los compuestos poco polares y silica fase reversa POLYGOPREP 60-50 C18 (fase reversa, MACHEREY-NAGEL) para separar los compuestos más polares. En el caso de las cromatografías de fase normal se utilizó un sistema de gradiente hexano/acetato de etilo iniciando con 100% hexano y terminando con acetato de etilo. Para las columnas de fase reversa la fase móvil consistió en una mezcla agua/acetonitrilo iniciando con 100% de agua y finalizando con acetonitrilo. En todos los casos se utilizó la cromatografía de capa fina (CFF) de fase normal (Silica gel 60 F254, Merck) y fase reversa (Silica gel 60 RP-18 F254S, Merck) para el seguimiento de cada una de estas separaciones químicas. La detección física de los compuestos presentes en cada alícuota fue mediante la exposición de la placa en una cámara oscura provista de una lámpara UV de 254/365nm. Para la detección química, se utilizaron reveladores comerciales de sulfato cérico, 4-hidroxibenzaldehído y reactivo de productos naturales¹²⁹.

En la tabla 4, se presenta un resumen del sistema de gradiente de la columna 1 en la que se separó la fracción de acetato de etilo mediante una columna de fase reversa.

Tabla 4. Proceso Cromatográfico de la Fracción de Acetato de Etilo		
Reunión	Fracciones	Sistema de Elusión
C1F1-2, C1F3-4, C1F5-6	1-6	100:0 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F7-8, C1F9-10, C1F12-14	7-14	95:5 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F15-16, C1F17-20	15-21	90:10 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F21-23, C1F24-27	22-27	85:15 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F28-29, C1F30-31, C1F32-33	28-34	80:20 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F35-36, C1F37-39	35-41	75:25 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F41-43, C1F44-45, C1F46-47, C1F48-51	42-52	70:30 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F52-54, C1F55-56, C1F58-60	53-60	50:50 H ₂ O-C ₂ H ₃ N
C1F61-62, 63, 63	61-64	0:100 H ₂ O-C ₂ H ₃ N

La fracción 61-64 fue fraccionada en una siguiente columna abierta de fase normal utilizando como fase móvil el sistema de gradiente descrito en la tabla 5.

Tabla 5. Proceso Cromatográfico de la Fracción 61-64		
Reunión	Fracciones	Sistema de Elusión
C2F1-6	1-3	100:0:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F7-8, C2F9, C2F10, C2F11-12, C2F13	4-13	95:5:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F14-15, C2F16-17	14-19	90:10:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F18-27	20-26	85:15:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F28-35	27-32	80:20:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F36-41	33-39	75:25:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F42-43	40-46	70:30:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F44-48, C2F49	47-52	60:40:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F50-57, C2F58-62	53-60	50:50:0 nHex-AcOEt-MeOH
C2F63-65, C2F67-68	61-67	50:50:0.5 nHex-AcOEt-MeOH
C2F69-71, C2F72-75	68-73	50:50:1 nHex-AcOEt-MeOH
C2F76, C2F77-79	74-79	50:50:2 nHex-AcOEt-MeOH

7.1.3 Purificación del Extracto Integro

Para determinar los componentes presentes en el extracto integro se pesaron 4.2 gramos del EHrSe y se realizó una cromatografía en columna abierta de fase normal como a continuación se describe.

Tabla 6. Proceso Cromatográfico del EHrSe		
Reunión	Fracciones	Sistema de Elusión
C3F1-6	1-3	100:0:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F7, C3F8	4-8	95:5:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F9-10, C3F11-12	9-12	90:10:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F13, C3F14-16	13-17	85:15:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F17-19, C3F20-24	18-22	80:20:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F25, C3F26-27, C3F28-32	23-32	70:30:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F33-35, C3F36-40, C3F41	33-41	60:40:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F42-44, C3F45, C3F46, C3F47-49	42-48	50:50:0 nHex-AcOEt-MeOH
C3F50-52, C3F53, C3F54-57	49-55	50:50:0.5 nHex-AcOEt-MeOH
C3F58-64	56-60	50:50:1 nHex-AcOEt-MeOH

C3F65, C3F66, C3F67-69, C3F70-71, C3F72	61-73	50:50:3 nHex-AcOEt-MeOH
C3F73-77, C3F78, C3F79-81	74-80	50:50:3 nHex-AcOEt-MeOH
C3F82-85	81-85	0:0:100 nHex-AcOEt-MeOH

7.1.4 Análisis CLAR

Para llevar a cabo el análisis cromatográfico de alta resolución del extracto integro y las fracciones obtenidas tanto de la bipartición como de las cromatografías en columnas abiertas, se utilizó un equipo de HPLC marca Waters con módulo de separación 2695 y módulo de detección (PDA) 2996, con un programa de corrida en el cual se mantuvo el degasificador encendido, detector de burbujas activado. Para la separación química se utilizó una columna SUPELCO ANALYTICAL SUPELCOSIL LC-F cat 59158 25*4.6mm con partículas de 5µm. El equipo fue programado para manejar presiones de hasta 5000psi para el adecuado cuidado de la columna. La fase móvil consistió en una mezcla de disolventes separados en líneas independientes de **a)** agua acidulada (agua con ácido trifluoroacético, es decir, por cada 1000ml agua/5 ml de TFA) y **b)** acetonitrilo (ACN). El gradiente fue ajustado de la siguiente manera: 0-1 min, 0%, 2-3 min, 5%, de 4-20 min, 30%, 21-23 min, 50%, 24-25, 80%, 26-27 min, 100% y de 28-30 min, 0%. Los cromatogramas fueron observados mediante el programa Empower 3 a un rango de longitud de onda 190-600 nm, determinando la presencia de compuestos por su tiempo de retención y espectro UV. Las muestras fueron inyectadas a un volumen de 10 µl de muestra por corrida, todas las alícuotas fueron disueltas con metanol grado analítico. Se emplearon referencias comerciales de ácido cinámico y ácido cumárico como estándares.

7.1.5 Curva de Calibración del Ácido Cinámico

Para la preparación de la curva patrón de ácido cinámico (Sigma Aldrich, Inc) se preparó una concentración inicial de 1mg/ml de este fenilpropanoide en metanol y a partir de esta solución se tomó una alícuota para realizar las sucesivas diluciones y conseguir las concentraciones deseadas: 1.562 µg/ml, 3.12 µg/ml, 6.25 µg/ml, 12.5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml. Cada una de estas muestras fue inyectada en el equipo de HPLC por triplicado y los cromatogramas obtenidos fueron observados a una longitud de onda de 280nm, se integró el área bajo la curva de cada pico obtenido (R_T 12.00) para generar la ecuación $y = mx + b$ ($y = 1945.6x - 461.88$) considerando como adecuado un $R^2 > 0.98$. Además, se inyectó el EHRSe (300µg/ml) y de la fracción acetónica (300 µg/ml) para determinar el área bajo la curva. Con base en la cantidad de ácido cinámico presente

en la fracción acetónica, obtenida a partir de la ecuación de la recta se determinó la dosis a administrar del EHrSe. Esta cuantificación del ácido cinámico se determinó como mg de compuesto por gramo de extracto.

7.1.6 Elucidación Estructural de los Compuestos Aislados

Para el análisis y elucidación de los compuestos de menor polaridad presentes en la muestra del EHrSe se realizó cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masas. Las muestras fueron previamente liofilizadas, etiquetadas para su identificación y llevadas al laboratorio de CG-MS del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) donde se realizó el estudio indicando como estructura química probable compuestos de tipo esteroides, terpenos y ácidos grasos, siendo soluble la muestra en cloruro de metileno y/o cloroformo. Para la identificación de los compuestos se realizó el análisis de los patrones de fragmentación que fueron comparados con los patrones de fragmentación reportados en la literatura.

7.2 Animales de Experimentación

Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6J (Bioterio de la Facultad de Medicina, UAEM) con peso de 19-21 gramos. Los animales se mantuvieron con alimento y agua *ad libitum* con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas. Los procesos experimentales se apegaron a las reglas establecidas por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina, UAEM.

7.3 Grupos Experimentales

Los ratones se agruparon de acuerdo con el tratamiento que recibieron como se muestra en la Tabla 7. Los tratamientos fueron administrados vía intragástrica durante 10 semanas, aunado a la aplicación crónica de Ang-II (0.01µg/kg) vía intraperitoneal.

Tabla 7. Grupos Experimentales

Tratamiento	Control (-)	Ang-II (0.01µg/Kg)	Losartán (10 mg/Kg)	EHrSe (11 mg/Kg)
Con Ang-II	-	✓	✓	✓
Sin Ang-II	✓	-	-	-

7.4 Pruebas Bioquímicas para el análisis de los parámetros de función renal

Para determinar la concentración de los parámetros renales en suero, se utilizaron los kits para creatinina (Método de Jaffe modificado, Química Clínica Aplicada S.A. Ref. 998891), urea (Método Berthelot-Searcy, Química Clínica Aplicada S.A. Ref. 993648), ácido úrico (Método Uricasa POD,

Química Clínica Aplicada S.A. Ref. 994022) y albúmina (Método Vede bromocresol, Química Clínica Aplicada S.A. Ref. 997258). Siguiendo las instrucciones del fabricante, para determinar la concentración de creatinina, en placas de 96 pozos (Nunc-Inmuno Plate, Maxisorp, Rosekilde, Demark) se colocó 20µl de suero seguido de 200µl de la mezcla de reactivo A (ácido picrico) y B (disolución alcalina). La lectura de densidad optica se realizó en un lector de ELISA (VERSAmax Molecular Devices) a los 20 y 80 segundos cuantificando picrato alcalino de creatinina a una longitud de onda de 510nm. Para determinar la absorbancia se empleó la fórmula:

$$\Delta Abs = Abs_{80seg} - Abs_{20seg}$$

$$\frac{\Delta Abs_{PR}}{\Delta Abs_{ST}} \times 2 = mg \text{ creatinina}/dl$$

Para determinar la concentración de urea, en placas de 96 pozos, se colocó 1µl de suero seguido de 100µl del reactivo A (urea/salicilato disuelto en agua desionizada) dejando incubar por 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se colocó 100µl del reactivo B (hipoclorito alcalino disuelto en agua desionizada) dejando incubar por 5 minutos a temperatura ambiente. Se cuantifico la hidrólisis de urea por ureasa obteniendo iones amonio y carbonato a una longitud de onda de 578nm. Para determinar la absorbancia se empleó la fórmula:

$$\frac{Abs \text{ Pr}}{Abs \text{ ST}} \times 40 = mg/dl \text{ urea}$$

Para determinar la concentración de ácido úrico, en placas de 96 pozos se colocó 4µl de suero seguido de 200µl del reactivo color (uricasa) y se dejó incubar por 10 minutos a 37°C. Se cuantificó la degradación de ácido úrico con uricasa a alantoina con liberación de agua oxigenada a una longitud de onde de 546nm. Para determinar la absorbancia se empleó la fórmula:

$$\frac{Abs \text{ Pr}}{Abs \text{ ST}} \times 5 = mg \text{ de } \acute{a}c. \acute{u}rico/dl$$

Para determinar la concentración de albúmina, en placas de 96 pozos se colocó 1µl de suero seguido de 250µl del reactivo color (verde bromocresol) dejando incubar por 5 minutos a temperatura ambiente. Se cuantificó la combinación de albúmina con el verde bromocresol a una longitud de onda de 600nm. Para determinar la absorbancia se empleó la fórmula:

$$\frac{Abs Pr}{Abs ST} \times 5 = g \text{ de albumina/dl}$$

7.5 Histopatología

Al término de 11 semanas, los ratones fueron anestesiados con pentobarbital (30 mg/kg i.p) y se realizó una perfusión con PBS frío (NaCl 140 mM, KCl 2 mM y K₂HPO₄ 1.15mM). Los riñones fueron removidos y fijados en una solución Zamboni (formaldehído 2.0%, ácido pícrico 0.2%, pH 7.0). Posteriormente los tejidos fueron deshidratados y embebidos en parafina para realizar cortes de 3-5µm, los cuales fueron transferidos a portaobjetos recubiertos con poli-L-lisina previo a desparafinarlos y rehidratarlos. Para los estudios histopatológicos, se realizó la tinción de PAS azul, Hematoxilina-Eosina (HE), Tricromica de Masson (TM) y Tinción de Jones (TJ).

7.6 Detección de citocinas por ELISA

Para la cuantificación del ambiente de citocinas, los riñones fueron macerados en un mortero con PBS-PMSF (0.1%) 1:5 p/v. La suspensión se centrifugó y se recuperó el sobrenadante el cual se congeló a -20°C hasta su uso. Se utilizaron diferentes kits ELISA para determinar la concentración de citocinas, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se utilizarán los kits: Mouse IL-1 BD OptEIA™ ELISA kit, Mouse IL-6 BD OptEIA™ ELISA kit, Mouse TNF BD OptEIA™, siguiendo las instrucciones descritas por los fabricantes. Brevemente, las placas de ELISA de 96 pozos de fondo plano se cubrieron con los anticuerpos de captura para IL-1 o IL-6 o TNF y se incubaron toda la noche a 4°C. Posteriormente se realizaron tres lavados con PBS-Tween 20 (0.05%) y se bloquearon durante 30 minutos a temperatura ambiente con PBS-SFB 5% repitiendo los lavados. Las placas se incubaron por dos horas con las muestras de riñón o anticuerpos estándares a temperatura ambiente. Después se lavaron 5 veces y se incubaron con los anticuerpos de detección correspondientes acoplados a la enzima HRP por 30 minutos a temperatura ambiente. Se realizaron 7 lavados con PBS-Tween 20, posteriormente se agregó el sustrato TMB y se incubaron durante 30 minutos en oscuridad. Al término de la incubación se agregó H₂SO₄2N para detener la reacción y realizó la lectura de la placa a una longitud de onda de 450nm a 37°C.

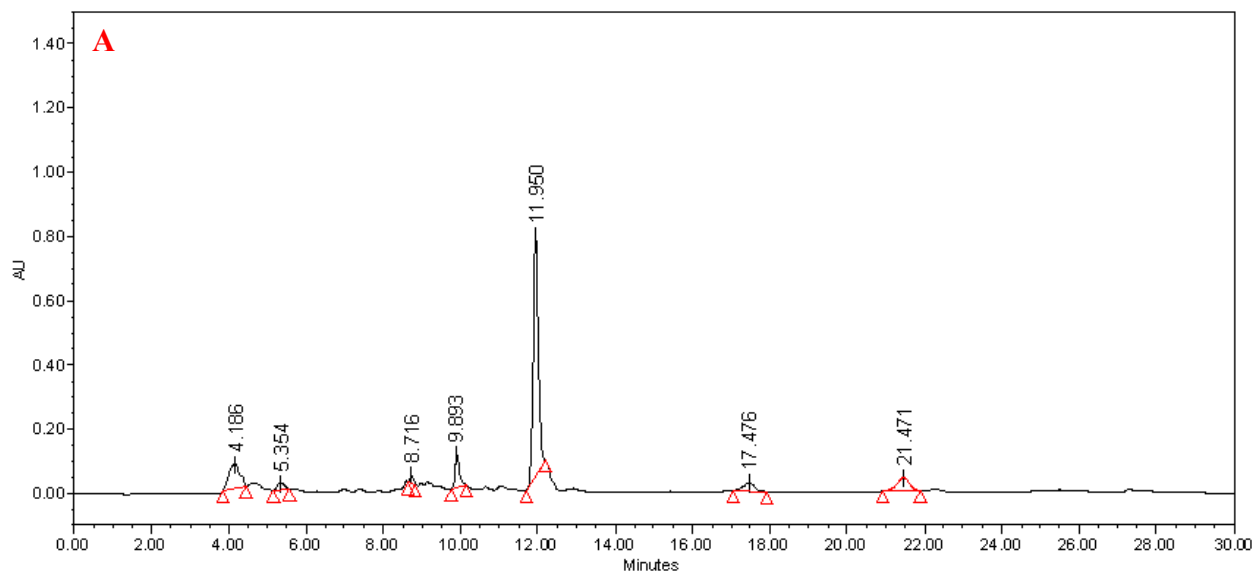
7.7 Estadística

Se utilizó la prueba estadística Anova de una vía, seguido de la prueba de comparación Tukey para conocer las diferencias entre grupos utilizando el programa GraphPad Prism 6 para Mac. Se consideró como mínimo $p \leq 0.05$.

8. Resultados

8.1 Identificación del Ácido Cinámico

En estudios previos se demostró que la dosis de 10 mg/kg de la fracción acetónica de la raíz de *Sechium edule* fue eficiente para combatir el daño renal inducido por la aplicación crónica de Ang-II (0.1µg/kg) durante 10 semanas en la cepa de ratón C57BL6¹²⁸. Sin embargo, en humanos no es factible la administración de fitofármacos basados en extracciones con acetona, cosa que no sucede con el extracto hidroalcohólico¹³⁰. Con la intención de evaluar el extracto hidroalcohólico en el mismo modelo murino, se compararon los tiempos de retención (TR) de la FArSe (Fig.5A) con los tiempos de retención del EHrSe (Fig.5B). Resultando el mismo pico en ambos casos, pero con una menor concentración en el extracto integro y una mayor concentración en la fracción de acetato de etilo.



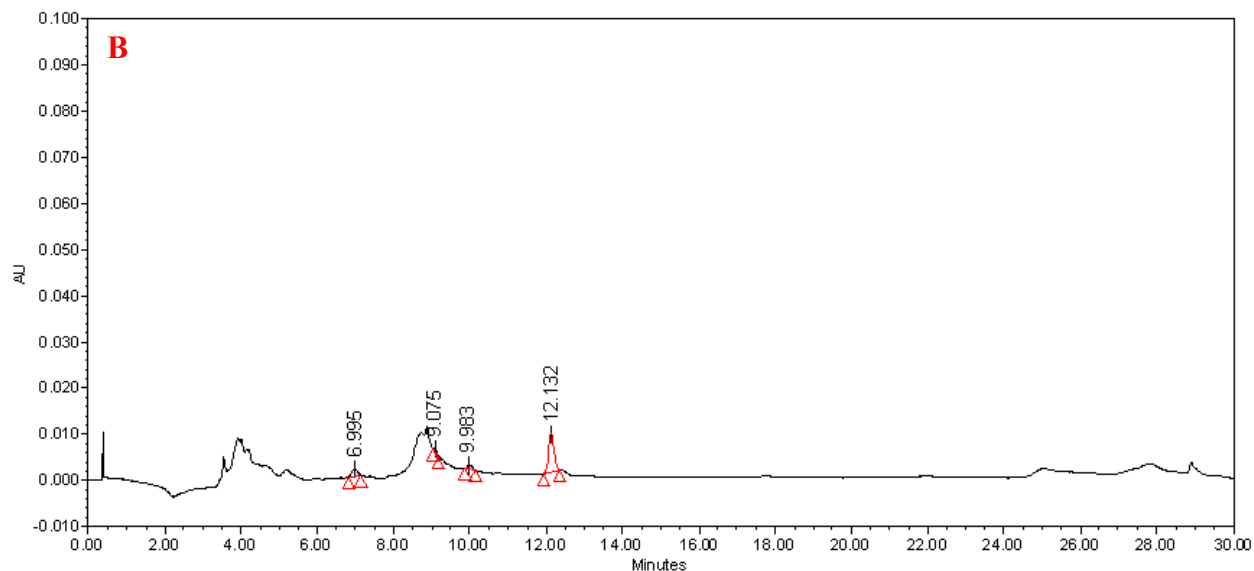
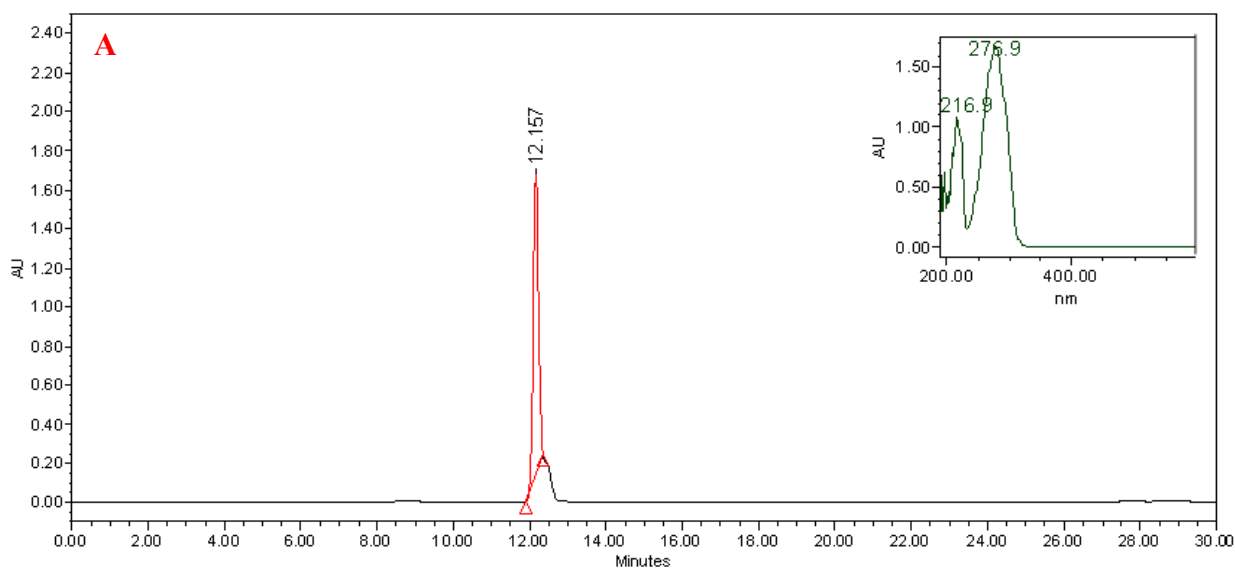


Figura 5. Cromatograma **A)** de la FAErSe, **B)** del EHRSe, la lectura se realizó a una $\lambda = 290$ nm

El análisis de una referencia comercial de ácido cinámico (Sigma Aldrich, Inc) permitió verificar que estos picos corresponden con este fenilpropanoide (Fig. 6A). Este resultado fue verificado con el espectro UV tanto del ácido cinámico comercial como el del EHRSe y ambos presentaron absorbancia de 216.9 y 276.9nm para esos picos (Fig. 6B). Es importante mencionar que además del ácido cinámico se observaron compuestos con mayor polaridad a los T_R **6.95**, **9.075** y **9.98** minutos.



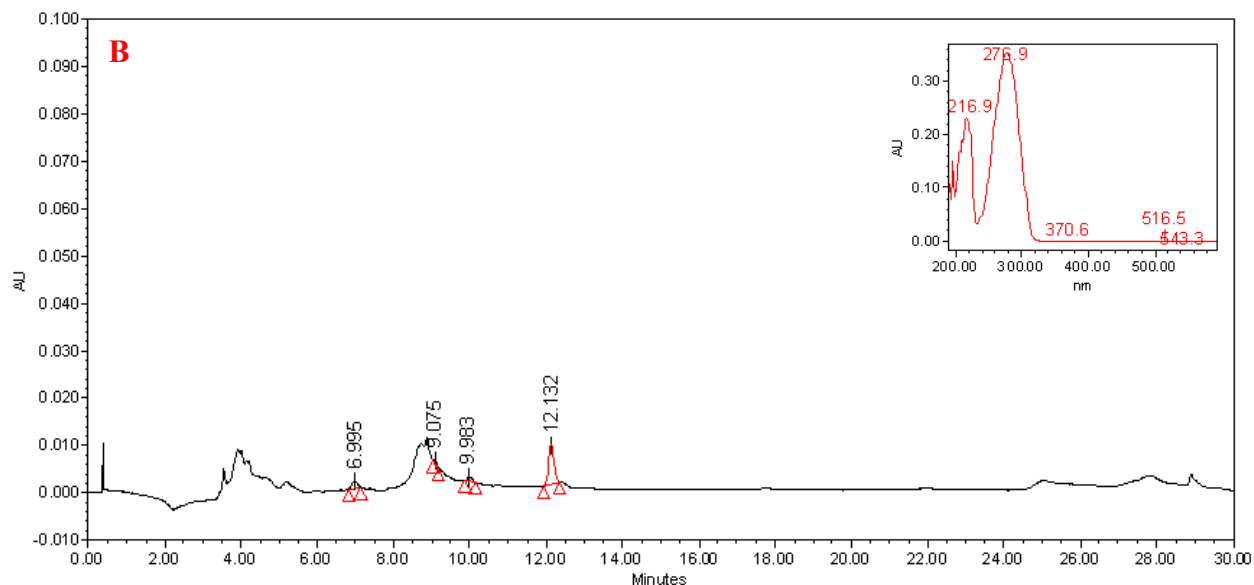


Figura 6. Cromatograma de CLAR del estándar de ácido cinámico B) Cromatograma de CLAR del EHrSe. Fueron observados 290nm. Se muestra el espectro de absorción de UV del ácido cinámico.

8.2 Estandarización del EHrSe: 11 mg/Kg

En los estudios de Trejo y colaboradores¹²⁸ la dosis administrada de la FAErSe en el modelo biológico fue de 10mg/kg. Sin embargo, para tener la cantidad (mg/kg) específica del ácido cinámico en la dosis a administrar, estos requirieron ser estandarizados.

Para la estandarización del EHrSe se consideró como compuesto referencia al ácido cinámico presente en la FAErSe y que también se observó en el extracto hidroalcohólico. Se realizó una curva patrón de ácido cinámico (Sigma Aldrich, Inc) por CLAR cuantificando la concentración de este compuesto utilizando la ecuación de la recta. En la FAErSe se obtuvo una concentración de ácido cinámico de 161 μ g, mientras que en el EHrSe se obtuvo una concentración de 141.76 μ g. Con base en la concentración de ácido cinámico de la FAErSe que está a una dosis de 10mg/kg, para tener la misma concentración de ácido cinámico en el EHrSe se obtuvo la dosis de 11mg/kg (Fig.7).

Disoluciones Patrón	
Concentración µg ácido cinámico	Área Bajo la Curva
1.562	2839.4
3.125	6219.6
6.25	10754.89
12.5	24109.17
25	48084.28
50	98379.71
100	193408.88
Concentración µg EHRSe	Área Bajo la Curva
300	82283.78

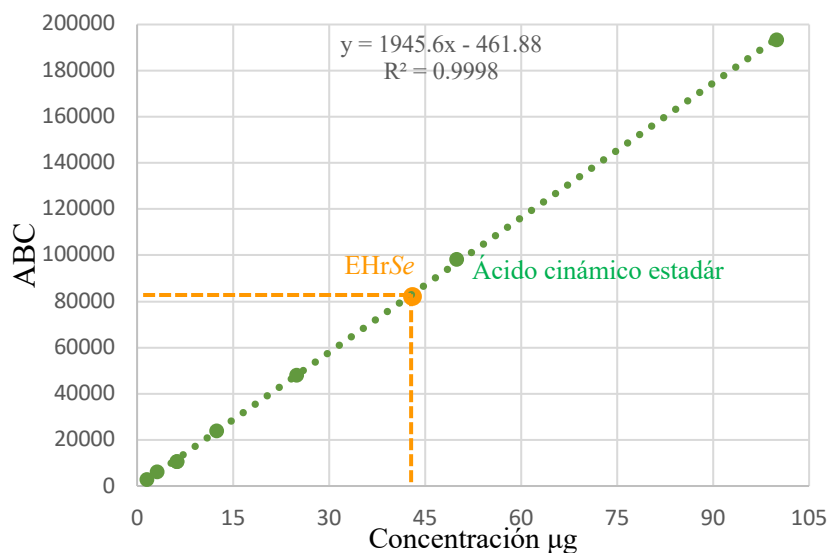


Figura 7. Curva patrón para la determinación de la dosis terapéutica del EHRSe.

8.3 Perfil Químico de la Fracción Activa

Tomando en cuenta que además del ácido cinámico, el extracto también contiene otros compuestos cuyos tiempos de retención están entre los 8-11 minutos (Figura 6), se realizó el fraccionamiento químico por cromatografía en columna abierta fase reversa (Agua:Acetonitrilo) (C1), obteniendo 64 muestras que fueron comparadas por CCF y analizadas en una cámara UV a λ : 264nm (Fig. 8). Estas muestras fueron agrupadas en función del contenido químico observado por análisis de cromatografía en capa fina (Figura 8). Los compuestos más abundantes que resultaron de esta separación química se eluyeron en las fracciones **20, 24, 28, 30, 38-40, 41-43** y **51-56** donde las primeras corresponden a los compuestos más polares y las últimas corresponden a los menos polares como ácidos grasos y terpenos.

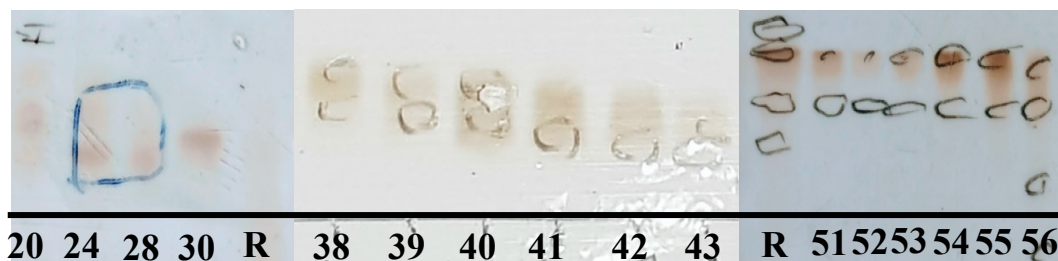


Figura 8. Placas de sílica fase reversa (C1), fase móvil Agua/Acetonitrilo. Revelador sulfato cerico, R; referencia extracto íntegro, A; Ácido ursólico, B; Beta-sitosterol.

Para un mayor conocimiento químico (cantidad y tipo de compuestos en cada muestra), se realizó el análisis CLAR de las fracciones C1F30-31(Fig.9), C1F47 (Fig.10) y C1F58-60 (Fig.11). La fracción C1F30-31 produjo dos picos mayoritarios a los **9.16** y **9.86** minutos. Considerando el espectro UV del compuesto a los **9.68** minutos, éste corresponde al ácido cumárico.

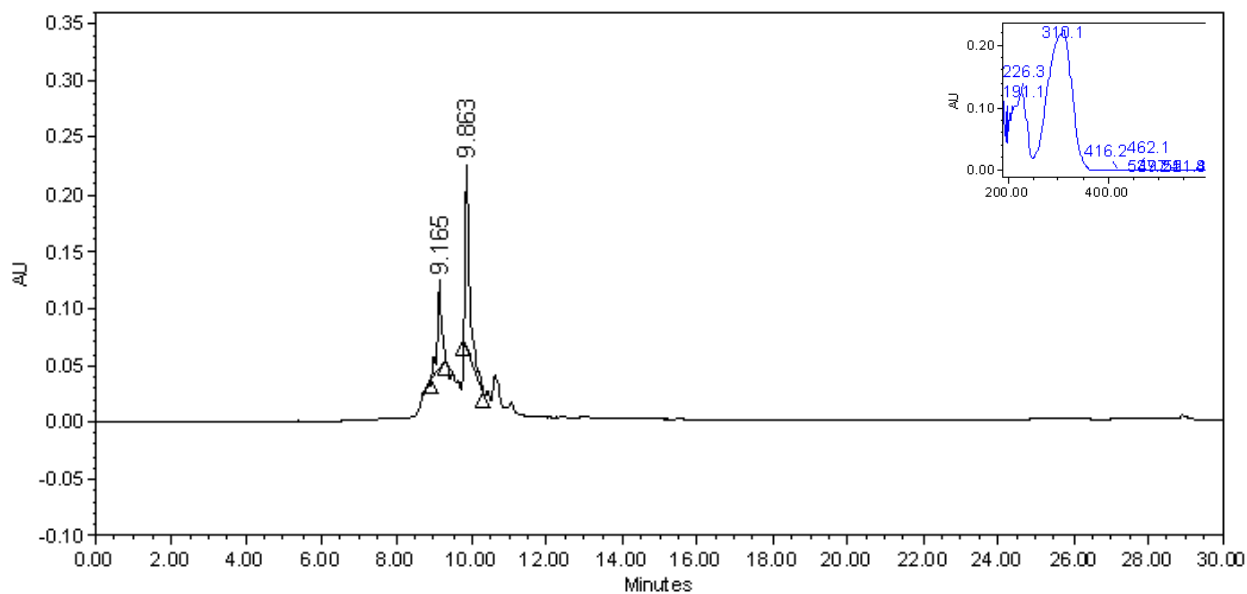
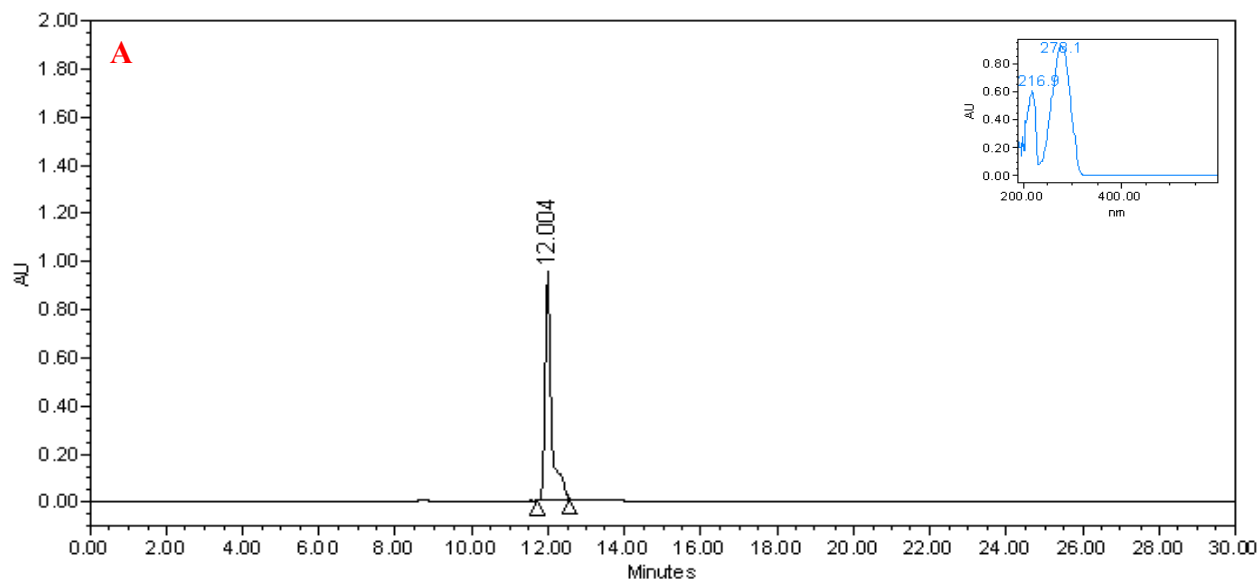


Figura 9. Cromatograma de CLAR C1F30-31. Fue observado a 290nm.

Por otra parte, en el cromatograma de la fracción C1F47 (Fig.10A), se observó un pico predominante a los **12.00** minutos (I_{max} = 216, 278nm) que al compararlo con una muestra comercial de ácido cinámico (Fig.10B) presentó el mismo tiempo de retención y espectro UV.



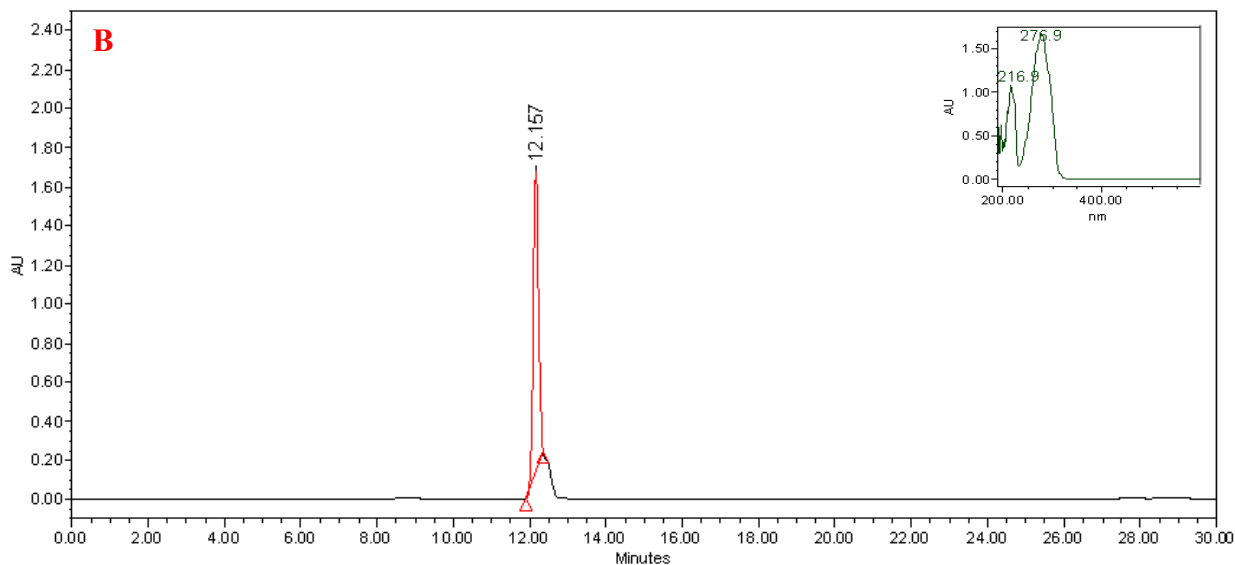


Figura 10. Cromatograma de CLAR A) Ácido cinámico comercial y B) C1F47. Fue observado a 290nm.

El CLAR de la C1F58-50 mostró los compuestos menos polares a los **17.59**, **21.68**, **25.57** y **27.37**, como se mencionó anteriormente, son de tipo terpeno o ácido grasos (Fig.11).

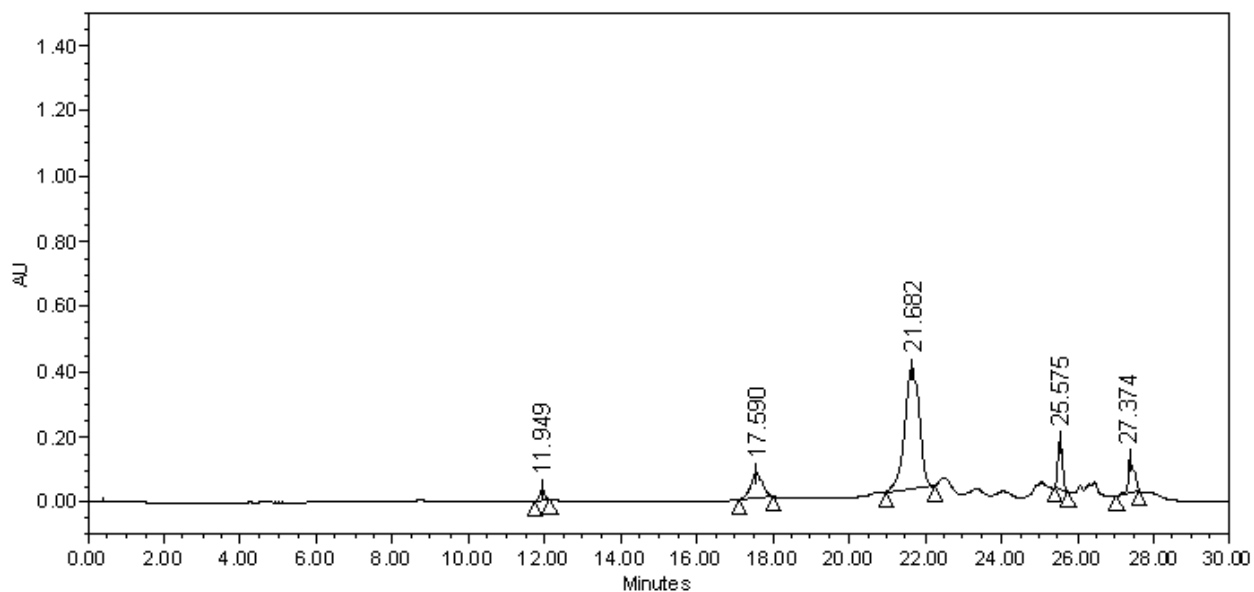
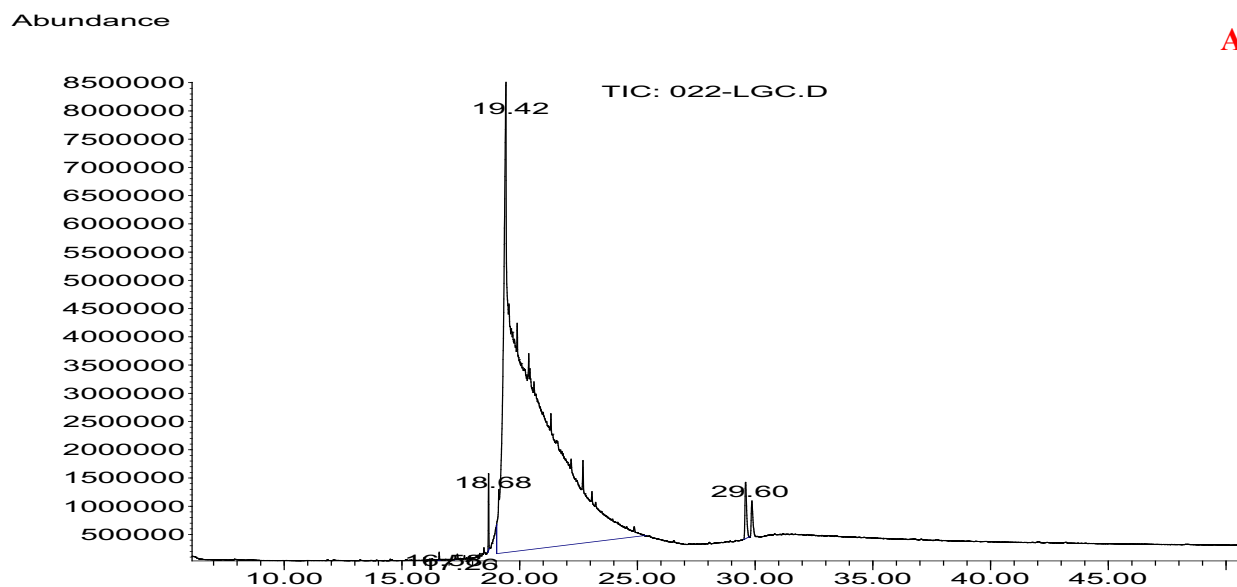


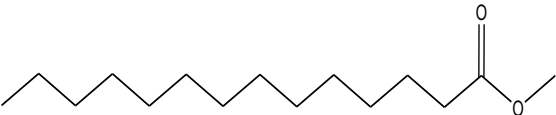
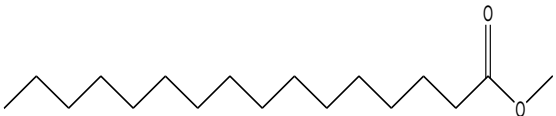

Figura 11. Cromatograma de CLAR de C1F58-60. Fue observado a 290nm.

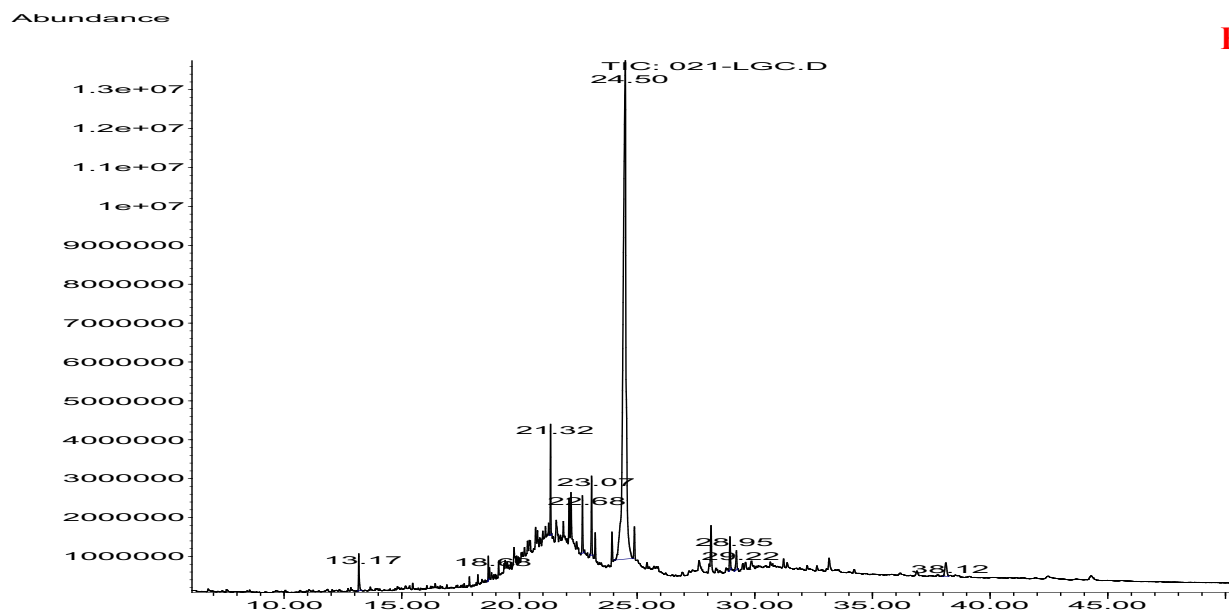
Posteriormente se realizó la purificación de compuestos menos polares de la fracción C1F63 obteniendo dos fracciones de interés, la C2F11 y C2F36, que para su identificación química fueron analizadas por cromatografía de gases acoplado a masas, obteniendo compuestos de tipo ésteres de ácido graso y terpeno en cada fracción (Fig. 12A y B). La identificación de estos compuestos se

realizó mediante el análisis de sus patrones de fragmentación que fueron comparados con los patrones de fragmentación reportados en la literatura.



A

Estructura	T _R	Nomenclatura
	16.58	Metil tetradecanoato
	18.68	Ácido hexadecanoico, metil éster
	19.40	Ácido hexadecanoico



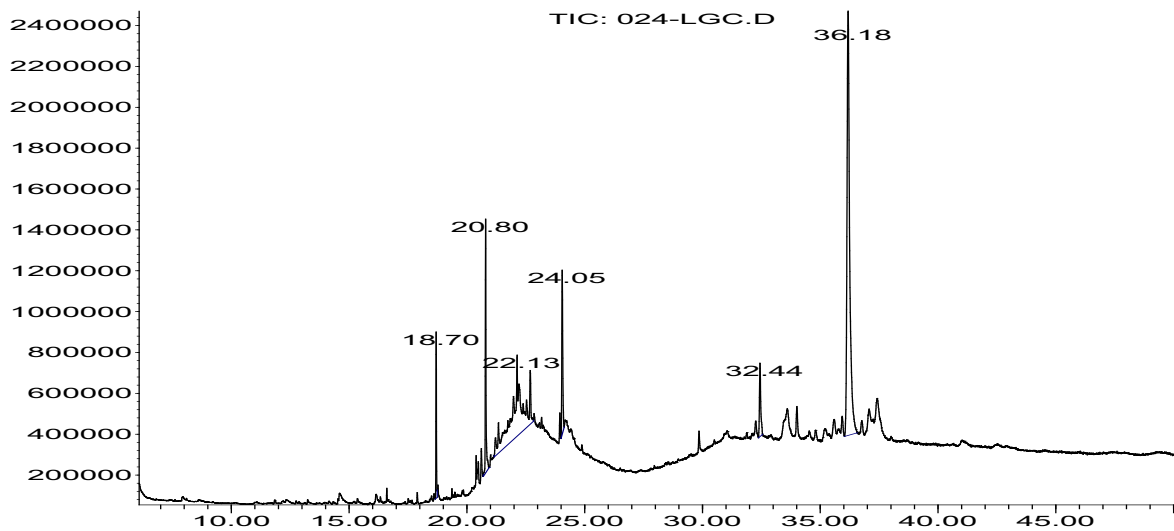
Estructura	T _R	Nomenclatura
	18.67	Ácido hexadecanoico, metil éster
	29.22	Escualeno
	38.12	Stigmasta-3,5-dien-7-one

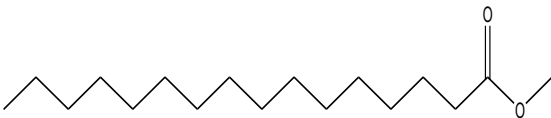
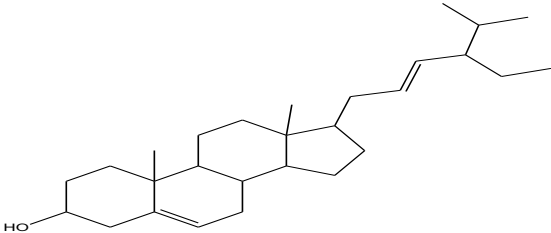
Figura 12. A) Cromatograma por CGM de C2F11, **Tabla** de los compuestos identificados **B)** Cromatograma de CGM de C2F36, **Tabla** de los compuestos identificados.

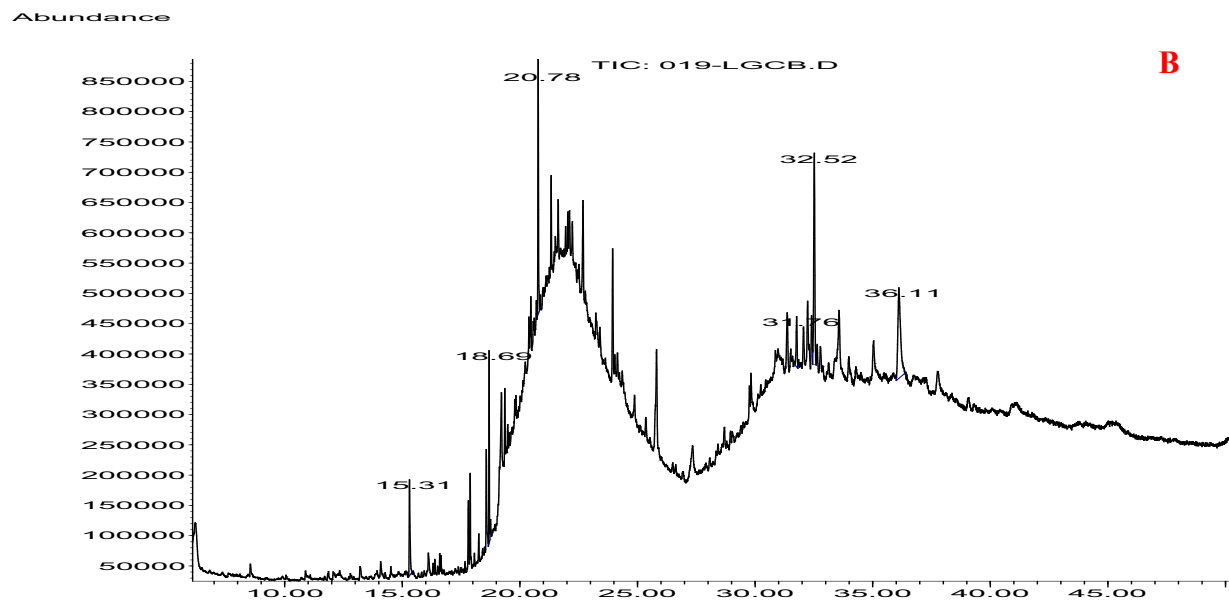
Mismo procedimiento se realizó con el extracto integro obteniendo la separación química las fracciones C3F20, C3F23 y C3F43, las cuales se les realizó cromatografía de gases-masas, identificando al ácido hexadecanoico metil éster en las tres fracciones con un tiempo de retención de 18.69. Asimismo, en la C3F20 se identificó un compuesto tipo alcohol con un T_R de **36.18** (Fig. 13A), en C3F23 se identificó un esteroil con un T_R **36-11** (Fig. 13B) y en la C3F43, se identificó un compuesto éster con un T_R de **22.20** (Fig. 13C).

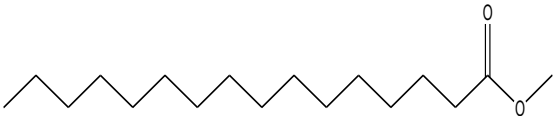
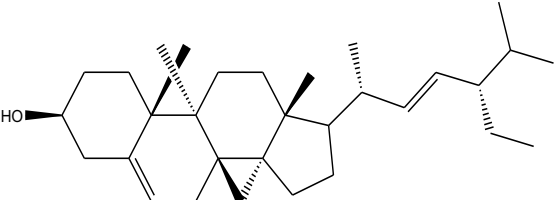
Abundance

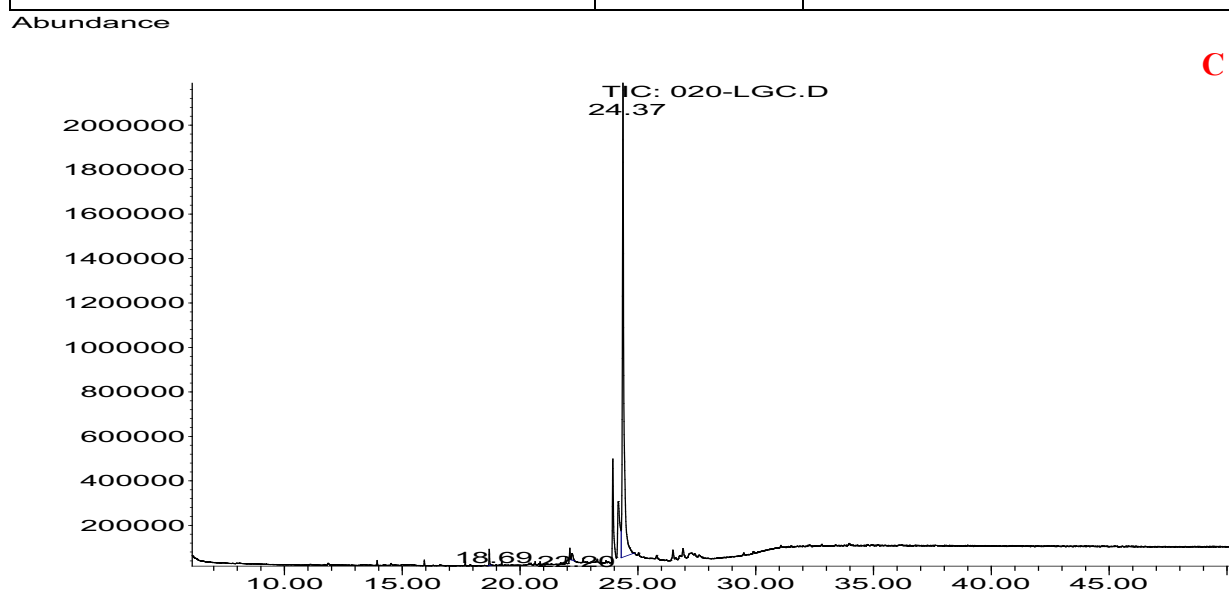
A



Estructura	T _R	Nomenclatura
	18.69	Ácido hexadecanoico, metil éster
	36.18	Stigmasta-5,22, dien-3-ol



Estructura	T _R	Nomenclatura
	18.69	Ácido hexadecanoico, metil éster
	36.11	Estigmasterol



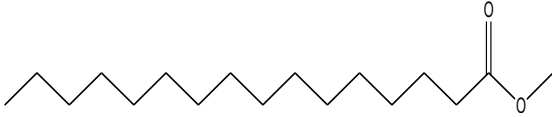
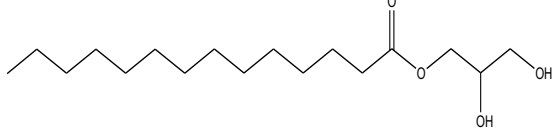
Estructura	T_R	Nomenclatura
	18.69	Ácido hexadecanoico, metil éster
	22.20	Ácido tetradecanoico-2,3, dihidroxipropil éster

Figura 13. Cromatograma por CGM **A)** de la C3F20, **Tabla** de los compuestos identificados **B)** C3F23, **Tabla** de los compuestos identificados, **C)** C3F43, **Tabla** de los compuestos identificados.

8.4 El EHrSe previene el incremento de la concentración sérica de albúmina y ácido úrico.

La albúmina es un parámetro bioquímico utilizado en la clínica para determinar la calidad del funcionamiento renal³⁴. El decremento en sangre de este parámetro está relacionado con el desarrollo de la hipoalbuminemia que se da por dos factores; 1) la generación de radicales libres que llevan a la oxidación de la albúmina y la afectación a los hepatocitos disminuyendo la producción de albumina, característico en la patogénesis de la insuficiencia hepática aguda^{131,132}. 2) La disminución de la albúmina sérica hace referencia al daño renal a nivel de la barrera filtración glomerular, propiciando la generación de vacuolas en el espacio urinario. Para el conocer el efecto protector del EHrSe ante el daño renal inducido por Ang-II (0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$), se analizó la concentración de albúmina en sangre en ratones control, sólo tratados con Ang-II o coadministrados con Ang-II y losartán (10mg/kg) o Ang-II y EHrSe (11mg/kg). Los resultados obtenidos indican que en los ratones tratados con Ang-II la concentración de albúmina se triplicó significativamente ($p < 0.05$) comparado con el grupo control, mientras que los ratones coadministrados con Ang-II y losartán o el EHrSe, los valores se mantuvieron sin diferencias significativas con respecto al grupo control (Fig. 14). Además, no hubo diferencias entre el tratamiento con Losartán y el EHrSe.

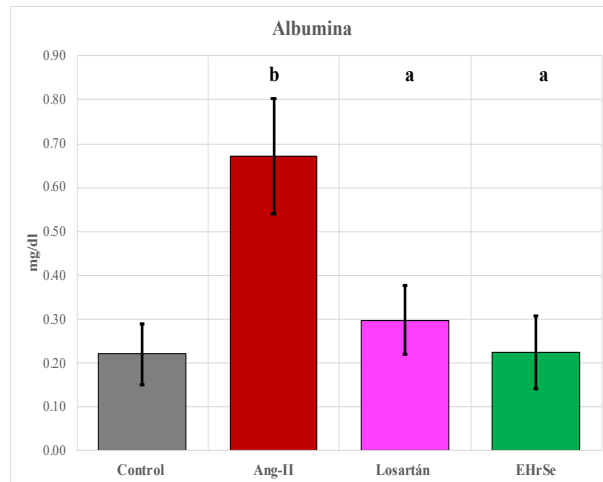


Figura 14. Medición de la concentración de albúmina sérica.

La aplicación crónica de Ang-II ($0.01\mu\text{g}/\text{kg}$) produce el incremento significativo de la concentración sérica de albúmina ($p < 0.05$) en el transcurso de 11 semanas en ratones C57BL6 en comparación con el grupo control. La aplicación de Ang-II y losartán o EHrSe mantienen valores sin diferencia significativa de la concentración de albúmina a las 11 semanas en comparación con el grupo control. Media \pm SE; $n = 6-7/\text{grupo}$. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa (a). Literales diferentes indican diferencia significativa (b).

Por otro lado, en pacientes con ERC el establecimiento de la disfunción endotelial e inflamación propician el incremento de ácido úrico en sangre generándose un estado de hiperuricemia^{135,136}. La aplicación crónica de Ang-II incrementó, aunque no de manera significativa la concentración de ácido úrico sérico (Fig. 15). Mientras que en los grupos que recibieron losartán ($10\text{mg}/\text{kg}$) o EHrSe ($11\text{mg}/\text{kg}$) aunado a la aplicación de Ang-II, no se observó dicho incremento, ya que los valores se mantuvieron sin diferencias con el grupo control.

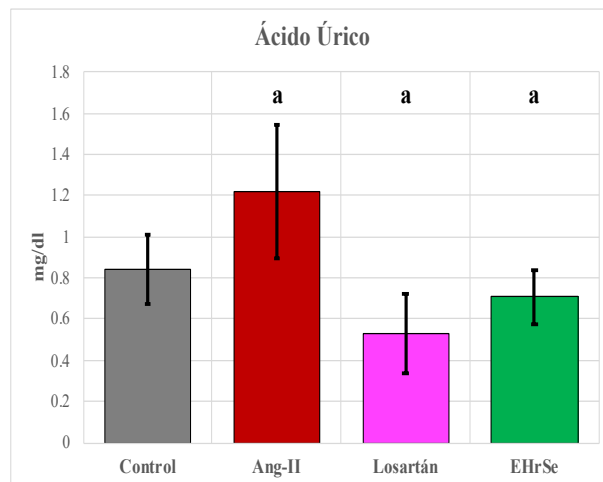


Figura 15. Medición de la concentración de ácido úrico sérico.

La aplicación crónica de Ang-II ($0.01\mu\text{g}/\text{kg}$) produce una tendencia de incremento de la concentración sérica de ácido úrico en el transcurso de 11 semanas en ratones C57BL6 en comparación con el grupo control. La aplicación de Ang-II y losartán o EHrSe mantienen valores sin diferencia significativa de la concentración de ácido úrico a las 11 semanas

en comparación con el grupo control. Media \pm SE; n= 6-7/grupo. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa (a). Literales diferentes indican diferencia significativa (b).

8.5 El EHrSe mantiene la concentración de Creatinina

Por otra parte, la creatinina se considera el marcador clínico principal para el estudio de la progresión de la ERC. En individuos con esta enfermedad se incrementa la degradación de creatinina sérica que posteriormente resulta en la pérdida significativa como consecuencia de la sobreactividad de la creatininasas¹³⁷. Al determinar la concentración de creatinina sérica en ratones, la aplicación crónica de Ang-II propició que este parámetro tuviera tendencia a incrementar de manera significativa ($p < 0.05$) en comparación con el grupo control. A diferencia de los grupos que recibieron losartán o el EHrSe, cuya concentración de creatinina fue similar al grupo control a pesar de la presencia de Ang-II (Fig. 16).

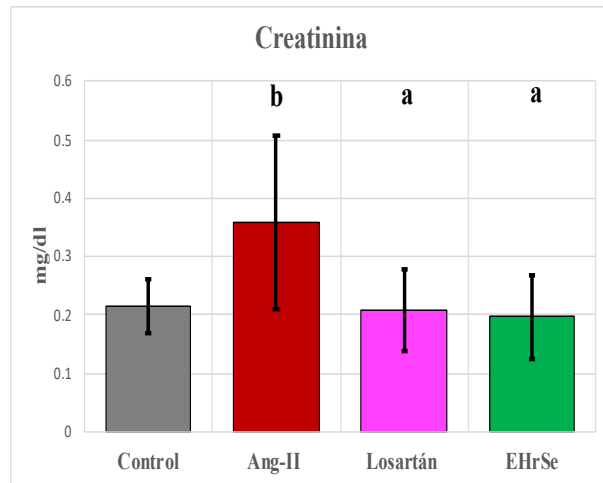


Figura 16. Medición de la concentración de creatinina sérica.

La aplicación crónica de Ang-II (0.01 μ g/kg) produce la disminución significativa de la concentración sérica de creatinina ($p < 0.05$) en el transcurso de 11 semanas en ratones C57BL6 en comparación con el grupo control. La aplicación de Ang-II y losartán o EHrSe mantienen valores sin diferencia significativa de la concentración de creatinina a las 11 semanas en comparación con el grupo control. Media \pm SE; n= 6-7/grupo. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa (a). Literales diferentes indican diferencia significativa (b).

8.6 La concentración de urea no se modificó por la administración de Ang-II

La urea es un compuesto nitrogenado que se incrementa en sangre cuando disminuye el aclaramiento renal durante la progresión de la ERC o por afecciones hepáticas¹³⁸. Diez semanas después de la administración diaria de Ang-II, la concentración de urea no presentó variación significativa en los individuos experimentales con excepción del grupo tratado con Ang-II mas losartán que disminuyó significativamente ($p < 0.05$) la concentración de esta molécula (Fig.17).

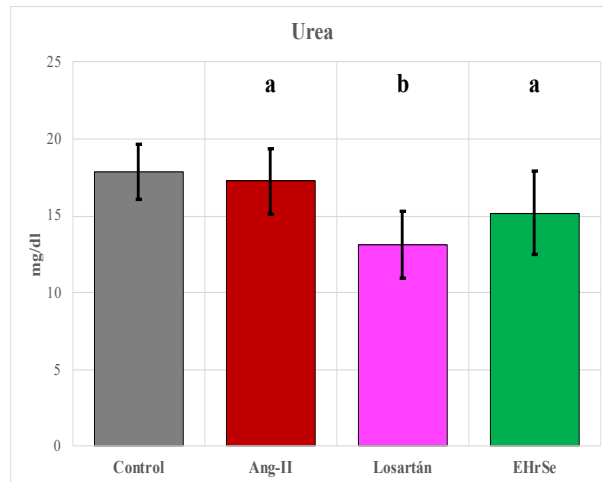


Figura 17. Medición de la concentración de albúmina sérica.

La aplicación crónica de Ang-II (0.01µg/kg) no produce variación en la concentración sérica de urea ($p < 0.05$) en el transcurso de 11 semanas en ratones C57BL6 en comparación con el grupo control. La aplicación de Ang-II y losartán o EHrSe mantienen valores sin diferencia significativa de la concentración de urea a las 11 semanas en comparación con el grupo control. Media \pm SE; n= 6-7/grupo. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa (a). Literales diferentes indican diferencia significativa (b).

8.7 El EHrSe evita el incremento de las citocinas proinflamatorias IL-1 y TNF- α en riñón.

Las citocinas son proteínas solubles que ejercen su acción local o sistémica ante un proceso inmunoinflamatorio. En este trabajo para evaluar el efecto del EHrSe sobre la inflamación local, se cuantificaron las concentraciones de las citocinas proinflamatorias IL-1 β (Fig. 18A), involucrada en mantenimiento de las reacciones proinflamatorias ante una respuesta de daño asociada a patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) o a patrones moleculares asociados a la lesión (DAMPs mediante el reclutamiento de macrófagos, monocitos, condrocitos o fibroblastos^{139,140}, y TNF- α (Fig. 18B), una proteína de fase aguda involucrada en el desarrollo de la disfunción endotelial incrementando la permeabilidad vascular, así como el reclutamiento de macrófagos y neutrofilos al sitio de lesión) en riñón¹⁴¹⁻¹⁴³. Se observa que la aplicación crónica de losartán modificó, aunque no de manera significativa los niveles de IL-1 con respecto al grupo control. Mientras que el grupo de Ang-II y el grupo del EHrSe presentaron un efecto contrario al disminuir los niveles de IL-1 β , aún por debajo del grupo control (Fig.18A). Por otra parte, al cuantificar la concentración de TNF- α , se observa que la aplicación crónica de Ang-II y de Ang-II con el EHrSe disminuyen de manera significativa ($p < 0.05$) el nivel de esta citocina con respecto al grupo control. Sin embargo, la coadministración de losartán no influyó sobre TNF- α al presentar una concentración semejante al grupo control (Fig. 18B).

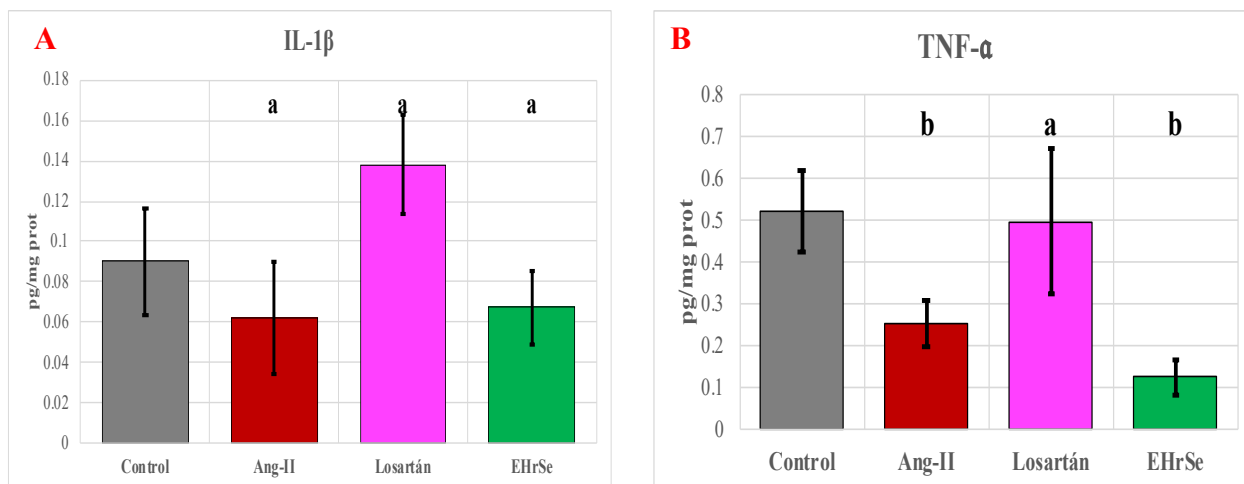


Fig. 18 Niveles de citocinas proinflamatorias en riñón.

La concentración de IL-1 β mantienen concentraciones sin diferencia en los grupos aplicados con Ang-II y Ang-II con losartán o EHrSe en comparación con el grupo control B) La concentración de TNF en los grupos de Ang-II y Ang-II más EHrSe disminuye de manera significativa a las 11 semanas mientras que el grupo de Ang-II con losartán mantienen la concentración sin diferencia con respecto al grupo control. Media \pm SE; n= 6-7/grupo. Literales iguales indican que no hay diferencia significativa (a). Literales diferentes indican diferencia significativa (b).

9. Discusión

En los últimos años la incidencia de pacientes con enfermedad renal crónica ha incrementado a nivel mundial^{20,21}. El panorama actual señala la necesidad de buscar tratamientos alternativos que sean efectivos y con menores reacciones adversas. El uso de plantas medicinales ha sido documentado desde nuestros antepasados, pasando por todas las etapas cronológicas del desarrollo humano y que cuentan con vigencia actual. La raíz de la especie *Sechium edule* ha sido estudiada por nuestro grupo de investigación con la finalidad de comprobar científicamente el potencial benéfico de diferentes extractos orgánicos (FArSe, MeOHrSe, EarSe) y del E. Hidroalcohólico sobre la disfunción endotelial en diversos órganos^{126,128}. Además, se ha reportado la presencia de compuestos de muy baja polaridad con diversas propiedades como: ácido palmítico, ácido linoleico, cloruro de ácido linoleico, 11-Z-ácido hexadecenoico y 2-palmitoilglicerol¹²⁸.

Con la intención de conocer el efecto protector del EHrSe se realizó su estudio fitoquímico obtenido por técnicas cromatográficas, espectroscópicas y espectrométricas (CLAR-UV, CLAR-MS y CGMS). Se estableció la dosis del EHrSe (11 mg/kg) con base en la concentración de ácido cinámico, un compuesto que previamente se reportó como mayoritario en la FArSe¹²⁶. Este fenilpropanoide es un compuesto de baja toxicidad cuyos derivados (ácido cumárico, ácido cafeico, ácido ferulico o sinápico) presentan propiedades antioxidantes inhibiendo la oxidación de lípidos

y la eliminación de radicales libres como el anión superóxido¹⁴⁴. En este estudio, la administración crónica de Ang-II (0.01 µg/kg), llevó al establecimiento del estrés oxidante que podría estar siendo controlado por el ácido cinámico y sus derivados. De la fracción C1F47 se obtuvo el ácido cinámico que fue corroborado con el tiempo de retención y espectro de UV entre esta muestra y una referencia comercial (SIGMA-ALDRICH). De manera interesante el derivado de ácido cinámico que se obtuvo fue el ácido cumárico en la fracción C1F30-31, un compuesto con actividad antioxidante. La purificación de los compuestos menos polares presentes en la fracción C1F63 permitió obtener un par de fracciones (C2F11 y C2F36) que, para su identificación química fueron analizadas por cromatografía de gases acoplada a un detector de masas. El análisis de los patrones de fragmentación, de los principales picos presentes en estas fracciones indicó la presencia de terpenos y ácidos grasos sin determinar el compuesto correspondiente. Por otra parte, en la C2F11 se identificaron una serie de compuestos principalmente con actividad antiinflamatoria y antioxidante entre los que se encuentran el metil palmitato, un compuesto que causa vasodilatación al abrir los canales de potasio en células del músculo liso vascular por lo cual podría prevenir el desarrollo de la hipertensión. Además inhibe la actividad fagocítica y actúa sobre la vía inflamatoria y antifibrótica¹⁴⁵⁻¹⁴⁷. Otro compuesto identificado fue el escualeno, un triterpeno intermediario de la biosíntesis de esteroides, se considera un emoliente y actúa sobre el estrés oxidante al capturar radicales peróxido. Asimismo, se sabe que inhibe la actividad de la ornitina descarboxilasa, una enzima que participa en el ciclo de la urea por lo que se intuye que estaría evitando la formación de uratos que en la ERC que propician el daño a los riñones¹⁴⁸⁻¹⁵⁰. El stigmasta-3,5-dien-7-one, es otro compuesto presente en el EHRSe que actúa sobre la inflamación al disminuir la cantidad de citocinas proinflamatorias e impide la actividad de la vía de NF-κB, lo cual es crucial en la ERC donde la inflamación crónica es parte de la disfunción endotelial^{151,152}. Por otra parte, el estudio del extracto íntegro dio como resultado compuestos de tipo éster de ácido graso, identificando algunos compuestos como el stigmasta-5,22-dien-3-ol un derivado del estigmasterol que se ha reportado con actividad antiinflamatoria y antioxidante^{153,154}, promoviendo el incremento de la actividad de la catalasa, superóxido dismutasa y la disminución de la peroxidación lipídica hepática^{154,155}. Por lo tanto, los compuestos reportados en este estudio en conjunto podrían actuar como agentes antiinflamatorios y antioxidantes dando el efecto preventivo sobre la ERC.

Al evaluar el EHRSe en el modelo biológico, se determinó la concentración sérica de los parámetros renales; albúmina, ácido úrico, creatinina y urea, como indicadores de la calidad de la función renal

en los ratones que fueron coadministrados con Ang-II (0.01µg/kg) y losartán (10mg/kg) o EHrSe (11mg/kg). El primer indicativo que un paciente presenta ERC es el decremento de albumina en sangre (albuminuria) por el deterioro de la barrera de filtración, excretándose en cantidades altas por la orina. Sin embargo, en este estudio, la concentración de albúmina en los animales que sólo fueron administrados con Ang-II se incrementó de manera significativa a las 11 en comparación con el grupo control. Se sabe que el incremento de albumina se da en individuos con deshidratación o estudios más específicos señalan que en pacientes con daño hepático, el incremento de las transaminasas está correlacionado con el incremento de la albumina sérica, esto se sustenta en estudios realizados en nuestro laboratorio por Zimri Alvarado¹⁵⁶, donde reporta que en ratones C57BL6 que fueron aplicados con Ang-II (0.01µg/kg), se encontraban incrementadas las transaminasas TGP/ALT. En los animales que recibieron losartán no se observó el incremento o disminución de albúmina sérica con respecto al grupo control, lo que podría estar manteniendo estable la barrera de filtración glomerular y la estructura de los podocitos. Asimismo se estaría evitando el incremento de la presión arterial. Esto último, se sustenta con el trabajo realizado por Trejo y colaboradores¹²⁸, que reportaron que la aplicación crónica de Ang-II se relaciona con el incremento de la presión arterial y que medicamentos como el losartán impiden que se dé la vasoconstricción sostenida, evitando la unión de Ang-II con el receptor AT1 y con ello no haya una afectación a nivel renal¹⁵⁷. De manera esperada, el EHrSe mostró un efecto preventivo sobre la concentración de albúmina sérica, ya que se mantuvo sin diferencia con el grupo control. Como se describió en el apartado 1.4, la progresión de la enfermedad renal crónica activa el sistema SRAA celular, afectando el mantenimiento estructural de la nefrona. Posiblemente el conjunto de compuestos presentes en el EHrSe estén ejerciendo una acción nefroprotectora.

Por otra parte, dentro de la patología de los ratones que sólo recibieron Ang-II, reportamos la tendencia a incrementar de la concentración de ácido úrico sérico con respecto al grupo control. Basados en la literatura, el incremento intracelular de ácido úrico condiciona el incremento del contenido corporal de urato, hiperuricemia y excreción renal de ácido úrico. Este incremento promueve la activación de cinasas, factores de transcripción nuclear, la generación de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), así como la producción de factores de crecimiento provocando la disfunción tubular por la liberación de quimiocinas inflamatorias. En conjunto, estos factores de daño pueden inducir la proliferación de las células del músculo liso vascular y el desarrollo de la hipertensión¹⁵⁸⁻¹⁶⁰. En contraparte, los grupos coadministrados con losartán o el EHrSe

mantuvieron una concentración por debajo del grupo control. La acción del losartán está relacionada con la reducción de los transportadores de urato (URAT1) y la incapacidad de la reabsorción de urato en el túbulo proximal, manteniendo la concentración de ácido úrico y uratos bajas en sangre^{161,162}. Mientras que, la acción del *EHRSe* puede deberse a la capacidad de inhibir a la xantina oxidasa, una enzima que participa en la formación de ácido úrico⁴⁶. Considerando este antecedente, se puede mencionar que el *EHRSe* tiene la capacidad de evitar la formación de ácido úrico y uratos previniendo la liberación de factores inflamatorios. Al determinar la concentración de creatinina, se consideraron las limitantes que esta molécula presentaba cuando la cuantificación de este parámetro es el más habitual. La literatura ha reportado que cambios en la masa muscular así como grado de secreción tubular en pacientes con insuficiencia renal aguda conducen a una sobreestimación de la tasa de filtrado glomerular¹⁶³⁻¹⁶⁵. Se observó el incremento significativo de la concentración de creatinina en comparación con el control cuando se aplicó Ang-II. A diferencia de los grupos tratados con Ang-II más losartán o *EHRSe* que no tuvieron diferencias significativas con respecto al grupo control, Sin embargo, aunque en todos los grupos la concentración de creatinina se encuentra en el rango establecido para ratones (0.06-2.72mg/dl)¹⁶⁶. Con base en los resultados obtenidos previamente, donde consideramos que hay cambios estructurales y funcionales en la nefrona, específicamente en el corpúsculo renal, estos podrían ser factores que influyan en la concentración de creatinina en los animales que recibieron Ang-II. Por otra parte, se ha reportado que el incremento de Ang-II no ejerce una variación en la permeabilidad de urea basal pero sí incrementa la permeabilidad de urea por estimulación de vasopresina. Klein y colaboradores, determinaron que, la aplicación de Ang-II en ratas durante 14 días disminuyó el número de transportadores de urea UT-A1 lo cual contribuyó al desarrollo de diuresis^{167,168}. Además, el incremento de la concentración de Ang-II favorece a una mayor excreción de sodio y agua. Aquí reportamos que, a las 10 semanas de experimentación, 0.01µg/kg de Ang-II no modificó la concentración de urea en sangre, aun cuando se coadministró con el *EHRSe*. Cuando se cuantificó este parámetro en los animales coadministrados con Ang-II y losartán hubo un decremento significativo. Considerando la literatura, se ha establecido que la administración de losartán en pacientes con enfermedad renal crónica, este medicamento induce un decremento del aclaramiento de urea por lo tanto la concentración de urea sérica se ve disminuida tal y como lo observamos en los resultados de este proyecto¹⁶⁹⁻¹⁷¹.

Como se mencionó en el apartado 1.5, el incremento de Ang-II está relacionado con el incremento de la permeabilidad vascular. Sin importar la causa de la enfermedad renal crónica, se presenta un estado de inflamación desencadenando la liberación de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-1 β . Contrario a lo que esperábamos, esto no evidenció un incremento en la concentración de las citocinas por la aplicación crónica de Ang-II. Posiblemente la aplicación y el tiempo de exposición a Ang-II no repercute de manera considerable.

En conjunto, estos resultados sugieren que la administración del extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* presenta una acción preventiva en el progreso de la enfermedad renal al mantener la concentración de los parámetros renales a un nivel similar del grupo sano. Sin embargo, no se puede afirmar que haya tenido un efecto en la concentración de urea dado que no se presentó una variación al aplicarse la Ang-II. Además, se debe considerar que la aplicación crónica de Ang-II no es específica para un órgano blanco teniendo la capacidad de repercutir en otros órganos. Esto quedó evidenciado en los datos reportados por Zimri Alvarado¹⁵⁶, donde el hígado presentó afección por la aplicación crónica de Ang-II y en el presente estudio se pudo obtener resultados que involucran a la afección hepática.

10. Conclusiones

El extracto hidroalcohólico de la raíz de *Sechium edule* estandarizado posee efecto nefroprotector en el desarrollo de la enfermedad renal crónica, inducida por la aplicación crónica de Ang-II en un modelo murino.

11. Perspectivas

En el presente trabajo proponemos los efectos benéficos del EHRSe sobre los parámetros renales que permiten determinar el progreso de la enfermedad renal crónica. Sin embargo, se requiere evaluar otros parámetros como la determinación de los niveles de citocinas no inflamatorias (IL-10, TGF- β), así como factores inflamatorios (citocinas y quimiocinas proinflamatorias, proteínas de fase aguda, metaloproteasas), entre otros factores involucrados en la patología de la enfermedad renal crónica. Además, se requiere de un tiempo más prolongado de la coadministración del extracto para determinar si los ratones que sólo son administrados con Ang-II presentan etapas más avanzadas de la ERC y si el EHRSe es capaz de contrarrestar el daño.

12. Bibliografía

1. Ballesteros, J. J. C., Herrera, C. J. C. & Bono, A. C. *Anatomía Humana General*. (Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Sevilla, 2002).
2. Boron, W. F. & Boulpaep, E. L. *Medical Physiology*. (Elsevier Health Sciences, 2008).
3. Hansel, D., Kane, C., Paner, G. & Chang, S. *The Kidney: A Comprehensive Guide to Pathologic Diagnosis and Management*. (2015).
4. Bronzino, J. D. *Biomedical Engineering Handbook 2*. (2000).
5. Hall, J. E. *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica*. (Elsevier Health Sciences, 2011).
6. Pawlina, W. *Histología Texto Y Atlas Correlación con Biología Molecular y Celular. Ross Histología texto y atlas* (2015).
7. Gal Iglesias, B., López Gallardo, M., Martín Velasco, A. I. & Prieto Montalvo, J. *Bases de la fisiología*. (Editorial Tébar, S. L., 2007).
8. Kelley, W. N. *Medicina interna*. (Médica Panamericana, 1993).
9. Welsch, U. & Sobotta, J. *Histología*. (Editorial Médica Panamericana S.A., 2008).
10. Avendaño, L. H. *Nefrología clínica*. (Editorial Médica Panamericana S.A., 2008).
11. Beraldo, W. T. *Fisiología L*. (Indústrias Gráficas Veracruz, 1971).
12. Eroschenko, V. P. & di Fiore, M. S. H. *Atlas of Histology with Functional Correlations*. (Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013).
13. Krstic, R. V. *Human Microscopic Anatomy: An Atlas for Students of Medicine and Biology*. (Springer, 1991).
14. Flores, E. E. & Aranzábal, M. C. U. *Atlas de histología de vertebrados*. (Universidad Nacional Autónoma de México, 2002).
15. Ross, M. H. & Pawlina, W. *Histología. Texto y Atlas Color con Biología Celular y Molecular. (Incluye Cd-Rom) 5aed.* (Médica Panamericana, 2007).
16. Strasinger, S. K. & Di Lorenzo, M. S. *Análisis de Orina y de los Líquidos Corporales*. (Médica Panamericana, 2010).
17. Pollak, M. R., Quaggin, S. E., Hoenig, M. P. & Dworkin, L. D. The Glomerulus: The Sphere of Influence. **9**, 1461–1469 (2014).
18. Schell, C., Wanner, N. & Huber, T. B. Glomerular development – Shaping the multi-cellular filtration unit. *Semin. Cell Dev. Biol.* **36**, 39–49 (2014).
19. White, K. E. Research into the structure of the kidney glomerulus – making it count. *Micron* **43**, 1001–1009 (2012).
20. Gómez Carracedo, A. & Baztán Cortés, J. J. Métodos de evaluación de la función renal en el paciente anciano: fiabilidad e implicaciones clínicas. *Rev. Española Geriatria y Gerontología* **44**, 266–272 (2009).
21. Lopez-Giacoman, S. & Madero, M. Biomarkers in chronic kidney disease, from kidney function to kidney damage. **4**, 57–73 (2015).
22. Klahr, S. & Morrissey, J. Progression of chronic renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* **41**, 3–7 (2003).
23. Pacurari, M., Kafoury, R., Tchounwou, P. B. & Ndebele, K. The renin-angiotensin-aldosterone system in

- vascular inflammation and remodeling. *Int. J. Inflamm.* **2014**, (2014).
24. Kagami, S. Involvement of glomerular renin-angiotensin system (RAS) activation in the development and progression of glomerular injury. *Clin. Exp. Nephrol.* **16**, 214–220 (2012).
 25. Ma, K. L. *et al.* Interaction of RAS activation and lipid disorders accelerates the progression of glomerulosclerosis. *Int. J. Med. Sci.* **10**, 1615–1624 (2013).
 26. Ma, T. K. W., Kam, K. K. H., Yan, B. P. & Lam, Y. Y. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade for cardiovascular diseases: Current status. *Br. J. Pharmacol.* **160**, 1273–1292 (2010).
 27. Gomolak, J. R. & Didion, S. P. Angiotensin II-induced endothelial dysfunction is temporally linked with increases in interleukin-6 and vascular macrophage accumulation. *Front. Physiol.* **5**, 1–10 (2014).
 28. Brewster, U. C. & Perazella, M. A. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System and the Kidney : Effects on Kidney Disease. (2003). doi:10.1016/j.amjmed.2003.09.034
 29. López Cervantes, M. *Enfermedad Renal Crónica y su Atención Mediante Tratamiento Sustitutivo en México.* **66** *עלון הנטע*, (2010).
 30. Murillo, L. J. *Medicina de urgencias y emergencias, 4a ed.* (Elsevier, 2009).
 31. Viru, A. & Viru, M. *ANÁLISIS Y CONTROL DEL RENDIMIENTO DEPORTIVO.* (Paidotribo, 2003).
 32. Portillo, J. D., Barrio, M. T. F. & Salido, F. P. *Aspectos básicos de bioquímica clínica.* (Díaz de Santos, 1997).
 33. Bilbao, I. C., Fernanda, M., Roblero, S. & García-fernández, N. Estudios de función renal : función glomerular y tubular . Análisis de la orina. 17–30 (2009).
 34. Riella, M. C. & Martins, C. *Nutrición y riñón.* (2003).
 35. Ruiz, J. S. *Control Global Del Riesgo Cardiometabolico.* (Ediciones Díaz de Santos, S.A., 2009).
 36. Salabarría González, J. R. *Laboratorio clínico y función renal.*
 37. Vasudevan, D. M. & Sreekumari, S. *Texto de Bioquímica para Estudiantes de Medicina.* (Cuéllar Ayala, 2012).
 38. Massó, F. J. T. *La Diabetes en la Práctica Clínica (eBook).* (Editorial Médica Panamericana S.A., 2014).
 39. Payeras, A. C., Coca Payeras, A. L. R. M., Lara, P. A. & Mas, J. R. *Manejo del Paciente Hipertenso en la Práctica Clínica.* (Ed. Médica Panamericana).
 40. DiBartola, S. P. *Applied Renal Physiology. Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Disorders in Small Animal Practice* (Elsevier Inc., 2012). doi:10.1016/B978-1-4377-0654-3.00009-3
 41. Puyol, M. R. *et al.* Biomarcadores en el diagnóstico de las patologías renales. in 369–414
 42. Kang, D. H. & Chen, W. Uric Acid and Chronic Kidney Disease: New Understanding of an Old Problem. *Semin. Nephrol.* **31**, 447–452 (2011).
 43. Müller-Esterl, W. *Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida.* (Reverte Editorial Sa, 2008).
 44. Goicoechea, M., Vinuesa, S. G., Arroyo, D. & Luño, J. Hiperuricemia , gota y enfermedad renal crónica. 8–15 (2012). doi:10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2012.Mar.11444
 45. Bellomo, G. *et al.* Association of uric acid with change in kidney function in healthy normotensive individuals. *Am. J. Kidney Dis.* **56**, 264–272 (2010).
 46. Mok, Y. *et al.* Serum uric acid and chronic kidney disease: the Severance cohort study. *Nephrol. Dial.*

- Transplant* **27**, 1831–1835 (2012).
47. Henique, C. & Tharaux, P. Targeting signaling pathways in glomerular diseases. 417–427 (2012). doi:10.1097/MNH.0b013e328354a598
 48. Greenwood, A. M. *et al.* Clinical presentation, treatment and outcome of focal segmental glomerulosclerosis in Far North Queensland Australian adults. *Nephrology* (2016). doi:10.1111/nep.12816
 49. Stokes, M. B. & D’Agati, V. D. Morphologic Variants of Focal Segmental Glomerulosclerosis and Their Significance. *Advances in Chronic Kidney Disease* **21**, 400–407 (2014).
 50. Kikuchi, M. *et al.* Podometrics as a potential clinical tool for glomerular disease management. **35**, 245–255 (2015).
 51. Angioi, A. & Pani, A. FSGS : from pathogenesis to the histological lesion. *J. Nephrol.* **29**, 517–523 (2016).
 52. Jin Lim, B., Won Yang, J., Sung Do, W. & B.Fogo, A. Pathogenesis of Focal Segmental Glomerulosclerosis. *J. Pathol. Transl. Med.* 405–410 (2016). doi:10.4132/jptm.2016.09.21
 53. Jefferson, J. A. & Shankland, S. J. The Pathogenesis of Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Adv Chronic Kidney Dis.* 1–20 (2014). doi:10.1053/j.ackd.2014.05.009.
 54. de Mik, S. M. L., Hoogduijn, M. J., de Bruin, R. W. & Dor, F. J. M. F. Pathophysiology and treatment of focal segmental glomerulosclerosis: the role of animal models. *BMC Nephrol.* **14**, 74 (2013).
 55. Sprangers, B., Meijers, B. & Appel, G. FSGS: Diagnosis and Diagnostic Work-Up. *BioMed Research International* **2016**, (2016).
 56. Fogo, A. B. Causes and pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. **11**, 76–87 (2015).
 57. Han, M. & Kim, Y. Practical Application of Columbia Classification for Focal Segmental Glomerulosclerosis. **2016**, 7 (2016).
 58. Jefferson, J. A. & Shankland, S. J. The Pathogenesis of Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Advances in Chronic Kidney Disease* **21**, 408–416 (2014).
 59. Harita, Y. Application of next-generation sequencing technology to diagnosis and treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Clin. Exp. Nephrol.* (2017). doi:10.1007/s10157-017-1449-y
 60. Reiser, J., C. Nast, C. & Alachkar, N. Permeability Factors in Focal and Segmental Glomerulosclerosis. **21**, 417–421 (2014).
 61. Ulate Montero, G. *Fisiología Renal*. (Editorial Universidad de Costa Rica, 2006).
 62. Ferrario, C. M. & Strawn, W. B. Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Proinflammatory Mediators in Cardiovascular Disease. doi:10.1016/j.amjcard.2006.01.059
 63. Atlas, S. The Renin-Angiotensin Aldosterone System: Pathophysiological Role and Pharmacologic Inhibition. **13**, (2007).
 64. Fox, S. I. *Fisiología humana (13a. ed.)*. (McGraw Hill Mexico, 2014).
 65. Sparks, M. A. *et al.* Classical Renin-Angiotensin System in Kidney Physiology. **4**, 1201–1228 (2015).
 66. Wein, A. J., Kavoussi, L. R., Partin, A. W. & Novick, A. C. *Campbell-Walsh Urologia/ Campbell-Walsh Urology*. (Médica Panamericana, 2008).
 67. Simões e Silva, A. C. & Flynn, J. T. The renin-angiotensin-aldosterone system in 2011: Role in hypertension and chronic kidney disease. *Pediatr. Nephrol.* **27**, 1835–1845 (2012).

68. Siragy, H. M. & Carey, R. M. Role of the Intrarenal Renin-Angiotensin- Aldosterone System in Chronic Kidney Disease. 541–550 (2010). doi:10.1159/000313363
69. Hiroyuki, K., Masaomi, N., L, N. G. & Nishiyama, A. The Intrarenal Renin-Angiotensin System : From Physiology to the Pathobiology of Hypertension and. *Pharmacol. Rev.* **59**, 251–287 (2007).
70. Ichihara, A., Kobori, H., Nishiyama, A. & Navar, G. Renal Renin-Angiotensin System. **143**, 117–130 (2004).
71. Wong, W. T., Wong, S. L., Tian, X. Y. & Huang, Y. Endothelial dysfunction: The common consequence in diabetes and hypertension. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **55**, 300–307 (2010).
72. Malyszko, J. Mechanism of endothelial dysfunction in chronic kidney disease. *Clin. Chim. Acta* **411**, 1412–1420 (2010).
73. Endemann, D. H. & Schiffrin, E. L. Endothelial Dysfunction. *Circulation* **108**, 2060–2061 (2004).
74. Saad, M. I. *et al.* Insights into the molecular mechanisms of diabetes-induced endothelial dysfunction: focus on oxidative stress and endothelial progenitor cells. *Endocrine* **50**, 537–567 (2015).
75. Deanfield, J. E., Halcox, J. P. & Rabelink, T. J. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation* **115**, 1285–1295 (2007).
76. Cimellaro, A., Perticone, M., Fiorentino, T. V., Sciacqua, A. & Hribal, M. L. Nutrition , Metabolism & Cardiovascular Diseases Role of endoplasmic reticulum stress in endothelial dysfunction. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **26**, 863–871 (2016).
77. Cases, A. *et al.* Disfunción endotelial en la insuficiencia renal crónica. **XXIII**, (2003).
78. Mombouli, J. V. & Vanhoutte, P. M. Endothelial dysfunction: From physiology to therapy. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **31**, 61–74 (1999).
79. Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D. & Hemalatha, S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* **2**, 239–250 (2012).
80. Futrakul, N., Sitprija, V., Siriviriyakul, P. & Futrakul, P. Glomerular Endothelial Dysfunction , Altered Hemorheology and Hemodynamic Maladjustment in Nephrosis with Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Hong Kong J. Nephrol.* **6**, 69–73 (2004).
81. Miana, M. *et al.* Papel de la angiotensina II en el proceso aterosclerótico. *Clin. e Investig. en Arterioscler.* **24**, 92–101 (2012).
82. Zhang, Q. *et al.* Biomarkers of endothelial dysfunction in patients with primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* **17**, 338–345 (2012).
83. Silva, B. R., Pernomian, L. & Bendhack, L. M. Contribution of oxidative stress to endothelial dysfunction in hypertension. **3**, 1–5 (2012).
84. Schulz, E., Gori, T. & Mu, T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. 665–673 (2011). doi:10.1038/hr.2011.39
85. Higashi, Y., Maruhashi, T., Noma, K. & Kihara, Y. Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction: Clinical Evidence and Therapeutic Implications. *Trends Cardiovasc. Med.* (2013). doi:10.1016/j.tcm.2013.12.001
86. Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M. & Kihara, Y. Endothelial Function and Oxidative Stress in Cardiovascular Diseases. **73**, 411–418 (2009).
87. Luft, F. C. New insights into angiotensin, reactive oxygen and endothelial function. *Nephrol. Dial. Transplant.*

- 25, 2099–2101 (2010).
88. Doughan, A. K., Harrison, D. G. & Dikalov, S. I. Molecular Mechanisms of Angiotensin II – Mediated Mitochondrial Dysfunction Endothelial Dysfunction. (2007). doi:10.1161/CIRCRESAHA.107.162800
 89. Zhang, C. The role of inflammatory cytokines in endothelial dysfunction. **406**, 398–406 (2008).
 90. Castellon, X. & Bogdanova, V. Chronic Inflammatory Diseases and Endothelial Dysfunction. *Aging Dis.* **7**, 81–9 (2016).
 91. Remuzzi, G., Perico, N., Macia, M. & Ruggenti, P. The role of renin-angiotensin-aldosterone system in the progression of chronic kidney disease. **68**, 57–65 (2005).
 92. Montezano, A. C., Nguyen Dinh Cat, A., Rios, F. J. & Touyz, R. M. Angiotensin II and vascular injury. *Curr. Hypertens. Rep.* **16**, (2014).
 93. Ruster, C. & Wolf, G. Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Progression of Renal Disease. 2985–2991 (2006). doi:10.1681/ASN.2006040356
 94. Dinh, Q. N., Drummond, G. R., Sobey, C. G. & Chrissobolis, S. Roles of Inflammation , Oxidative Stress , and Vascular Dysfunction in Hypertension. **2014**, 12 (2014).
 95. Benigni, A., Cassis, P. & Remuzzi, G. Angiotensin II revisited : new roles in inflammation , immunology and aging. 247–257 (2010). doi:10.1002/emmm.201000080
 96. Mahmoodi, B. K. *et al.* Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without hypertension : a meta-analysis. *Lancet* **380**, 1649–1661
 97. James, M. T., Hemmelgarn, B. R. & Tonelli, M. Renal Medicine 2 Early recognition and prevention of chronic kidney disease. *Lancet* **375**, 1296–1309 (2010).
 98. Hughson, M. D. *et al.* Hypertension, glomerular hypertrophy and nephrosclerosis: The effect of race. *Nephrol. Dial. Transplant.* **29**, 1399–1409 (2014).
 99. Johnson, R. J., Feig, D. I., Nakagawa, T., Sanchez-Lozada, L. G. & Rodriguez-Iturbe, B. Pathogenesis of essential hypertension: Historical paradigms and modern insights. *Journal of Hypertension* **26**, 381–391 (2008).
 100. Tracy, R. E. Blood Pressure Related Separately to Parenchymal Fibrosis and Vasculopathy of the Kidney. *Am. J. Kidney Dis.* **20**, 124–131 (1992).
 101. Marcantoni, C., Ma, L. J., Federspiel, C. & Fogo, A. B. Hypertensive nephrosclerosis in African Americans versus Caucasians. *Kidney Int.* **62**, 172–180 (2002).
 102. Fogo, A. & Ichikawa, I. Evidence for a Pathogenic Linkage Between Glomerular Hypertrophy and Sclerosis. *Am. J. Kidney Dis.* **17**, 666–669 (1991).
 103. Stribos, E. G. D., Hillebrands, J. L., Olinga, P. & Mutsaers, H. A. M. Renal fibrosis in precision-cut kidney slices. *Eur. J. Pharmacol.* **790**, 57–61 (2016).
 104. Meng, X., Nikolic-paterson, D. J. & Lan, H. Y. Inflammatory processes in renal fibrosis. *Nat. Publ. Gr.* (2014). doi:10.1038/nrneph.2014.114
 105. Zhou, D. & Liu, Y. Understanding the mechanisms of kidney fibrosis. *Nat. Publ. Gr.* 2015–2016 (2015). doi:10.1038/nrneph.2015.215
 106. Kang, H. M. *et al.* Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells plays a key role in kidney

- fibrosis development HHS Public Access. *Nat Med* **21**, 37–46 (2015).
107. B. Farrir, A. & B. Colvin, R. Renal Interstitial Fibrosis: Mechanisms and Evaluation In: Current Opinion in Nephrology and Hypertension. 1–26 (2012). doi:10.1097/MNH.0b013e3283521cfa.Renal
 108. François, H. & Chatziantoniou, C. Renal fibrosis: Recent translational aspects. *Matrix Biol.* (2018). doi:10.1016/j.matbio.2017.12.013
 109. Allinovi, M., Chiara, L. De & Lucia, M. Anti-fibrotic treatments : A review of clinical evidence. *Matrix Biol.* (2018). doi:10.1016/j.matbio.2018.02.017
 110. Sun, Y. B. Y., Qu, X., Caruana, G. & Li, J. The origin of renal fibroblasts/myofibroblasts and the signals that trigger fibrosis. *Differentiation* **92**, 102–107 (2016).
 111. Torres, I. B., Moreso, F., Sarró, E., Meseguer, A. & Serón, D. The Interplay between Inflammation and Fibrosis in Kidney Transplantation. **2014**, (2014).
 112. Nogueira, A., Pires, M. J. & Oliveira, P. A. Pathophysiological Mechanisms of Renal Fibrosis : A Review of Animal Models and Therapeutic Strategies. **22**, 1–22 (2017).
 113. Murphy, A. M., Wong, A. L. & Bezuhyly, M. Modulation of angiotensin II signaling in the prevention of fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 1–7 (2015). doi:10.1186/s13069-015-0023-z
 114. Valencia, V. C. *et al.* Epidemiología de la enfermedad glomerular en adultos. Revisión de una base de datos. *Gac. Med. Mex.* **150**, 403–408 (2014).
 115. Tamayo Orozco, J. & Lastiri Quirós, S. *La enfermedad renal crónica en México. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología* (2016).
 116. Torres, M., Granados, V. & López, L. Carga de la enfermedad renal crónica en México. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* **55**, 118–23 (2017).
 117. Rosenberg, A. Z. & Kopp, J. B. Focal segmental glomerulosclerosis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **12**, 502–517 (2017).
 118. Belingeri, M., Moroni, G. & Messa, P. Available and incoming therapies for idiopathic focal and segmental glomerulosclerosis in adults. *J. Nephrol.* **0**, 0 (2017).
 119. Gbadegesin, R., Lavin, P., Foreman, J. & Winn, M. Pathogenesis and Therapy of Focal Segmental. *Pediatr. Nephrol.* **26**, 1001–1015 (2013).
 120. Meyrier, A. Treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Expert Opin Pharmacother* **6**, 1539–1549 (2005).
 121. Praga, M. & Gsf, D. D. E. L. A. Tratamiento de la glomeruloesclerosis segmentaria y focal. (2005).
 122. Han, K. H. & Kim, S. H. Recent Advances in Treatments of Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis in Children. *Biomed Res. Int.* **2016**, (2016).
 123. Frishman, W. H., Cheng-Lai, A. & Nawarskas, J. *Current Cardiovascular Drugs.* (Current Medicine Group, 2005).
 124. Lombardo Earl, G. Comparación fitoquímica entre raíces se *Sechium edule* con actividad antihipertensiva cultivadas en campo y raíces propagadas en hidroponía. (Instituto Politécnico Nacional, 2008).
 125. Lombardo-Earl, G. *et al.* Extracts and fractions from edible roots of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. with antihypertensive activity. *Evidence-based Complement. Altern. Med.* **2014**, (2014).

126. Celeste, T. M. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LA RAÍZ DE *Sechium edule* (CHAYOTE) PARA REPARAR EL DAÑO TISULAR Y CONTROLAR LA INFLAMACIÓN EN UN MODELO MURINO DE HIPERTENSIÓN. (Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2013).
127. Gabriela, C. M. Evaluación Farmacológica del Extracto Acétonico y Etanólico de la Raíz de *Sechium edule* (CHAYOTE) sobre la Hipertensión e Inflamación Asociada. (Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2014).
128. Trejo-Moreno, C. *et al.* Acetone fraction from *Sechium edule* (Jacq.) S.w. edible roots exhibits anti-endothelial dysfunction activity. *J. Ethnopharmacol.* **220**, 75–86 (2018).
129. Scott, T. A., Bladt, S. & Zgainski, E. M. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. (Springer Berlin Heidelberg, 2013).
130. *Ley Federal para el Control de Precursores Químicos, Productos Químicos Esenciales y Maquinas para Elaborar Cápsulas, Tabletas y/o Comprimidos*. (1999).
131. Oetl, K. *et al.* Oxidative damage of albumin in advanced liver disease. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.* **1782**, 469–473 (2008).
132. Bernardi, M., Maggioli, C. & Zaccherini, G. Human albumin in the management of complications of liver cirrhosis. *Annu. Updat. Intensive Care Emerg. Med.* **2012** (2012). doi:10.1007/978-3-642-25716-2
133. Schießl, I. M. *et al.* Intravital imaging reveals angiotensin II-induced transcytosis of albumin by podocytes. *J. Am. Soc. Nephrol.* **27**, 731–744 (2016).
134. Lim, B. J., Yang, J. W., Do, W. S. & Fogo, A. B. Pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. *J. Pathol. Transl. Med.* **50**, 405–410 (2016).
135. Kanbay, M. *et al.* Serum uric acid level and endothelial dysfunction in patients with nondiabetic chronic kidney disease. *Am. J. Nephrol.* **33**, 298–304 (2011).
136. Filiopoulos, V., Hadjiyannakos, D. & Vlassopoulos, D. New insights into uric acid effects on the progression and prognosis of chronic kidney disease. *Ren. Fail.* **34**, 510–520 (2012).
137. Dunn, S. R. *et al.* Induction of creatininase activity in chronic renal failure: Timing of creatinine degradation and effect of antibiotics. *Am. J. Kidney Dis.* **29**, 72–77 (1997).
138. Gounden, V. & Jialal, I. *Renal Function Tests*. (2019).
139. Dinarello, C. A. Blocking IL-1 in systemic inflammation. *J. Exp. Med.* **201**, 1355–1359 (2005).
140. Weber, A., Wasiliew, P. & Kracht, M. Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci. Signal.* **3**, (2010).
141. Silverstein, D. M. Inflammation in chronic kidney disease: Role in the progression of renal and cardiovascular disease. *Pediatr. Nephrol.* **24**, 1445–1452 (2009).
142. Carrero, J. J., Park, S. H., Axelsson, J., Lindholm, B. & Stenvinkel, P. Cytokines, atherogenesis, and hypercatabolism in chronic kidney disease: A dreadful triad. *Semin. Dial.* **22**, 381–386 (2009).
143. Ortega, L. M. & Feroni, A. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulonephritis, and end-stage kidney disease. *Int. J. Interf. Cytokine Mediat. Res.* **2**, 49–62 (2010).
144. Sova, M. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Cinnamic Acid Derivatives. *Mini Rev. Med. Chem.* **12**, 749–767 (2012).

145. Cai, P., Kaphalia, B. S. & Ansari, G. A. S. Methyl palmitate: Inhibitor of phagocytosis in primary rat Kupffer cells. *Toxicology* **210**, 197–204 (2005).
146. Sarkar, S., Khan, M. F., Kaphalia, B. S. & Ansari, G. A. S. Methyl palmitate inhibits lipopolysaccharide-stimulated phagocytic activity of rat peritoneal macrophages. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* **20**, 302–308 (2006).
147. Saeed, N. M. *et al.* Anti-inflammatory activity of methyl palmitate and ethyl palmitate in different experimental rat models. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **264**, 84–93 (2012).
148. Esra Günes, F. Medical use of squalene as a natural antioxidant. *J. Marmara Univ. Inst. Heal. Sci.* **3**, 1 (2013).
149. Huang, Z. R., Lin, Y. K. & Fang, J. Y. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: Potential uses in cosmetic dermatology. *Molecules* **14**, 540–554 (2009).
150. Amarowicz, R. Squalene: A natural antioxidant? *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **111**, 411–412 (2009).
151. Cert, A., Lanzón, A., Carelli, A. A., Albi, T. & Amelotti, G. Formation of stigmasta-3,5-diene in vegetable oils. *Food Chem.* **49**, 287–293 (1994).
152. Park, S. J. *et al.* Anti-inflammatory Steroid from *Phragmites* rhizoma Modulates LPS-Mediated Signaling Through Inhibition of NF- κ B Pathway. *Inflammation* **39**, 727–734 (2016).
153. Zahid, M., Arif, M., Rahman, M. A., Singh, K. & Mujahid, M. Solvent Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry Analysis of *Annona squamosa* L. Seeds for Determination of Bioactives, Fatty Acid/Fatty Oil Composition, and Antioxidant Activity. *J. Diet. Suppl.* **15**, 613–623 (2018).
154. Chaudhary, J., Jain, A., Kaur, N. & Kishore, L. Stigmasterol : A Comprehensive Review. (2011).
155. Panda, S., Jafri, M., Kar, A. & Meheta, B. K. Thyroid inhibitory, antiperoxidative and hypoglycemic effects of stigmasterol isolated from *Butea monosperma*. *Fitoterapia* **80**, 123–126 (2009).
156. Alvarado Ojeda, Z. A. Efecto Hepatoprotector del Extracto Hidroalcohólico de raíz de *Sechium edule* Estandarizado en Ácido Cinámico. (Universidad Autónoma del Estado de Morelos, 2019).
157. Lozano, J. V., Llisterri, J. L., Aznar, J. & Redon, J. Losartan reduces microalbuminuria in hypertensive microalbuminuric type 2 diabetics. *Nephrol. Dial. Transplant.* **16**, 85–89 (2001).
158. Oh, T. R. *et al.* Hyperuricemia has increased the risk of progression of chronic kidney disease: propensity score matching analysis from the KNOW-CKD study. *Sci. Rep.* **9**, 1–9 (2019).
159. Feig, D. I. Serum uric acid and the risk of hypertension and chronic kidney disease. *Curr. Opin. Rheumatol.* **26**, 176–185 (2014).
160. Sancho Bueso, T., Bernardino de la Serna, I. & García Puig, J. Un paciente con hiperuricemia. *Med. Integr.* **35**, 100–111 (1980).
161. Miao, Y. *et al.* Effect of a reduction in uric acid on renal outcomes during losartan treatment: A post hoc analysis of the reduction of endpoints in non-insulin-dependent diabetes mellitus with the angiotensin ii antagonist losartan trial. *Hypertension* **58**, 2–7 (2011).
162. Würzner, G. *et al.* Comparative effects of losartan and irbesartan on serum uric acid in hypertensive patients with hyperuricaemia and gout. *J. Hypertens.* **19**, 1855–1860 (2001).
163. Sandilands, E. A., Dhaun, N., Dear, J. W. & Webb, D. J. Measurement of renal function in patients with chronic kidney disease. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **76**, 504–515 (2013).
164. Traynor, J., Mactier, R., Geddes, C. C. & Fox, J. G. How to measure renal function in clinical practice. *Br.*

- Med. J.* **333**, 733–737 (2006).
165. Stevens, L. A., Coresh, J., Greene, T. & Levey, A. S. Assessing kidney function - Measured and estimated glomerular filtration rate. *N. Engl. J. Med.* **354**, 2473–2483 (2006).
 166. Keppler, A. *et al.* Plasma creatinine determination in mice and rats: An enzymatic method compares favorably with a high-performance liquid chromatography assay. *Kidney Int.* **71**, 74–78 (2007).
 167. Klein, J. D., Murrell, B. P., Tucker, S., Kim, Y. H. & Sands, J. M. Urea transporter UT-A1 and aquaporin-2 proteins decrease in response to angiotensin II or norepinephrine-induced acute hypertension. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* **291**, 952–959 (2006).
 168. Sands, J. M., Blount, M. A. & Klein, J. D. Regulation of renal urea transport by vasopressin. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* **122**, 82–92 (2011).
 169. Murad, H. A. S., Rafeeq, M. M. & Malatani, N. N. Effects of candesartan and losartan on thioacetamide induced low grade renal dysfunction in rats. *Int. J. Pharmacol.* **14**, 1046–1050 (2018).
 170. Ivanov, M. *et al.* Losartan improved antioxidant defense, renal function and structure of postischemic hypertensive kidney. *PLoS One* **9**, 1–7 (2014).
 171. Ahmed Elewa, H. Study the Nephro-protective Effects of Losartan on Rats. **1**, 1–5 (2016).



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE MEDICINA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Posgrado

Cuernavaca, Mor., 24 de febrero de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich
Directora
Facultad de Medicina
Presente:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis “**Estudio Químico y Actividad Nefroprotectora del Extracto Hidroalcohólico Estandarizado de la Raíz de *Sechium edule***”, que para obtener el grado de Maestro en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Alejandro Costet Mejía. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente

Dra. Gabriela Rosas Salgado

Calle Leñeros esquina Iztaccihuatl s/n Col. Volcanes. C.P. 62350. Cuernavaca, Morelos. México.
Tel. (777)3 29-3473 • jefatura_posgrado.medicina@uaem.mx

**UA
EM**

RECTORÍA
2017-2023

Una universidad de excelencia



FACULTAD DE MEDICINA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Posgrado

Cuernavaca, Mor., 24 de febrero de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich
Directora
Facultad de Medicina
P r e s e n t e:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis “**Estudio Químico y Actividad Nefroprotectora del Extracto Hidroalcohólico Estandarizado de la Raíz de *Sechium edule***”, que para obtener el grado de Maestro en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Alejandro Costet Mejía. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen l se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Dr. Alejandro Zamilpa Alvarez

Calle Leñeros esquina Iztaccihuati s/n Col. Volcanes. C.P. 62350. Cuernavaca, Morelos. México.
Tel. (777)3 29-3473 • jefatura_posgrado.medicina@uaem.mx

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE MEDICINA

Secretaría de Docencia

Jefatura de Posgrado

Cuernavaca, Mor., 24 de febrero de 2020.

Dra. Vera Lucia Petricevich
Directora
Facultad de Medicina
P r e s e n t e:

Estimada Dra. Petricevich, por este conducto me permito informarle que he revisado el trabajo de Tesis "**Estudio Químico y Actividad Nefroprotectora del Extracto Hidroalcohólico Estandarizado de la Raíz de *Sechium edule***", que para obtener el grado de Maestro en Medicina Molecular me proporcionó el alumno Alejandro Costet Mejía. Le comunico que su contenido es adecuado y suficiente, por lo que de acuerdo al artículo 110 del Reglamento de Posgrado de la UAEM le otorgo:

Dictamen I se aprueba el trabajo de tesis tal como se presenta.

Así mismo, le agradezco la invitación a participar en este programa educativo, reiterando además mi disposición para seguir colaborando en este tipo de actividades. Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

A t e n t a m e n t e

Dr. Mario Ernesto Cruz Muñoz

Calle Leñeros esquina Iztaccihuatl s/n Col. Volcanes. C.P. 62350. Cuernavaca, Morelos. México.
Tel. (777)3 29-3473 • jefatura_posgrado.medicina@uaem.mx

**UA
EM**

RECTORÍA
2017-2022

Una universidad de excelencia