



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Nutrición

**Efecto nefroprotector de la ingesta del zumo de raíz
Daucus carota (zanahoria) variedad morada en la
toxicidad inducida por gentamicina en ratas**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición

AUTOR

Erika Georgette MENDOZA COCHACHI

ASESOR

Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Mendoza, E. Efecto nefroprotector de la ingesta del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada en la toxicidad inducida por gentamicina en ratas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código Orcid del autor (dato opcional):

Código Orcid del asesor o asesores (obligatorio):

0000 – 0002 – 6224 - 9165

DNI del autor:

47745711

Grupo de Investigación:

Salutaris Cibus e Plantae

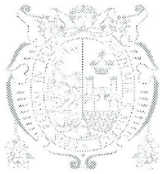
Institución que financia parcial o totalmente la investigación

Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación. Debe incluir localidades y coordenadas geográficas

Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición

Año o rango de años que la investigación abarcó:

2017 - 2019



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina



Escuela Profesional de Nutrición

"Año de la Lucha contra la Corrupción y la Impunidad"

**ACTA N° 020 DE EXAMEN DE TITULACIÓN
MODALIDAD DE SUSTENTACIÓN DE TESIS**

Conforme a lo estipulado en el artículo 45° de la Ley Universitaria 30220, el Jurado de Sustentación nombrado por el Comité de Gestión y la Dirección de la Escuela Profesional de Nutrición, conformado por las siguientes Docentes:

Presidente: Dr. Segundo Teófilo Calderón Pinillos

Miembros: Dra. Maribel Tirza Grados Marquez

Mg. Luis Pavel Palomino Quispe

Asesor: Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Se reunió en la ciudad de Lima, el día miércoles 21 de agosto del 2019, para proceder a evaluar la **Sustentación de Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciada en Nutrición** del bachiller:

ERIKA GEORGETTE MENDOZA COCHACHI

Código de Matricula N° 12010188

Tesis: "Efecto nefroprotector de la ingesta del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada en la toxicidad inducida por gentamicina en ratas"
(Aprobado con RD N° 2738-D-FM-2016)

La mencionada bachiller aprueba el examen de titulación, mediante la modalidad de sustentación de tesis, obteniendo la calificación de:

DIECISEIS

(En letras)

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación firma en señal de conformidad.

Dr. Segundo Teófilo Calderón Pinillos
Presidente

Dra. Maribel Tirza Grados Marquez

Miembro

Mg. Luis Pavel Palomino Quispe

Miembro

Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Asesor



Dedicatoria

A mis padres por estar siempre conmigo y brindándome la confianza en cada paso que doy, y sobre todo por el sacrificio que ellos hicieron por todo este tiempo para poder alcanzar mi meta.

Agradecimientos

Primeramente, a Dios por estar siempre presente cuidándome y guiándome en toda mi carrera y por darme fuerzas en los momentos difíciles.

A mi alma mater, Universidad Nacional Mayor de San Marcos por ayudarme en mi formación académica y humanitaria para lograr desarrollarme en diferentes oportunidades que se presenten.

A los miembros del jurado por el tiempo que se tomaran en la revisión del trabajo y sustentación.

A mi asesor el Mg. Oscar Huamán Gutiérrez por su apoyo y correcciones para la culminación de este trabajo al compartir conocimiento científico.

Al Centro de Investigación y Bioquímica y Nutrición Alberto Guzmán Barrón por haberme brindado sus instalaciones para el desarrollo de este trabajo.

Finalmente quiero dedicar a Juan, por darme su apoyo incondicional en cada momento que lo necesitaba.

RESUMEN:

Objetivos: Determinar el efecto nefroprotector del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada frente a la toxicidad inducida por gentamicina en ratas.

Materiales y métodos: Presenta un diseño analítico-experimental, prospectivo de corte longitudinal; se utilizó 28 ratas machos albinas de la cepa Holtzman de 12 semanas de edad, con un peso promedio de 210 ± 5 g. Se empleó el zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada por medio de un extractor casero. Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria en cuatro grupos (n=7), las cuales recibieron los siguientes tratamientos por 27 días, vía peroral grupo I y II: suero fisiológico; grupo III: 2 mL/kg de zumo de *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada; grupo IV: 10mL/kg de zumo de *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada. A partir del día 21 por vía intramuscular los grupos II al IV recibieron gentamicina a dosis de 50 mg/kg durante siete días. **Principales medidas de resultados:** Metabolitos nitrogenados séricos y excretados como creatinina, urea y ácido úrico, y proteínas en orina. **Resultados:** El zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada redujo los niveles séricos y esto se debe al % de inhibición de la creatinina en un 71,8%, urea en un 34,6%, ácido úrico en un 57,1% y en los metabolitos excretados se encontró una mayor excreción de urea en un 45,9% y creatinina 115,6% a menor dosis y respecto a las proteínas se evidenció una mayor excreción en ambas dosis con un 79,4% y 86,6%. **Conclusión:** En el presente estudio de investigación la administración del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada presenta efecto nefroprotector.

Palabras claves: planta medicinal; *Daucus carota*; gentamicina; zanahoria morada; nefroprotección.

ABSTRACT

Objectives: To determine the nephroprotective effect of root juice *Daucus carota* (carrot) purple variety against the gentamicin-induced toxicity in rats. **Materials and methods:** It presents an analytical-experimental design, prospective of longitudinal cut; 28 albino male rats of the 12-week-old Holtzman strain were used, with an average weight of 210 ± 5 g. *Daucus carota* (carrot) purple variety juice was used by means of a homemade extractor. The rats were randomly distributed in four groups ($n = 7$), which received the following treatments for 27 days, peroral route group I and II: physiological serum; group III: 2 mL / kg of juice of *Daucus carota* (carrot) purple variety; Group IV: 10mL / kg of juice of *Daucus carota* (carrot) purple variety. From day 21 intramuscularly, groups II through IV received gentamicin at a dose of 50 mg / kg for seven days. **Main outcome measures:** Serum nitrogen metabolites excreted as creatinine, urea and uric acid, and proteins in urine. **Results:** *Daucus carota* root juice (carrot) purple variety reduced serum levels and this is due to% inhibition of creatinine in 71.8%, urea in 34.6%, uric acid in 57.1 % and in excreted metabolites a greater excretion of urea was found in 45.9% and creatinine 115.6% at lower doses and with respect to proteins, greater excretion was shown in both doses with 79.4% and 86, 6% **Conclusion:** In the present research study the administration of *Daucus carota* root juice (carrot) purple variety has a nephroprotective effect.

Keywords: medicinal plant; *Daucus carota*; gentamicin; purple carrot; nephroprotection.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. HIPOTESIS	9
2.1. HIPÓTESIS	9
2.2. OBJETIVOS	9
III. MÉTODO	10
3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN (según Argimón).....	10
3.2. MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS	10
3.3. MATERIALES	10
3.4. VARIABLES	11
3.5. PLAN DE PROCEDIMIENTOS	12
3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS	17
3.7. ANÁLISIS DE DATOS ESTADÍSTICOS	17
IV. RESULTADOS	18
4.1. Niveles de concentración de metabolitos séricos	18
4.2. Niveles de metabolitos excretados en 24 horas	19
4.3. Niveles de proteína excretada en 24 horas	19
V. DISCUSIÓN	21
VI. CONCLUSIONES	27
6.1. CONCLUSIONES	27
6.2. RECOMENDACIONES	27
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28
ANEXOS	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Distribución de grupos según tratamiento	13
Tabla 2: Niveles de concentración de metabolitos séricos según grupo de tratamiento	18
Tabla 3: Niveles de metabolitos excretados en 24 horas según grupo de tratamiento	19
Tabla 4: Excreción de proteínas en 24 horas según grupo de tratamiento.....	20

I. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) en estos últimos años se ha convertido en un problema de salud pública grave a nivel global según la Organización Mundial de la Salud (OMS), (1) debido a su alta morbilidad, al elevado costo que genera los diferentes tratamientos por hemodiálisis, diálisis peritoneal y por último el trasplante de riñón que es muy difícil de acceder (2). Según la OMS y su filial siendo la Organización Panamericana de la Salud (OPS) se unen con la Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión (SLANH) señalan que la ERC afecta casi al 10% de la población a nivel internacional (3).

En un documento presentado por The Global Kidney Health Atlas y reunido por la Sociedad Internacional de Nefrología (SIN) nos muestra a los países desarrollados como Bélgica y Arabia Saudí con una prevalencia del 24%, siguiéndoles Polonia 18%, Alemania 17%, Reino Unido y Singapur 16% y los países bajos con una menor prevalencia de 5% (4).

En el 2017 en la ciudad de México se llevó a cabo el Primer Foro Global de Políticas Públicas en Enfermedad Renal durante el Congreso Mundial de Nefrología de la Sociedad Internacional de Nefrología (ISN) dándonos a conocer que en Latinoamérica el 95% de fallecimiento se debe a sus dos principales causas de la ERC la diabetes mellitus y la hipertensión arterial, también menciona que en los países de Guatemala, México, Nicaragua y El Salvador la ERC es considerada una de las causas principales de mortalidad temprana (5).

En el Perú la enfermedad renal crónica (ERC) poco a poco se está convirtiendo en un problema de salud pública, por presentar una tendencia creciente, ya que cada año se reportan más casos de personas que padecen esta enfermedad. Este problema se debe a que nuestro país está sufriendo cambios en la población como por ejemplo un aumento en la esperanza de vida que por consiguiente habrá un mayor número de personas con edad avanzada siendo más propensos a padecer enfermedades degenerativas. (6)

Otro cambio que hoy en día se está observando es que la prevalencia de enfermedades transmisibles se encuentra menor que las enfermedades no

transmisibles, debido al cambio de estilo de vida de las personas, al sedentarismo, mayor consumo de alimentación inadecuada, todo esto trae como consecuencia diferentes tipos de enfermedades como diabetes, HTA, obesidad, dislipidemia, etc. Siendo estas patologías causas principales de la ERC, pero también hay otros factores de riesgo como la glomerulonefritis crónica, uropatía obstructiva, estrés oxidativo, etc que en la actualidad se está tomando en cuenta para brindar un tratamiento adecuado. (6)

Según MINSA la ERC desde el 2010 hasta el 2017 se reportaron 188 686 casos, presentando la población adulto mayor la cifra más alta con un 52.5%, siguiéndoles la población de 30 a 59 años con un 36.1% y también se encontró en menor cantidad a la población de niños menores de 12 años con un 2.1%. Esta enfermedad está afectando de una forma creciente a diferentes edades en la población peruana. (7)

En el Perú en los últimos años ha aumentado la prevalencia de tratamiento de la ERC según el Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades del Perú (CDC-Perú) para el año 2017, el tratamiento de remplazo renal que consta de diálisis peritoneal, hemodiálisis y trasplante renal, en el sistema de EsSalud la prevalencia aumentó a 1137 pacientes por millón de población (pmp) y en el MINSA 209 pmp. (2)

Dos de las causas principales de la ERC es la hipertensión arterial y la diabetes mellitus según la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES) 2018 se encontraron en el grupo etario mayor de 15 años con diagnóstico de hipertensión arterial 9.5% de la población y 3.6% de diabetes mellitus, y a nivel de región con mayor porcentaje de 10.6% en la región costa, siguiéndole la selva con 10% y en menor porcentaje Lima Metropolitana y la región Sierra con 9.4% y 8.4% en hipertensión arterial. En cambio, en el caso de diabetes mellitus mayor porcentaje se encuentra en Lima Metropolitana con un 4.4%. (8)

Según la Sociedad Peruana de Nefrología (SPN) en el 2017 la enfermedad renal crónica está perjudicando a la población peruana en un 10%, esto nos muestra que tal población ha perdido en parte la función del renal en ese mismo año se habían registrado 13 000 pacientes que presentaban la enfermedad en un estadio v recibiendo como tratamiento diálisis (9).

Este órgano tiene una forma similar a los frijoles, situándose detrás del abdomen superior. En los adultos este órgano tiene un peso aproximado de 113 a 170 gramos

con un tamaño promedio de 10 a 12 cm de longitud, de 5 a 6 cm de ancho y de grosor 2,5 cm (10).

Al realizar un corte longitudinal al riñón se observa dos regiones distintas, la cara externa es la corteza renal donde se encuentran la capsula de Bowman y la cara interna llamada medula renal y su color varía entre marrón y rojo, donde ubicamos a las pirámides renales que son entre ocho y dieciocho. Estas pirámides tienen la función de juntar los tubos que recogen la orina una vez fabricada en el riñón, así mismo también junta los vasos sanguíneos (11).

En el ser humano cada riñón está formado por 1 millón de nefronas en promedio, que son las unidades funcionales. Dichas nefronas están constituidas por un glomérulo y túbulo renal. El glomérulo es una red de tubos capilares que se ubica dentro de la capsula de Bowman formando el corpúsculo renal (Malpighi) y los túbulos renales como el túbulo contorneado proximal, túbulo recto proximal, túbulo contorneado distal, túbulos colectores y el asa de Henle que presenta una rama ascendente y descendente (12) (13).

Estas nefronas se encargan de las principales funciones del riñón, como es la filtración glomerular que es una de las primeras fases en la formación de la orina. Esta etapa se lleva a cabo en la capsula de Bowman donde se filtra el plasma sanguíneo que contiene agua y todos los demás constituyentes de la sangre, pero no se filtran los elementos formes de la sangre (hematíes leucocitos y plaquetas) ni proteínas (14)

La reabsorción es la segunda función principal del riñón que se lleva a cabo por el funcionamiento de las bombas de Na^+/K^+ que se encuentran en la región basal de las células tubulares (15). El líquido que fue filtrado en el glomérulo, pasa al túbulo contorneado proximal donde se absorbe aproximadamente un 80% y otras sustancias como la glucosa, aminoácidos, urea e iones como Ca^{+2} , Mg^{+2} , fosfatos, lactato y citrato que luego ingresaran a los capilares peritubulares, atravesando las paredes de ambas estructuras (14).

La secreción tubular es la última función del riñón que se da en el túbulo contorneado distal donde se encuentra el líquido tubular que contiene los materiales de los capilares peritubulares y de las células de los túbulos renales, con el fin de regular y eliminar sustancias del torrente circulatorio hacia la orina. Las primeras sustancias secretadas son H^+ , K^+ , NH_4^+ , creatinina y algunas drogas como la penicilina (15).

Una de las patologías del riñón más frecuente que se está evidenciando es la enfermedad renal crónica (ERC) que va afectando la forma y función renal. Sus manifestaciones clínicas son muy variadas, y esto depende a que parte del riñón se encuentre dañado (16).

En el 2002 se publicaron por primera vez las guías Kidney Disease Outcome Quality Initiative (K/DOQI) en donde se establece el concepto, la forma de diagnosticar y clasificación de la Enfermedad Renal Crónica (ERC). Cuando la Filtración Glomerular (FG) es menor a $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ durante o mayor a tres meses o se encuentre una lesión renal que se manifiesta como alteraciones en la forma y función renal que ocasionaría una disminución de la FG (17).

La ERC es clasificada en cinco estadios según la Tasa de Filtración Glomerular (TFG), que va cambiando según los factores no modificables (edad, sexo), presentando un valor normal de $120\text{-}130 \text{ mL/min/1,73m}^2$, que va ir reduciendo según avanza la edad. Cuando esta TFG es menor de $60 \text{ mL/min/1,73m}^2$ la función renal presentaría una disminución de más del 50% (18).

Con respecto a la clasificación el primer estadio se presenta con una TFG normal o mayor a $\geq 90 \text{ mL/min/1,73m}^2$ y en el segundo estadio se manifiesta una leve disminución de la TFG entre $89\text{-}60 \text{ mL/min/1,73m}^2$. Casi siempre en estos dos estadios se caracteriza por ser asintomático y su diagnóstico es de manera casual, en cambio en el tercer estadio ya hay manifestaciones clínicas y complicaciones, este estadio se clasifica en dos sub etapas 3a que presenta una TFG entre 59 y 45 mL/min/1,73m^2 y 3b entre 44 y 30 mL/min/1,73m^2 (19).

El cuarto estadio ya se presenta un daño renal mayor con una TFG entre 15 y 30 mL/min/1,73m^2 y con una mayor exposición de ingresar al quinto estadio. Este último estadio la TFG es menor a $15 \text{ mL/min/1,73m}^2$, necesitándose como tratamiento diálisis o un trasplante renal (19).

Existen dos causas fundamentales para el desarrollo de esta enfermedad como la diabetes mellitus y la presión arterial alta, siendo estas dos causantes de alrededor de dos tercios de los casos (20). En el año 2017 en Latinoamérica el 95% de muerte por ERC se debieron justo a estas causas (5). También existen otras causas asociadas al desarrollo de la enfermedad renal crónica (ERC) como son los malos hábitos alimentarios, sedentarismo, consumo de alcohol y la administración de diversos

medicamentos nefrotóxicos, (17) entre ellos encontramos a la familia de los aminoglucósidos, que en la actualidad se usa mayormente debido a su carácter bactericida frente a los bacilos gramnegativos aerobios que causan múltiples enfermedades (21).

Esta familia de aminoglucósidos consta de diferentes fármacos que se utilizan como tratamiento de varias patologías como (endocarditis infecciosa, neumonía nosocomial, pielonefritis aguda, infecciones urinarias, etc.). Cuando el fármaco ingresa a nuestro cuerpo no se asimilan ni se transforman, más bien su eliminación es por filtración glomerular (22). En el caso de la toxicidad renal causa una serie de alteraciones clínicas una de ellas es la falla renal no oligúrica, en aumento de creatinina y urea sérica, con proteinuria y alteración de electrolitos. Todo esto se debe a un tratamiento de varios días o a una dosis elevada (21) (23).

En diversos estudios se ha demostrado que el estrés oxidativo juega un papel clave en la toxicidad renal por gentamicina, debido a que induce la producción de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en la mitocondria renal, ya que este fármaco actúa directamente en las enzimas mitocondriales; (24) el H_2O_2 que fue generado por las mitocondrias se origina de la dismutación del anión superóxido (O_2^-), por lo tanto, la formación de H_2O_2 sugiere el incremento de la producción del anión superóxido. Estos dos compuestos químicos pueden relacionarse y generar especies reactivas de oxígeno (ROS) (25).

Las especies reactivas de oxígeno consta mayormente de moléculas que derivan del oxígeno que implica a los radicales libres (superóxido, hidroxilo, etc) y los no radicales que se caracterizan por ser muy reactivos como el H_2O_2 . Estas especies cumplen un rol fundamental en los procesos fisiológicos, sin embargo, cuando sus niveles aumentan en gran medida pueden ocasionar daños a nivel celular, conociéndose este proceso como estrés oxidativo (26) (27).

Estas especies reactivas generan severos efectos tras la ingesta de gentamicina a nivel renal como apoptosis, a nivel vascular cambios en el flujo renal y tasa de filtración glomerular, lesión en células del mesangio (28). Diversos estudios buscan sustancias eliminadoras del ROS, ya que estos provocan necrosis tubular. Por otro lado, se ha demostrado que la administración de diversos antioxidantes presenta una reducción del daño renal inducido por gentamicina (22).

Hoy en día se está tomando interés por terapias con antioxidantes, ya que previenen, retrasan y controlan enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) (29) que son las principales causas de muerte, por esta razón se recomienda incluir en la dieta diaria mayor consumo de frutas y verduras (30) que dentro de ellas encontramos a la vitamina C, vitamina E, vitamina A, minerales y polifenoles (31) que funcionan como antioxidante deteniendo el deterioro de órganos producido por el incremento de estrés oxidativo (29).

Debido a que la enfermedad renal crónica es de evolución progresivo, una forma de prevenir o retrasar dicha enfermedad es mediante un mayor consumo de alimentos que contengan antioxidantes y fitonutrientes o fitoquímicos que son compuestos químicos de las plantas, frutas y vegetales que poseen efectos beneficiosos para la salud, aunque no sean considerados nutrientes esenciales (32).

El cultivo de las zanahorias se inició en Afganistán, las primeras raíces que salieron eran de color moradas y amarillas, poco a poco se fue extendiendo hasta llegar a Europa occidental. A principios del siglo XVII se produce una variedad de colores y es donde por primera vez se cultivan zanahorias de color blancas y anaranjadas (33). Esta raíz anaranjada se volvió más conocida hasta hoy en día debido a que algunos agricultores holandeses cultivaron una especie mutante más dulce, para honrar a la Casa Real Orange-Nassau (34).

La zanahoria (*Daucus carota*) variedad morada es una raíz que pertenece a la familia botánica Apiaceas, actualmente está cobrando importancia por tener el doble de α y β caroteno que las zanahorias anaranjadas, presentando mayor cantidad de vitaminas A, B, C y E, así mismo una muy buena fuente de fibra. El color purpura se debe a las antocianinas debido a un cambio molecular de pH de ácido a básico (33), presenta un sabor un poco amargo cuando se consume al natural y cuando se somete a cocción es más dulce (34).

La zanahoria morada presenta compuestos poliacetilenos de gran importancia, ya que se le atribuye efectos beneficiosos en la prevención de patologías como el cáncer y el temprano envejecimiento celular. También se ha encontrado recientemente que tiene relación con el sabor amargo de esta raíz, siendo el faltarinol el más resaltante, debido a su alta actividad biológica frente a células tumorales tanto in vitro como in vivo. Las antocianinas son encargadas de dar los colores rojos, violeta y azules a las plantas, el atractivo color violeta de la zanahoria se debe al químico fenilvinilénico (35).

En la zanahoria morada encontramos tres antocianinas de las seis más comunes, siendo la cianidina, peonidina y pelargonidina. El componente mayoritario cianidínico de la zanahoria morada es la cianidina 3-O-ferulosilxilosilglucosil-galactosa, el cual se le ha demostrado actividad anticancerígena. La zanahoria morada presenta un gran poder antioxidante y anti-radicalia cuando se unen las peonidinas, el componente mayoritario de las cianidinas y el resto de ellas (35).

En la actualidad no se han realizado estudios donde se pueda observar el efecto protector de *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada.

En un estudio realizado por Sodimbaku 2016, demostró que la ingesta simultanea del extracto etanólico de *Daucus carota* (zanahoria naranja) reduce el efecto de la nefrotoxicidad por gentamicina. Esta protección es debido a las cantidades de carotenoides como el β -caroteno, polifenoles y componentes poliacetileno con capacidad antioxidante y otros compuestos de la zanahoria naranja con propiedad anti-inflamatorios celulares (36).

Poudyal 2010, realizó un estudio de comparación de jugo de zanahoria morada y β – caroteno con la finalidad de revertir los cambios estructurales y funcionales a un modelo de síndrome metabólico inducido por la dieta, los resultados obtenidos fueron favorables con el jugo de zanahoria purpura a una dosis de 50 mL/kg en comparación del β -caroteno a 400 mg/kg, ya que la presencia de sustancias antioxidantes y antiinflamatorios del zumo de la zanahoria purpura es mucho mayor (37).

En el año 2014 se reportó que el daño oxidativo del hígado y riñón inducido por fluoruro es protegido por el pigmento del maíz morado, se demostró que el fluoruro provoca daño y apoptosis de las células de estos órganos, pero a una dosis de 5 g/kg y de 10 g/kg del pigmento purpura del Zea maíz alivia los efectos adversos producidos por el toxico, debido a que presenta grandes cantidades de flavonoides como la cianidina, pelargonidina, peonidina. Dentro de las antocianinas presentes se observa que también están presentes en la zanahoria morada (38).

En el 2012 se reportó un estudio que la ingesta del extracto del fruto de *Solanum xanthocarpum* (hierba mora) atenúa la nefrotoxicidad inducida por gentamicina. Al momento del tratamiento con el extracto del fruto en diferentes dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg se observó una disminución significativa del daño producido por el fármaco, debido a que presenta antioxidantes, glucósidos flavonoides como la

apigeninaquercetina, lo cual actúa como un potente eliminador de radicales libres para evitar los efectos tóxicos de la gentamicina (39).

La investigación planteada de una manera u otra contribuirá a la prevención de las enfermedades renales tipo crónica, ya que estas enfermedades son consecuencia o causa de la diabetes como de la hipertensión arterial que afecta directamente a este órgano. Por esta razón se busca plantear un tratamiento natural que sería de bajo costo y de fácil acceso, mediante el zumo de la raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada, esta raíz tiene la capacidad de prevenir las consecuencias de daño renal.

Otro sector de beneficiarios sería las personas que cosechan esta raíz ya que aumentaría la producción y el consumo de esta misma llegando a un mayor número de mercados dentro del país como en exportación el cual aumentaría el ingreso económico al país y para ellos mismos también, por tales motivos se realizara este estudio para revalorizar y dar a conocer sus múltiples beneficios de esta raíz.

Este estudio tiene como finalidad estudiar el efecto nefroprotector del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada para prevenir o retrasar enfermedades a nivel del riñón, debido a sus componentes que presentan una capacidad antioxidante y ser una alternativa natural de tratamiento que muchas personas podrían acceder fácilmente.

II. HIPOTESIS

2.1. HIPÓTESIS

La ingesta del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada presenta efecto nefroprotector frente a la toxicidad inducida por gentamicina en ratas.

2.2. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar el efecto nefroprotector del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada frente a la toxicidad inducida por gentamicina en ratas.

Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada sobre los metabolitos nitrogenados séricos en ratas inducidas a toxicidad por gentamicina en ratas.
- Determinar el efecto del zumo de raíz *Daucus carota*(zanahoria) variedad morada sobre la excreción de los metabolitos nitrogenados en orina en ratas inducidas a toxicidad por gentamicina.
- Determinar el efecto del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada sobre la proteinuria en ratas inducidas a toxicidad por gentamicina.

III. MÉTODO

3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN (según Argimón)

El estudio presenta un diseño analítico-experimental, prospectivo de corte longitudinal (40).

3.2. MUESTRA Y UNIDAD DE ANÁLISIS

Se utilizaron 28 ratas machos albinas de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa Holtzman de 12 semanas de edad con un peso aproximado entre 200 a 220 gramos adquirida del Centro de Producción de la Universidad Agraria La Molina.

3.3. MATERIALES

Material biológico

- Ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* de la cepa Holtzman.
- Raíz de *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada.

Fármaco

- Gentamicina (Gentacar® 160 mg/2 mL) de Laboratorio Bagó

Equipos e instrumentos

- Centrífuga para tubos – GREETMED, modelo GTT119-300
- Extractor Óster 300 watts
- Balanza analítica electrónica RADWG® WTB-200 Max.200g d=0,001g
- Equipo de disección.
- Espectrofotómetro GREETMET, modelo NV203
- Baño María AVALIER, modelo VL-32
- Estufa, marca Unic' s®
- Pipeteador de volumen ajustable Kacil

Reactivos

- Reactivo de creatinina de Wiener Lab.
- Reactivo de ácido úrico de Wiener Lab.
- Reactivo de urea de Wiener Lab.
- Sulfato de cobre de Baker
- Carbonato de sodio de Riedel
- Reactivo Folin-Ciocalteau

3.4. VARIABLES

Variable independiente

Zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada: Es un líquido que se extrae de la parte comestible, encontrándose en un estado maduro y fresco (41).

Variable dependiente

Efecto nefroprotector: Es una acción de medidas preventivas y terapéuticas ya sea mediante el uso de fármacos o no para inhibir el daño renal (42).

Definición operacional de variables

VARIABLE	TIPO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	PUNTOS DE CORTE	ESCALA DE MEDICIÓN
Zumo de raíz <i>Daucus carota</i> (zanahoria) variedad morada	Independiente	Es un líquido que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas (41).	El zumo de la raíz <i>Daucus carota</i> (zanahoria) variedad morada se obtendrá de un extractor casero	Volumen de la ingesta del zumo	Dosis 2 mL/kg Dosis 10 mL/kg	Razón
Efecto nefroprotector	Dependiente	Es una inhibición del daño por un aminoglucósido (gentamicina) que ocasiona un descenso de la tasa de filtración glomerular y del flujo plasmático renal. Disminuyendo o evitando la progresión del daño renal (42).	Cantidad de metabolitos nitrogenados en 100mL de suero sanguíneo	% de inhibición de la [] de urea sérica (mg/dL) % de inhibición de la [] de ácido úrico sérico (mg/dL) % de inhibición de la [] de creatinina sérica (mg/dL)	Valores comparados con los grupos controles:	Razón
			Cantidad de metabolitos nitrogenados en orina	% de incremento de excreción de urea (mg/dL) % de incremento de excreción de ácido úrico (mg/dL) % de incremento de excreción de creatinina (mg/dL)	Valores comparados con los grupos controles:	
			Cantidad de excreción de proteínas en orina de 24 horas	% de inhibición de excreción de proteína (mL/24h)	Valores comparados con los grupos controles:	

3.5. PLAN DE PROCEDIMIENTOS

Obtención de la raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada

La muestra de la raíz variedad morada fue recolectada en la provincia de Tarma, Región de Junín, en las mejores condiciones y seleccionadas de acuerdo al tamaño, forma, textura y estado de madurez, se recolectó la muestra en enero del 2017.

Obtención del zumo *Daucus carota*

La zanahoria fue lavada, desinfectada, luego pelada y picada en sentido longitudinal. Por medio de un extractor casero se obtuvo el zumo que fue tamizado por una gasa para eliminar las partículas grandes. Este procedimiento se realizó cada día que duro el tratamiento.

Acondicionamiento de los animales

Se emplearon 28 ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* con 12 meses de edad que fueron adquiridos del Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) y colocadas en jaulas, las cuales tuvieron un período de acondicionamiento de cuatro días con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, recibiendo alimentación balanceada adquirida del Centro de Producción de la UNALM y agua *ad libitum*.

Evaluación del efecto nefroprotector: Para la inducción a daño renal a las ratas se administró gentamicina vía intramuscular, según el método empleado por De la Cruz Lilia (2009) (43).

Se tomó como muestra cinco ratas por grupo, teniendo en cuenta una incidencia de no desarrollar problema renal del 5%, por la efectividad de la toxicidad. Se aplicó la siguiente formula: (44)

$$X = N / ((A/100) * (B/100) * (C/100))$$

X= Número final de animales que se debe tomar en cuenta

N=5

A=100-5%=95%

B=100-5%=95%

C=100-5%=95%

$$X = N / ((95\%/100) * (95\%/100) * (95\%/100)) = 5.8$$

X= 6 ratas por grupo

Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria en cuatro grupos (n=7) recibiendo por vía per oral con una cánula rígida los siguientes tratamientos por 27 días: (Ver anexo I)

Tabla 1: Distribución de grupos según tratamiento

Grupos (n=7)	Del día 1 al 27	Del día 21 al 27
Grupo I	Suero fisiológico vía per oral 10 mL/kg/día	Suero fisiológico vía per oral 10 mL/kg/día + Suero fisiológico vía intramuscular 4.5 mL/kg/día
Grupo II	Suero fisiológico vía per oral 10 mL/kg/día	Suero fisiológico vía per oral 10 mL/kg/día + gentamicina v.im 50 mg/kg
Grupo III	Zumo 2 mL/kg	Zumo 2 mL/kg + gentamicina v.im 50 mg/kg
Grupo IV	Zumo 10 mL/kg	Zumo 10 mL/kg + gentamicina v.im 50 mg/kg

Concluido el tratamiento las ratas fueron sometidas a un ayuno sólido por 24 horas. Luego se colocaron en jaulas metabólicas para recolectar la orina por un periodo de 24 horas con agua *ad libitum*.

La orina recolectada fue medida y luego centrifugada, esta orina fue diluida 1/40 para la determinación de metabolitos nitrogenados y proteína.

Las ratas fueron anestesiadas con vapor de éter dietílico para realizar la punción cardiaca, la sangre fue centrifugada a 3 500 rpm para obtener el suero, en el cual se determinó urea, ácido úrico y creatinina.

Cuantificación de metabolitos

Determinación de creatinina. - Método de Jaffe 1886 (45).

- Reactivos:

Reactivo de trabajo: Ácido pícrico (20,7 mmol/L), Polioxietilénlauril éter, pH 12,4 (0.2%)

Reactivo revelador: Ácido acético (20%)

- Fundamento: La creatinina reacciona con el ácido pícrico en medio alcalino dando un complejo color rojo que se cuantifica mediante lectura fotométrica a una lambda de 510 nm. La determinación de creatinina puede llevarse a cabo por medio de una técnica de punto final.

- Protocolo: Se tomó 100 µL de muestra (suero u orina diluida 1/40), luego se le agregó 1 mL de reactivo de trabajo y se llevó a baño María a 37°C por 15 minutos. Luego se adicionó 50 µL del reactivo revelador y se dejó a 5 minutos a temperatura ambiente para después leer a 510 nm (46).

La concentración de creatinina en suero y orina fue determinada mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{Creatinina}]_{(\text{mg/dL})} = \frac{[\text{St}] \times \text{Abs}_m \times \text{Fd}}{\text{Abs}_s}$$

[St]: concentración del standard: 0,335 mg/dL

Fd: Factor de dilución: suero=1, orina=40

La excreción de creatinina en orina se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Exc. Creatinina endógena} = [\text{Creat.}]_{\text{endo}} \times \text{Vol (24horas)}$$

Para la creatinina sérica los datos fueron expresados en porcentaje de inhibición

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{IGC} - \text{IMP}}{\text{IGC}} \times 100$$

En la creatinina excretada los datos fueron expresados en porcentaje de incremento

$$\% \text{ incremento} = \frac{\text{IMP} - \text{IGC}}{\text{IGC}} \times 100$$

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

IMP: índice de la media de la muestra problema

Determinación de ácido úrico. - Método de Trinder P, 1969 (47).

- Reactivos:

Reactivo de trabajo: uricasa (≥ 26 U/L), peroxidasa (≥ 200 U/L), fosfatos (25nM), 4-aminofenazona (4-AF) (6nM), clorofenol (2,4nM)

- Fundamento: el ácido úrico se oxida por acción de la ureasa, formando peróxido de hidrogeno. Este peróxido de hidrogeno reacciona con el 4-aminofenazona (4-AF) y el clorofenol por acción de la enzima peroxidasa formando un complejo coloreado (rosado – rojo) llamado quinona, el cual será cuantificado en el espectrofotometro a una lambda de 505 nm.
- Protocolo: Se tomó 50 µL de muestra (suero u orina diluida 1/40) y se le agregó 2,5 mL de reactivo de trabajo; se homogenizó, para llevarlo a baño María por 15 minutos a 37°C y finalmente se realizó la lectura a una lambda de 510 nm (48).

La concentración de ácido úrico en suero fue determinada mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{Ácido Úrico}]_{(\text{mg/dL})} = \frac{[\text{St}] \times \text{Abs}_m}{\text{Abs}_s}$$

[St]: concentración del standard: 0,186mg/dL

La excreción de ácido úrico en orina se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Exc. Ácido úrico} = [\text{Ac. úrico}] \times \text{Vol}$$

Para el ácido úrico en suero los datos fueron expresados en porcentaje de inhibición

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{IGC} - \text{IMP}}{\text{IGC}} \times 100$$

y la excreción de ácido úrico los datos fueron expresados en porcentaje de incremento

$$\% \text{ incremento} = \frac{\text{IMP} - \text{IGC}}{\text{IGC}} \times 100$$

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

IMP: índice de la media de la muestra problema

Determinación de urea. - Método de Searcy R, 1961 (49)

- Reactivos:

Reactivo de trabajo: Solución de ureasa

Reactivo A: Fenol (532 mmol/L), nitroferricianuro de sodio (0,85 mmol/L).

Reactivo B: Hipoclorito de sodio (36,6mmol/L), hidróxido de sodio (0,625mmol/L)

- Fundamento: La ureasa descompone específicamente a la urea produciendo dióxido de carbono y amoníaco; este reacciona con fenol e hipoclorito en medio alcalino produciendo azul de indofenol que se determina calorimétricamente a una lambda de 540 nm.
- Protocolo: Se tomó 20 µL de muestra (suero u orina diluida 1/40) y se agregó 1 gota de ureasa, se llevó a baño María por 5 minutos a 37°C, luego se le agregó 1 mL de reactivo A y 1 mL de reactivo B, se dejó a baño María por 5 minutos a 37°C y se le agregó 10 mL de agua destilada para que se mezclen y se retiró de baño María y finalmente se hizo la lectura a una lambda de 540 nm (50).

La concentración de urea sérica fue determinada mediante la siguiente fórmula:

$$[\text{Urea}]_{(\text{mg/dL})} = \frac{[\text{St}] \times \text{Abs}_m}{\text{Abs}_s}$$

[St]: concentración del standard: 0,073mg/dL

La excreción de urea en orina se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Exc. Urea} = [\text{Urea}] \times \text{Vol}$$

Para la urea en suero los datos fueron expresados en porcentaje de inhibición

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{IGC} - \text{IMP}}{\text{IGC}} \times 100$$

y la excreción de urea los datos fueron expresados en porcentaje de incremento

$$\% \text{ incremento} = \frac{\text{IMP} - \text{IGC}}{\text{IGC}} \times 100$$

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

IMP: índice de la media de la muestra problema.

Determinación de proteína. - Método de Lowry, 1951 (51).

- Reactivos:

Reactivo de trabajo A: Na_2CO_3 al 2%, NaOH 0,1 M

Reactivo B1: $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 0,01%

Reactivo B2: Tartrato sódico-potásico al 2%

Reactivo Folin – Ciocalteu

- Fundamento: Los iones de Cu^{+2} en medio alcalino se une a las proteínas formando complejos con los átomos de nitrógeno. Este complejo presenta un color azul claro que provoca el desdoblamiento de las proteínas tridimensionales que dan residuos fenólicos de tirosina que también participan en una segunda etapa. Estos residuos actúan en la reducción del reactivo de Folin – Ciocalteu, actuando el cobre como catalizador. El principal constituyente del reactivo de Folin – Ciocalteu es el ácido fosfomolibdotungstico (color amarillo) que al ser reducido por los residuos fenólicos de tirosina da un complejo de color azul intenso.
- Protocolo: Se tomó 0,25 mL de orina diluida (1/40) y se agregó 2,5 mL de reactivo de trabajo, luego se dejó reposar por 15 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz, después se le agregó 0,25 mL de reactivo folin – ciocalteu diluido en (1/40) y se dejó reposar por 30 minutos protegido de la luz y finalmente se realizó la lectura a una longitud de onda 580 nm (52).

Los resultados se expresaron como mg/dL y porcentaje de inhibición, mediante las siguientes formulas:

$$[\text{Proteínas}]_{(\text{mg/ dL})} = \frac{[\text{St}] \times \text{Abs}_m \times \text{Fd}}{\text{Abs}_s}$$

[St]: concentración del standard: 0,075mg/dL

Fd: Factor de dilución: 40

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{IGC} - \text{IMP}}{\text{IGC}} \times 100$$

IGC: índice de la media del grupo control (grupo II)

IMP: índice de la media de la muestra problema

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Para el presente estudio se tuvo en cuenta las consideraciones éticas para evitar el exceso de sufrimiento en dichos animales. Es así que se siguió y respeto las 2 Rs (reducción y refinamiento) de las 3 R propuestas por William Russell (zoólogo y psicólogo) y RexBurch (microbiólogo) en 1959: alternativas de reducir, reemplazar y refinar (53). También se tomó en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos según la Ley peruana N° 30407 de Protección y Bienestar Animal (54). (Ver anexo II)

3.7. ANÁLISIS DE DATOS ESTADÍSTICOS

Los resultados obtenidos fueron ingresados a una hoja de cálculo en Microsoft Excel 2010, para ser evaluados mediante el programa estadístico SPSS (StatiscalPackgefor Social Sciences) versión 19.0.

Primero se realizó un análisis estadístico descriptivo expresado en promedio, mediana y desviación estándar.

Se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilks, para muestras menores de 30, para contrastar la hipótesis de normalidad de la población. Luego se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) en los datos que presentaron distribución simétrica, para comparar medias de más de dos muestras independientes, mientras que los datos que no resultaron con distribución asimétrica, fueron analizados con la prueba de Kruskal Wallis para comparar medianas de más de dos muestras independientes.

IV. RESULTADOS

Tras la prueba de Shapiro-Wilk, donde se encontró que los indicadores de urea sérica, urea excretada y proteína en orina, presentó una distribución normal ($p > 0,05$) (simétrica), por consiguiente, se le aplicó el análisis estadístico de varianza (ANOVA) y luego la prueba *post hoc* de contraste.

Para los indicadores de creatinina y ácido úrico en suero y excretados, y también proteína excretada mostraron una distribución asimétrica, por lo tanto, se les aplicó la prueba de comparación de medias de un factor (Kruskal-Wallis).

4.1. Niveles de concentración de metabolitos séricos

Se puede observar según la tabla 2 que la administración de gentamicina a 50 mg/kg (grupo II) presentó una mayor concentración de urea y creatinina y ácido úrico sérico, siendo significativo ($p < 0.002$) este último respecto al grupo I.

La administración del zumo de zanahoria morada a diferentes dosis 2 y 10 mL/kg (grupo III y IV) expuso menor nivel de urea sérica, sin embargo, solo en el grupo III fue significativo ($p < 0,001$) al compararlo con el grupo II.

En los grupos III y IV presentó una menor concentración de creatinina sérica, comparado con el grupo II, de manera significativa ($p < 0.00$) ($p < 0.002$); mientras tanto en el nivel de ácido úrico sérico solo el grupo III presentó una menor concentración significativa ($p < 0.01$).

Tabla 2: Niveles de concentración de metabolitos séricos según grupo de tratamiento

Grupos	*Urea mg/dL	% de inhibición	°Creatinina mg/dL	% de inhibición	°Ácido Úrico mg/dL	% de inhibición
Grupo I	52,8 ± 11,6	---	7,9 ± 0,4	---	0,4 ± 0,2 ^(b)	---
Grupo II	56,6 ± 6,2	---	13,3 ± 0,5	---	1,2 ± 0,1	---
Grupo III	37,0 ± 6,9 ^(a)	34,6	3,8 ± 0,5 ^(b)	71,8	0,5 ± 0,0 ^(b)	57,1
Grupo IV	49,7 ± 6,2	12,2	4,0 ± 0,6 ^(b)	70,2	0,6 ± 0,3	52,1

*ANOVA entre sujetos (varianzas similares)

*Shapiro-Wilk ($p > 0.05$)

Media ± DE (n=7)

°Kruskal Wallis ($p < 0.05$)

Mediana ± DE (n=7)

(a) $P < 0,05$ comparado con grupo II

(b) $P < 0,05$ comparado con grupo II

4.2. Niveles de metabolitos excretados en 24 horas

Se observó que la administración de gentamicina a 50 mg/kg (grupo II) presentó una menor excreción en los niveles de urea, respecto al grupo I. Mientras que los niveles de creatinina excretada presentaron un ($p < 0.001$), siendo significativo, sin embargo, la excreción de ácido úrico fue mayor y significativo, respecto al grupo I.

El tratamiento brindado por el zumo de zanahoria morada a menor dosis 2 mL/kg (grupo III) produjo un incremento de la excreción de urea, respecto al grupo II, en el caso de la creatinina se encontró una mayor excreción siendo significativo ($p < 0.049$), sin embargo, la excreción de ácido úrico fue menor para ambas dosis.

Tabla 3: Niveles de metabolitos excretados en 24 horas según grupo de tratamiento

Grupos	*Urea mg/24H	% de incremento	°Creatinina mg/24H	% de incremento	°Ácido Úrico mg/24H	% de incremento
Grupo I	244,2 ± 57,3	---	4,4 ± 0,8 ^(a)	---	0,2 ± 0,1 ^(a)	---
Grupo II	155,7 ± 54,8	---	1,0 ± 0,6	---	4,0 ± 1,8	---
Grupo III	227,2 ± 24,1	45,9	2,2 ± 0,7 ^(b)	115,6	1,0 ± 0,4	-75,4
Grupo IV	136,1 ± 55,4	-12,6	1,1 ± 0,5	3,9	1,0 ± 0,2	-76,1

*ANOVA entre sujetos (varianzas similares)

*Shapiro-Wilk ($p > 0.05$)

Media ± DE (n=7)

°Kruskal Wallis ($p < 0.05$)

Mediana ± DE (n=7)

a) $P < 0,05$ comparado con grupo II

b) $P < 0,05$ comparado con grupo II

4.3. Niveles de proteína excretada en 24 horas

La administración de gentamicina a 50 mg/kg (grupo II) ocasionó una mayor pérdida ($p < 0,05$) de proteínas en orina, expresada en términos de concentración y excreción al compararlo con el grupo I. También se observó que el grupo III (2 mL/kg) tratado con el zumo de zanahoria morada presentó un menor nivel de proteína en orina ($p < 0,002$) y en el caso de excreción de proteínas no se encontró diferencia significativa, respecto al grupo II.

El tratamiento dado por el zumo de zanahoria morada a dosis de 10 mL/kg (grupo IV) presentó una menor excreción de proteínas, siendo significativo ($p < 0.01$) al compararlo con el grupo II, sin embargo, en proteínas en orina disminuyó los niveles sin ser significativo.

Tabla 4: Excreción de proteínas en 24 horas según grupo de tratamiento

Grupos	Proteínas en orina mg/mL	% de inhibición	Excreción de proteínas en 24h	% de inhibición
Grupo I	4,7 ± 0,9 ^(a)	---	24,4 ± 4,3 ^(a)	---
Grupo II	14,0 ± 2,5	---	292,5 ± 76,6	---
Grupo III	8,3 ± 1,1 ^(a)	40,7	60,3 ± 13,2	79,4
Grupo IV	10,9 ± 3,3	22,4	39,2 ± 9,5 ^(b)	86,6

*ANOVA entre sujetos (varianzas similares)

*Shapiro-Wilk ($p > 0,05$)

Media ± DE (n=7)

°Kruskal Wallis ($p < 0,05$)

Mediana ± DE (n=7)

a) $P < 0,05$ comparado con grupo II, existe diferencia significativa

b) $P < 0,05$ comparado con grupo II, existe diferencia significativa

V. DISCUSIÓN

El Perú es considerado un país con una amplia biodiversidad debido a la presencia de diferentes recursos naturales como la flora y la fauna (55) desde tiempos prehistóricos el hombre ha utilizado plantas medicinales como tratamiento de diferentes enfermedades, este hecho se viene practicando hasta la actualidad (56) en diferentes lugares tanto en zonas rurales como urbanas (57). La mayor cantidad de plantas medicinales son originarias de la Amazonia seguido de los Andes. En la actualidad cerca del 80% de las personas reconocen a la fitoterapia como una alternativa de tratamiento (55), esto se debe a que es más accesible para ellos (58).

En la actualidad se está incrementando más los casos de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) que es considerada la principal causa de muerte a nivel mundial. Según la OMS cada año mueren 41 millones de personas y la mayor cifra es representada por enfermedades cardíacas, seguida del cáncer, enfermedades respiratorias y diabetes (59). Dentro de estas enfermedades se encuentran dos de las causas de la enfermedad renal crónica (ERC). La alimentación funcional hoy en día está cobrando mayor interés debido a que presenta efecto positivo en la salud y ayuda a prevenir o disminuir el riesgo a diferentes patologías, no solo por sus macronutrientes, sino por la acción que presenta los micronutrientes en la salud (60). Por esta razón se está incentivando a un mayor consumo de frutas y verduras con capacidad antioxidante (30).

En el grupo II se observó en los metabolitos séricos una mayor concentración de urea y creatinina, siendo significativo el ácido úrico. Respecto a los metabolitos excretados la urea y creatinina presentó una menor excreción significativa y respecto a las proteínas presentó una mayor excreción y concentración significativa.

La gentamicina al ingresar al organismo se concentra en la corteza renal que luego de ser filtrados se fijan en la región apical de las células del túbulo proximal debido a un receptor megalina (lipoproteína) que también es encargado de endocitar al fármaco, todo esto provoca una rápida unión y acumulación de fosfolípidos en los lisosomas (61) (62) y otras organelas, este gran acumulo sobrepasa la capacidad de la membrana lisosomal ocasionando su ruptura y originando una salida de cisteína proteasa (enzimas proteolíticas) hacia la matriz endoplasmática excitando la caspasa - 3 siendo un elemento crucial en el proceso de muerte celular (63) (28)

La disminución de la excreción de urea, creatinina, ácido úrico guarda cierta relación con las alteraciones en la función y forma del glomérulo, debido a que los aminoglucósidos a nivel mitocondrial interrumpen la fosforilación oxidativa causando una baja producción de ATP induciendo a un estrés oxidativo. Los radicales libres actúan primero en las células del mesangio y del endotelio y esto altera la función de transporte que se da a nivel de los túbulos renales (64) (65)

Estos aminoglucósidos en su forma catiónica se fijan en el borde en cepillo del túbulo proximal uniéndose a la fosfatilserina (66) que luego ingresaran a las células por pinocitosis. El primer daño que se evidencia tras ingresar este fármaco a nivel renal es un incremento en la excreción de la orina que se da por salida de varios elementos como enzimas, proteínas como la beta-2 microglobulina. Luego se manifiesta cambios en el sedimento urinario con la aparición de elementos anormales como leucocitos y cilindros, por último, se da un descenso de la filtración glomerular que provocaría un aumento sérico de nitrógeno úrico (BUN) y creatinina (67). Tal como se muestra en el grupo que recibió solo gentamicina (grupo II).

A nivel del glomérulo la gentamicina ocasiona disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG), provocando cambios estructurales y funcionales del glomérulo debido a que este fármaco realiza la proliferación de las células mesangiales y apoptosis tal como se muestra en estudios in vitro (22). Sin embargo, el daño en la barrera de filtración glomerular variando en su forma y función provocaría que moléculas y células con cargas negativas se filtren observándose presencia de proteínas en orina, el cual se relaciona con el daño a nivel glomerular (68). Esto podría explicar la mayor excreción de proteinuria en el grupo II.

La toxicidad renal por gentamicina está relacionada a la fosfolipidosis lisosomal, debido a la inhibición de la actividad de las fosfolipasas A, C y esfingomielinasa que causaría a la larga muerte en las células tubulares (69). Otro mecanismo de acción de este fármaco es a nivel mitocondrial de las células de la corteza renal que inducirían a la producción de ERO (70) que causarían alteración de biomoléculas y muerte celular. También se debe mencionar contracción a nivel de células mesangiales y vasculares y por ultimo también se involucra proceso inflamatorio (71).

El estrés oxidativo causado por una mayor cantidad ERO puede estimular a la formación de sustancias vasoactivas que podrían causar vasoconstricción a nivel renal o reducir el coeficiente de filtración (Kf) que conllevaría a una reducción de la TFG

(69). En otros estudios nos indican que las ERO por gentamicina disminuyen los niveles del glutatión (GSH), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) localizados en la corteza renal, siendo indicadores de autoprotección celular (70).

Algunos resultados de nuestro estudio en el grupo II ha sido reportado por Jamshidzadeh 2014, que al administrar 100 mg/kg/día de gentamicina durante ocho días en ratones, se evidenció un incremento de creatinina en plasma, nitrógeno úrico (BUN) y cambios en estructura celular del túbulo proximal (72). Similar resultado evidenció Cárdenas en el 2015, donde encontró que tras la administración de gentamicina a 40 mg/kg/día provocó un aumento del doble de creatinina sérica y disminución de la tasa de filtración glomerular comparado con su grupo control (73).

En otro estudio realizado por Udupa 2019, observó que tras la administración de gentamicina a dosis de 100 mg/kg/día por vía subcutánea por ocho días se incrementaron significativamente creatinina y BUN sérico, mientras que en orina se incrementaron los niveles de proteína total, proteína en orina y microalbuminuria al compararlo con el grupo control (74). Moreira 2017, reportó que tras la administración de gentamicina a 80 mg/kg/día durante siete días observó un incremento de creatinina sérica, mientras que en orina se incrementaron los niveles de excreción de proteínas, sodio y potasio (75).

EL- Kashef DH 2015, evidencio que ratas tratadas con gentamicina a dosis de 100 mg/kg/día produjo una elevación significativa de creatinina, BUN sérico y proteína en orina, sin embargo, en la albumina sérica hubo una disminución significativa y un aumento de lactato deshidrogenasa (LDH). A nivel de tejido renal se incrementaron malondialdehído (MDA) que es un producto final de la peroxidación de lípidos, factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y óxido nítrico (NO) y disminución del glutatión (GSH) y superóxido dismutasa (SOD) (76).

Villanueva 2017, reportó que tras la administración de gentamicina a dosis de 50 mg/kg/día observó una elevación significativa de creatinina y urea sérica, sin embargo, en los niveles de ácido úrico sérico solo mostró un aumento, mientras que en orina se incrementaron significativamente la excreción de proteína al compararlo con el grupo control (77).

Con respecto a los grupos que se administró el zumo de zanahoria morada a dosis de 2 mL/kg y 10 mL/kg más gentamicina, se observó un menor nivel de urea y ácido úrico

sérico, así también hubo un menor nivel de creatinina sérica en ambas dosis. A nivel de orina se encontró una mayor excreción de creatinina, y a mayor dosis hubo menos excreción de proteínas.

Algunos estudios nos indica la composición de la raíz *Daucus carota* (zanahoria morada) presentando varias antocianinas como pelargonidina (35), peonidina y su derivado peonidina-3-xilosil-galactósido y dentro de la cianidina se encuentra los siguientes glucósidos (cianidina-3-xilosil-glucosil-galactósido, cianidina-3-xilosil-galactósido, cianidina-3-xilosil-glucosil-galactósido acetilada con ácido sináptico, cianidina-3-xilosil-glucosil-galactósido acetilada con ácido ferúlico y cianidina-3-xilosil-glucosil-galactósido acetilada con ácido cumárico) (78) y otros compuestos con capacidad antioxidante como el ácido ascórbico (vitamina c), el ácido cítrico, catequina y ácido cafeoilquínico (ácido clorogénico) (79) además se encontró que esta raíz presenta el doble de cantidad de α - y β - caroteno que la zanahoria anaranjada (33).

En diversos estudios nos muestra que el β - caroteno presenta una capacidad antioxidante al disminuir los radicales libres, recuperando la peroxidación renal y la capacidad de antioxidantes por medio del GSH, SOD y CAT en el tejido del riñón, frente al efecto de la tioacetamida (80).

Rjeibi 2018, tras la administración de cisplatino y *Lycium Europaem* (rico en β -caroteno) los niveles séricos de urea, creatinina, ácido úrico y BUN fue similar al grupo control y aumentaron la actividad de SOD, CAT y GSH y a nivel de tejido renal no se mostró un aumento de MDA (81).

En un estudio realizado por Ghilissi 2018, que tras administrar conjuntamente vitamina C y E frente a la colistina, disminuye los niveles de N-acetil-bD-glucosaminidasa (NAG), gamma-glutamil transferasa (GGT) y malondialdehido (MDA), también evidencio un incremento de enzimas antioxidantes en el tejido renal como el superóxido dismutasa SOD, catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPx) y a nivel sérico no hubo variación en la creatinina (82).

Resultados similares encontró Yousef 2011, que al administrar el ácido ascórbico disminuye la nefrotoxicidad producida por el mismo fármaco, debido a la reducción de excreción de N-acetil- β -d-glucosaminidasa (NAG) y creatinina sérica. Estos resultados podrían explicar la reducción de creatinina sérica en nuestro estudio (83).

En un estudio realizado en personas por Gao 2008, el cual evidencio que a una mayor ingesta de vitamina C a dosis de 500 mg/día reducía significativamente los niveles séricos de ácido úrico, esto se debe a que tanto la vitamina C como el ácido úrico se reabsorben en el túbulo contorneado proximal y al encontrarse mayor dosis de vitamina C este le impide la reabsorción del ácido úrico bloqueando el transportador de ácido úrico 1 (URAT1), entre otras propiedades esta vitamina ocasiona aumento de la tasa de filtración glomerular y el flujo de plasma en los riñones, lo cual podrían explicar la reducción del ácido úrico sérico en nuestro estudio (84).

El ácido clorogénico pertenece a la familia de los ácidos hidroxicinámico que posee múltiples propiedades beneficiosas como su capacidad antiinflamatorios, anticancerígenos, antioxidantes, etc. Esta última se debe a que suprime las especies reactivas de oxígeno (ERO) (85) activando las enzimas antioxidantes con el fin de reducir el daño oxidativo y a nivel antiinflamatorio reduce las citosinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 y IL-1 en insuficiencia renal (86).

En un estudio realizado por Feng 2015, reportó que tras la administración de ácido clorogénico disminuyeron significativamente los niveles séricos de creatinina, aminotransferasa y BUN frente a daño inducido por D-galactosa al hígado y riñón, también se encontró bajos niveles de citosinas proinflamatorias (TNF- α e IL-6) (87)

Saleem 2019, evidencio que al administrar el extracto hidroalcoholico de semillas de *Cucumis melo* que contiene ácido clorogénico reducía significativamente los niveles séricos de creatinina, urea, BUN y ácido úrico frente a nefrotoxicidad producida por gentamicina. Este ácido tiene la capacidad de aminorar la lesión renal, estos resultados podrían estar relacionado al efecto nefroprotector de *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada (88).

La catequina pertenece a la familia de los flavonoides y su capacidad antioxidante se debe a dos mecanismos de forma directa e indirecta, la primera se da por secuestrar metales y barrer radicales libres y la segunda por medio de enzimas de modulación o factores de transcripción (89).

En un estudio realizado por Wongmekiat 2017, demostró que tras la administración de catequina reducía significativamente los niveles séricos de creatinina, BUN y un aumento en el aclaramiento de creatina, también se observó un aumento de las enzimas antioxidantes como el SOD y CAT y se evidencio que la catequina protege

contra el estrés oxidativo debido a la disminución significativa de la lipoperoxidación, esta disminución es independiente de la dosis de catequina frente al daño renal por cadmio (90).

En un estudio realizado por Saad 2019, se evidenció que la administración del extracto de té verde redujo significativamente los niveles séricos de urea, creatinina y ácido úrico y a nivel de suero y tejido disminuyó significativamente el MDA y un aumento en las enzimas CAT, SOD y GPx. El autor refiere que dichos resultados se deben a la presencia de ácidos fenólicos, flavonoides, taninos, catequina, etc. Estos compuestos tienen capacidad antioxidante y son eliminadores de radicales libres, debido a esto se les puede atribuir el efecto nefroprotector del extracto de té verde (91).

Las antocianinas son pigmentos naturales de plantas y frutos que se encuentran dentro del grupo de los flavonoides (92). Las plantas que presentan este compuesto evidencian efecto nefroprotector, así como lo reporta Qian 2019, que observó una disminución en los niveles séricos de ácido úrico, BUN y creatinina, también favoreciendo la excreción de ácido úrico, estos resultados se deben a la administración de un conjunto de antocianinas de arándanos y grosella negra (93).

Resultados similares reportó Veljkovic 2016, que tras administrar el extracto de arándanos los niveles de creatinina y urea sérica se asemejaron al grupo control, como también una disminución del marcador de peroxidación lipídica (MDA) y oxidación de proteínas. En el caso de la catalasa (CAT) hubo un aumento significativo. Todos estos resultados el autor lo atribuye a las antocianinas delfinidina y cianidina.

Esta última también se encuentra presente en la zanahoria morada (94).

En otro estudio realizado se reportó que al administrar el extracto etanolito de *Beta Vulgaris L.* (remolacha) los niveles séricos de creatinina, urea y ácido úrico disminuyó significativamente al compararlo con el grupo que solo se le administró gentamicina. También se evidenciaron, a nivel de tejido renal una disminución significativa de lipoperoxidación, IL-6 y el TNF- α , y un aumento de la actividad catalasa. Estos resultados el autor lo relaciona con los compuestos fenólicos, fitonutrientes, ácido ascórbico y otros constituyentes que tienen la capacidad de atrapar radicales libres y reducen la peroxidación lipídica, siendo el extracto de remolacha un eficaz protector renal (95).

VI. CONCLUSIONES

6.1. CONCLUSIONES

- ✓ La administración del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada a dosis de 2 mL/kg produjo un menor nivel de metabolitos nitrogenados sérico.
- ✓ La administración del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada a dosis de 2 mL/kg presentó una mayor excreción de urea y creatinina, y una menor excreción de ácido úrico.
- ✓ La administración del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada a las dos dosis empleadas presentó una menor excreción de proteína.
- ✓ En el presente estudio de investigación la administración del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada presenta efecto nefroprotector.

6.2. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar estudios histopatológicos del tejido renal.
- ✓ Evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* del zumo de raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada.
- ✓ Determinar la actividad de γ -glutamyl transferasa urinaria.
- ✓ Evaluar las enzimas antioxidantes del tejido renal: superóxido dismutasa y catalasa.
- ✓ Evaluar el perfil de glutatión (GSH) en tejido renal.
- ✓ Difundir el consumo de la raíz *Daucus carota* (zanahoria) variedad morada.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. La enfermedad renal crónica en comunidades agrícolas de centroamérica. Documento conceptual. Washington; 2013.
2. Ministerio de Salud (MINSA). Boletín Epidemiológico. Enfermedad renal crónica en el Perú. 2018..
3. Salud OPd. [Online].; 2015 [cited 2018 diciembre 22. Available from: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10542:2015-opsoms-sociedad-latinoamericana-nefrologia-enfermedad-renal-mejorar-tratamiento&Itemid=1926&lang=es.
4. Isanidad. [Online].; 2017 [cited 2018 noviembre 15. Available from: <http://isanidad.com/86359/un-informe-mundial-destaca-la-carga-y-el-abandono-de-la-enfermedad-renal-cronica-en-todo-el-mundo/>.
5. Narro, José. ISN serie del foro global de política pública sobre la enfermedad renal: Enfoque en América Latina. Resumen. México ; 2017.
6. Dirección General de Epidemiología. Análisis de la situación de la enfermedad renal crónica en el Perú. Lima: Ministerio de Salud; 2015. Report No.: ISBN.
7. Herrera Añazco P, Atamari AN, Flores BV. Número de nefrólogos, servicios de hemodiálisis y tendencia de la prevalencia de enfermedad renal crónica en el Ministerio de Salud del Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. 2019; 36(1): p. 62-67.
8. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Programas de Enfermedades No Transmisibles. 2018.
9. Vargas E. [Online].; 2017 [cited 2018 setiembre 10. Available from: <https://peru21.pe/lima/atencion-tres-millones-peruanos-sufren-enfermedad-renal-68438>.
10. Porth CM. Fisiopatología: Salud y enfermedad: Un enfoque conceptual. sétima ed. Madrid: Panamerica; 2006.
11. Fraga JM. Anatomía y fisiología. In Tema:Aparato urinario.; 2012. p. 7-8.
12. Costanzo LS. Fisiología. cuarta ed. Barcelona: ELSEVIER; 2011.
13. Flores AAA. Aspectos básicos de anatomía. Sistema renal. Texto guía. Valparaíso: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de ciencias-Instituto de biología; 2009.

14. Costanzo LS. Fisiología. Cuarta ed. Barcelona: ELSEVIER; 2011.
15. Arroyo BC. Sistema urinario: anatomía. Documento original. Barcelona: Universidad de Barcelona, Escuela Universitaria de Enfermería; 2012.
16. Martínez Castela A, Bover Samjuán J, Górriz Teruel L, Segura de la Morena J. Documento de consenso sobre la Enfermedad Renal Crónica. Documento de consenso. ; 2012.
17. Rodríguez OB. Enfermedad Renal Crónica: prevenirla, mejor que tratarla. Revista Cubana de Medicina General Integral. 2015 julio; 31(3): p. 356.
18. López ED. Enfermedad renal crónica; definición y clasificación. Medigraphic. 2008 setiembre; III(3): p. 75.
19. Venado Estrada A, Moreno López JA, Rodríguez Alvarado M, López Cervantes M. Insuficiencia Renal Crónica. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de proyectos especiales; 2009.
20. National Kidney Foundation. [Online].; 2015 [cited 2018 octubre 10. Available from: <https://www.kidney.org/atoz/content/about-chronic-kidney-disease>.
21. Álvarez MR. Aminoglucosidos. Medigraphic. 2002 enero-marzo; 22(1): p. 20.
22. Martínez Salgado C, López Hernández F, López Novoa J. Nefrotoxicidad de los aminoglucosidos glomerular. Toxicology and Applied Pharmacology. 2007 mayo 21;; p. 87-88.
23. Anaya Noubleau AM, Amaya Amaya PM, López Nuñez OF. Efecto del dimetilsulfóxido en un modelo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en conejos. Tesis doctoral. La Libertad: Universidad Dr. José Matias Delgado, Facultad de Ciencias de la Salud; 2012.
24. Bonet Rosello L, Nava Araque M. Estrés oxidativo y algunas formas de insuficiencia renal aguda. Medigraphic. 2002 marzo; 27(1).
25. Márquez AM. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *saccharomyces cerevisiae*. Scielo. 2012 octubre; 15(2): p. 97-98.
26. Cárdenas Rodríguez N, Pedraza Chaverri J. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos. Medigraphic. 2005 agosto; 17(2): p. 165-166.
27. Carrillo Esper R, Díaz Ponce Medrano JA, Peña Pérez CA, Flores Rivera OI, Neri Maldonado R, Denisse Zepeda A. Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. Revista de la facultad de medicina UNAM. 2016 enero; 59(1).
28. Gutiérrez Bonilla A, Padilla Funes JA. Efecto nefroprotector del ácido ascórbico en un modelo de daño renal inducido por gentamicina en conejos. Tesis doctoral. La Libertad: Universidad Dr. José Matias Delgado, Facultad de Ciencias de la Salud ; 2012.

29. Guerra JIE. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. Anales de Medicina Interna. 2001 junio; 18(6): p. 54.
30. Salas JDZ. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. Revista chilena de nutrición. 2007 marzo; 34(1): p. 19-20.
31. Casal MNG. Antioxidantes en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles. Resumen. Caracas: Instituto Venezolano de Investigaciones, Centro de Medicina Experimental.
32. Garcés L. [Online].; 2018 [cited 2018 diciembre 12. Available from: <https://www.biomanantial.com/fitonutrientes-sus-poderosos-efectos-en-el-organismo-a-1576-es.html>.
33. Stolarczyk J. [Online].; 1996 [cited 2018 octubre 11. Available from: <http://www.carrotmuseum.co.uk/carrotcolours.html>.
34. wikipedia. [Online].; 2018 [cited 2019 enero 14. Available from: https://es.wikipedia.org/wiki/Daucus_carota_ssp._sativus_var._autrorubens.
35. La Zanahoria Morada de Cuevas Bajas: Nuevo y poderoso alimento funcional por explotar. ; 2011.
36. Sodimbaku V, Pujari L, Mullangi R, Marri S. Zanahoria (*Daucus carota* L.): nefroprotectora contra la nefrotoxicidad inducida por gentamicina en ratas. Indian Journal of Pharmacology. 2016 marzo-abril; 48(2): p. 122-127.
37. Poudyal H, Panchal S, Brown L. Comparación del jugo de zanahoria púrpura y el β -caroteno en un modelo de rata con alto contenido de carbohidratos y alto en grasa para el síndrome metabólico. British Journal of Nutrition. 2010 julio; 104(9): p. 1322-1332.
38. Zhang Z, Zhou B, Wang H, Wang F, Yingli C, Liu S, et al. El pigmento vegetal morado del maíz protege contra el daño oxidativo inducido por fluoruro del hígado y el riñón en ratas. International Journal of Environmental Research and Public Health. 2014 enero; 11(1): p. 1020-1033.
39. Hussain T, K Gupta R, Sweety K, Eswaran B, Vijayakumar M, Venkateswara Rao C. Actividad nefroprotectora del extracto de *Solanum xanthocarpum* fruit contra la nefrotoxicidad inducida por gentamicina y la disfunción renal en roedores experimentales. Revista asiática de medicina tropical del Pacífico. 2012 setiembre; 5(9): p. 686-691.
40. Pallas JMA. Métodos de investigación clínica y epidemiológica. cuarta ed.; 2013.
41. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Anteproyecto de

- norma general del CODEX para zumos (jugos) y néctares de frutas. , comisión del codex alimentarius; 2000.
42. Gobierno Federal de Estados Unidos México. Prevención, diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica Temprana. Guía de Referencia Rápida. ; 2008.
43. De la Cruz Rodríguez LC, Rey MR, Oldano AV, Posleman SE, Araujo CR. Efecto de trimetazidina en la nefrotoxicidad por gentamicina. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2009; 43(4): p. 601-610.
44. Amigo AR. Cálculo del tamaño muestral en procedimientos de experimentación con animales. Valoración de las incidencias. Vall d'Hebron Institut de Recerca VHIR HUVH; 2014.
45. Jaffe M. Uber den niederschlag, welchen pikrinsäure in normalen hnrnerzeugt und ubereineneuereaction des kreatinins: Physiol Chem; 1886.
46. Wiener Laboratorios. Creatinina. Método cinético para la determinación de creatinina. Rosario;; 2000.
47. Trinder P. Determinación in vitro del ácido úrico en suero: Ann. Clin Biochem; 1969.
48. Wiener Laboratorios. Uricostat. Para la determinación de ácido úrico en suero, plasma u orina. Rosario ;; 2000.
49. Searcy R. Determinación de urea por el método calorimétrico: Am. J. Med. Techn.; 1961.
50. Wiener Laboratorios. Uremia. Para la determinación de urea en suero, plasma y orina. Rosario;; 2000.
51. Lowry H, Rosebrough NJ, Lewis Farr A, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Washington: Journal of Biological Chemistry; 1951.
52. Determinación de proteínas por el método de Lowry. [Online]. [cited 2018 enero 18]. Available from: <https://acasti.webs.ull.es/docencia/practicas/4.pdf>.
53. Russell W, Burch R. The Principles of Humane Experimental Technique. ; 1959.
54. Ministros. Presidente de consejo de ministros. Decreto Supremo N° 30407.- Ley de Proteccion y Bienestar Animal.. Lima: Gobierno del Perú; 2016.
55. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Situación de las plantas medicinales en Perú. [Online]. Lima; 2018. Available from: <file:///C:/Users/user/Desktop/DISCUSSION/1%20ra%20parte/planta%20este%20si.pdf>.
56. Ministerio de Agricultura y Riego. [Online].; 2015 [cited 2019 febrero 12. Available from: <https://www.minagri.gob.pe/portal/31-sector-agrario/lineas-de-cultivos-emergentes/258-plantas-medicinales>.

57. Rengifo JC. Uso y utilización de plantas medicinales en universidades de Lima. Tesis licenciatura. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú, Facultad de Ciencias Sociales; 2009.
58. Mejía Gálvez , Carrasco R E, Miguel JL, Flores S SA. Conocimiento, aceptación y uso de medicina tradicional peruana y de medicina alternativa/complementaria en usuarios de consulta externa en Lima Metropolitana. Revista peruana de medicina integrativa. 2017 marzo; 2(1): p. 47-57.
59. Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2018 [cited 2019 febrero 17. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>.
60. Valenzuela B A, Valenzuela R, Sanhueza J, Morales I G. Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? Revista chilena de nutrición. 2014 junio; 41(2): p. 198-204.
61. Vives D EA, Medvedovsky D, Rothlin R. Aminoglucósidos. 2004..
62. B JM. Drogas nefrotóxicas. Revista médica Clínica Las Condes. 2010 junio 01; 21(4): p. 624.
63. El Mouedden M, Laurent G, Mingeot-Leclercq MP, Taper HS, Cumps J, Tulkens PM. Apoptosis in Renal Proximal Tubules of Rats Treated with Low Doses of Aminoglycosides. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2000 marzo; 44(3): p. 665-675.
64. Rivas Cabañero L, Rodríguez Barbero A, Eleno N, López Novoa JM. Mecanismos básicos de nefrotoxicidad. Nefrología. 1995; 15(1): p. 44-46.
65. Castillo R, Huerta P, Carrasco R, Ramón R. Estrés oxidativo y daño renal. CIMEL. 2003; 8(1): p. 43-52.
66. Calderón Ospina A, Guzmán Ramírez GM, Sarmiento Monroy JC, Gómez Angulo DL, Joya Higuera Y, Ríos Barajas LF, et al. Nefrotoxicidad inducida por medicamentos. Revista de los estudiantes de medicina de la universidad industrial de Santander. 2011 abril 13; 24(1): p. 81.
67. Morales AI, Árevalo M, Pérez Barriocanal F. Mecanismos implicados en la nefrotoxicidad producida por aminoglucósidos. Nefrología. 2000; xx(5): p. 408-414.
68. Verónica CM. Fisiología renal. Procesos renales en la formación de orina: Filtración glomerular, Reabsorción y Secreción tubular. Guía de estudios. Buenos Aires: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires; 2018.
69. Kuhad , Tirkey N, Pilkhwai , Chopra K. Efecto de la espirulina , un alga verde azul, sobre el estrés oxidativo inducido por la gentamicina y la disfunción renal en ratas. Fundamental & Clinical Pharmacology. 2006 abril; 20(2): p. 121-128.

70. Teresa Galvána C, Guisado Barrilao R, García MC, Ochoa J, Ocaña Wilhelmi J. Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*. 2008 julio; 1(2): p. 61-72.
71. Casanova AG, Vicente Vicente , Hernández Sánchez , Pescador , Prieto M, Martínez Salgado , et al. Papel clave del estrés oxidativo en modelos animales de nefrotoxicidad de aminoglucósidos revelado por un análisis sistemático de la correlación de antioxidante a nefroprotector. *Toxicología*. 2017 junio 15; 385: p. 10-17.
72. Jamshidzadeh , Heidari , Mohammadi Samani , Azarpira , Najbi , Jahani , et al. A Comparison between the Nephrotoxic Profile of Gentamicin and Gentamicin Nanoparticles in Mice. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2015 febrero; 29(2): p. 57-62.
73. Cárdenas Gonzáles M, Jacobo Estrada T, Rodríguez Muñoz R, Barrera Chimal J, A. Bobadilla N, C Barbier O, et al. Sub-chronic exposure to fluoride impacts the response to a subsequent nephrotoxic treatment with gentamicin. *Journal of Applied Toxicology*. 2016 febrero; 36(2): p. 309-319.
74. Udupa V, Prakashb. Gentamicin induced acute renal damage and its evaluation using urinary biomarkers in rats. *Toxicology Reports*. 2018 noviembre; 30(6): p. 91-99.
75. Moreira Galdino , Nunes Alexandre , Fernanda Pacheco , Lino Junior RdS, Realino de Paula , Rodrigues Pedrino , et al. Nephroprotective effect of *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth leaves on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Ethno-Pharmacology*. 2017 abril; 6(201): p. 100-107.
76. El-Kashef DH, El-Kenawi AE, Suddek GM, Salem HA. Protective effect of allicin against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *International Immunopharmacology*. 2015 diciembre; 29(2): p. 679-686.
77. Huallpa JAV. Efecto nefroprotector del zumo del fruto de *Opuntia*. Tesis licenciamiento. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de medicina; 2017.
78. Vergara C, Zamora O, Álvarez F, Kehr E, Pino MT. Zanahoria morada: potencial materia prima para color y antioxidante en Chile. Ministerio de Agricultura, Instituto de investigaciones agropecuarias ; 2019.
79. Soares GR, Gomes de Moura F, Dias Silva MJ, Vilegas W, Santamarina AB, Pisani P, et al. Protective effects of purple carrot extract (*Daucus carota*) against rat tongue carcinogenesis induced by 4-nitroquinoline 1-oxide. *Medical Oncology*. 2018 marzo; 15(35): p. 1-14.
80. Fazal Y, Fátima SN, Shahid SM, Mahboob T. Los efectos nefroprotectores del b-caroteno en la expresión del gen de la ECA , el estrés oxidativo y el estado antioxidante en la tioacetamida

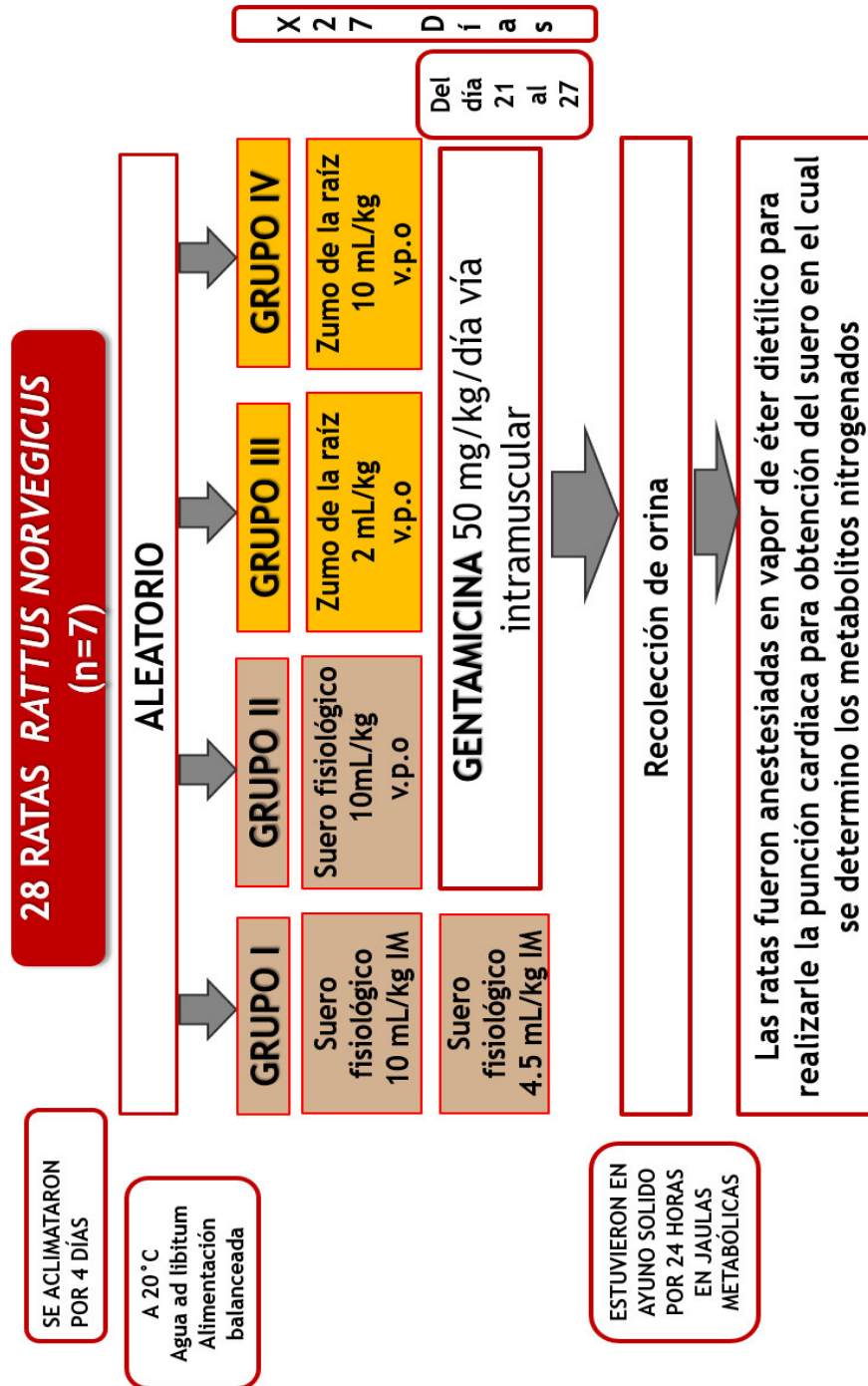
- inducen la toxicidad renal en ratas. Revista pakistaní de ciencias farmacéuticas. 2016 julio; 29(4): p. 1139-1144.
81. Rjeibi , Feriani , Ben Saad , Sdayria J, Saidi , Ncib , et al. Lycium europaeum Extract: A New Potential Antioxidant Source against Cisplatin-Induced Liver and Kidney Injuries in Mice. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018 setiembre.
82. Ghilissi , Hakim , Mnif , Zeghal , Rebai , Boudawara , et al. Combined Use of Vitamins E and C Improve Nephrotoxicity Induced by Colistin in Rats. Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation. 2018; 29(3): p. 545-553.
83. Yousef JM, Chen G, Hill PA, Nation RL, Li J. Ascorbic acid protects against the nephrotoxicity and apoptosis caused by colistin and affects its pharmacokinetics. Journal Antimicrobial Chemotherapy. 2012 febrero; 67(2): p. 452-459.
84. Gao X, Curhan G, Forman JP, Ascherio A, Choi K. Vitamin C Intake and Serum Uric Acid Concentration in Men1. The Journal of Rheumatology. 2008 setiembre; 35(9): p. 1853-1858.
85. Santana Gálvez , Cisneros Zevallos L, Jacobo Velázquez A. Chlorogenic Acid: Recent Advances on Its Dual Role as a Food Additive and a Nutraceutical against Metabolic Syndrome. Molecules. 2017 marzo; 22(3): p. 1-21.
86. Ye HY, Jin J, Jin LW, Chen Y, Zhou ZH, Li ZY. Chlorogenic Acid Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Acute Kidney Injury by Inhibiting TLR4/NF-κB Signal Pathway. 2016 diciembre 27;; p. 1-7.
87. Feng Y, Yu YH, Wang ST, Ren J, Camer D, Hua YZ. Chlorogenic acid protects d-galactose-induced liver and kidney injury via antioxidation and anti-inflammation effects in mice. Journal Pharmaceutical Biology. 2016 junio; 54(1): p. 1027-1034.
88. Saleem , Javed , Asif , Kashif Baig , Arif. HPLC Analysis and In Vivo Renoprotective Evaluation of Hydroalcoholic Extract of Cucumis melo Seeds in Gentamicin-Induced Renal Damage. Medicina. 2019 abril; 55(4): p. 107-117.
89. Li X, Wu G, Shang P, Bao J, Lu J, Yue Z. Potencial Anti-nephrolithic de catequina en urolitiasis relacionados melamina-a través de la inhibición de ROS, apoptosis, fosfo-p38 y la osteopontina en ratas macho Sprague-Dawley. 2015.
90. Wongmekiat O, Peerapanyasut , Kobroob A. La suplementación con catequina previene el daño renal en ratas expuestas repetidamente al cadmio a través de la protección mitocondrial. Archivos de farmacología de Naunyn-Schmiedeberg. 2018 abril; 391(4): p. 385-394.

91. Ben Saad , Ncib , Rjeibi , Saidi , Zouari. Nephroprotective and antioxidant effect of green tea (*Camellia sinensis*) against nicotine-induced nephrotoxicity in rats and characterization of its bioactive compounds by HPLC-DAD. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2019 febrero;; p. 1-28.
92. Kuskoski EM, Asuero AG, García Parilla MC, Troncoso AM, Fett R. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 2004 diciembre; 24(4): p. 691-693.
93. Qian X, Wang X, Luo J, Liu Y, Pang J, Zhang , et al. Hypouricemic and nephroprotective roles of anthocyanins in hyperuricemic mice. *Food & Function*. 2019 febrero; 10(2): p. 867-878.
94. Veljković , Pavlović R, Stojiljković N, Ilić , Jovanović , Poklar Ulrih , et al. Bilberry: Chemical Profiling, in Vitro and in Vivo Antioxidant Activity and Nephroprotective Effect against Gentamicin Toxicity in Rats. *Phytotherapy research*. 2017 junio; 31(1): p. 115-123.
95. El Gamal A, AlSaid S, Raish , Al-Sohaibani , Al-Massarani SM, Ahmad , et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) Extract Ameliorates Gentamicin-Induced Nephrotoxicity Associated Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rodent Model. *Mediators of Inflammation*. 2014 octubre;; p. 1-12.
96. Ministerio de Salud-Oficina General de Tecnologías de Información. [Online].; 2015 [cited 2017 noviembre 7. Available from:
www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/CEMacros.asp?00.
97. Ministerio de Salud-Oficina General de Tecnologías de Información. [Online].; 2014 [cited 2017 noviembre 7. Available from:
www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Mortalidad/Macros.asp?00.
98. www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Mortalidad/Macros.asp?00. [Online].; 2015 [cited 2017 noviembre 8. Available from:
www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/HSMacros.asp?00.
99. López Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AL, López Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *International Society of Nephrology*. 2011 enero; 79(1): p. 33-45.

ANEXOS

Anexo I

Flujograma del diseño experimental



Anexo II

Ley peruana N° 30407 ley de Protección y Bienestar Animal

El Peruano / Viernes 8 de enero de 2016	NORMAS LEGALES	574725
PODER LEGISLATIVO CONGRESO DE LA REPUBLICA	CAPÍTULO I	
DISPOSICIONES GENERALES		
Artículo 2. Finalidad		
La presente Ley tiene por finalidad garantizar el bienestar y la protección de todas las especies de animales vertebrados domésticos o silvestres mantenidos en cautiverio, en el marco de las medidas de protección de la vida, la salud de los animales y la salud pública.		
Artículo 3. Objeto de la Ley		
La presente Ley tiene por objeto proteger la vida y la salud de los animales vertebrados, domésticos o silvestres mantenidos en cautiverio, impedir el maltrato, la crueldad, causados directa o indirectamente por el ser humano, que les ocasiona sufrimiento innecesario, lesión o muerte; así como fomentar el respeto a la vida y el bienestar de los animales a través de la educación. Además, de velar por su bienestar para prevenir accidentes a sus poblaciones y aquellas enfermedades transmisibles al ser humano.		
Así como promover la participación de las entidades públicas y privadas y de todos los actores sociales involucrados, con sujeción al ordenamiento constitucional y legal.		
Artículo 4. Definiciones		
Para efectos de la interpretación y aplicación de la presente Ley y disposiciones complementarias, se utilizan las definiciones establecidas en el Anexo de esta norma.		
CAPÍTULO II		
DEBERES DE LAS PERSONAS Y DEL ESTADO		
Artículo 5. Deberes de las personas		
5.1 Toda persona tiene el deber de procurar la protección y el bienestar de los animales, cualquiera sea su especie, evitando causarles daño, sufrimiento innecesario, maltrato de tipo físico que altere su normal comportamiento, lesión o muerte.		
5.2 La adquisición y tenencia de un animal es responsabilidad de una persona mayor de edad, que tenga plena capacidad de ejercicio. Esta debe cumplir las disposiciones que establecen la presente Ley y las disposiciones complementarias.		
5.3 El propietario, encargado o responsable de un animal de compañía debe atender con carácter obligatorio las siguientes necesidades fundamentales:		
a. Ambiente adecuado a sus hábitats naturales de vida y condiciones mínimas sanitarias que les permita expresar el comportamiento natural propio de su especie.		
b. Alimentación suficiente y adecuada a los requerimientos biológicos de cada especie.		
c. Protección del calor, bienestar, bienestar, heridas y enfermedades.		
d. Atención médico-veterinaria especializada y vacunación, de ser necesario.		
5.4 Los animales silvestres que son mantenidos en cautiverio como mascotas, dentro de un domicilio, restaurante o en centros de cría, están sujetos a la norma específica del sector competente.		
Artículo 6. Denuncia por incumplimiento de la Ley		
Toda persona, natural o jurídica, está facultada para denunciar las infracciones a la presente Ley. Los gobiernos locales, el Ministerio Público y la Policía Nacional del Perú tienen el deber de atenderlas e intervenir para garantizar la aplicación de la presente Ley.		
Artículo 7. Deberes del Estado		
El Estado, a través de los sectores competentes, establece las medidas necesarias para la protección de		
LEY N° 30407		
EL PRESIDENTE DE LA REPÚBLICA		
POR CUANTO:		
EL CONGRESO DE LA REPÚBLICA;		
Ha dado la Ley siguiente:		
LEY DE PROTECCIÓN Y BIENESTAR ANIMAL		
TÍTULO PRELIMINAR		
Artículo 1. Principios		
1.1. Principio de protección y bienestar animal		
El Estado establece las condiciones necesarias para brindar protección a las especies de animales vertebrados domésticos o silvestres y para reconocerlos como animales sensibles, los cuales merecen gozar de buen trato por parte del ser humano y vivir en armonía con su medio ambiente.		
1.2. Principio de protección de la biodiversidad		
El Estado asegura la conservación de las especies de fauna silvestre legalmente protegidas y sus hábitats mediante la aprobación de planes nacionales de conservación, así como la protección de las especies migratorias.		
Las especies silvestres que se encuentran en cautiverio gozan de las condiciones que permitan el desarrollo de patrones conductuales propios de su biodiversidad, en concordancia con las políticas nacionales de conservación del ambiente, manejo y uso sostenible de la fauna silvestre, de producción y sanidad agropecuaria y de prevención de la salud pública.		
1.3. Principios de colaboración integral y de responsabilidad de la sociedad		
Las autoridades competentes, de nivel nacional, regional y local, y las personas naturales y jurídicas, propietarios o responsables de los animales, colaboran y actúan en forma integrada para garantizar y promover el bienestar y la protección animal.		
1.4. Principio de armonización con el derecho internacional		
El Estado establece un marco normativo actualizado a favor del bienestar y la protección de los animales conforme a los acuerdos, tratados, convenios internacionales y demás normas relacionadas.		
1.5. Principio precautorio		
El Estado tiene la potestad de realizar acciones y emitir normas inmediatas y eficaces cuando haya indicios de que algún acto pueda infringir dolor, lesión, daño grave o irreversible a cualquier animal, para evitarlo o reducirlo, aunque no se haya demostrado científicamente que tal ser sea sensible o no a estímulos inducidos.		
Las medidas deben adecuarse a los cambios en el conocimiento científico que se vayan produciendo con posterioridad a su adopción.		
La aplicación de este principio es restringida en el caso de uso de animales para investigación con fines científicos, que cumplan con los estándares mínimos de manejo e investigación en animales, así como para aquellos animales destinados al consumo humano que se rigen por las normas nacionales e internacionales que regulan el manejo durante toda la cadena de producción.		