

Efecto diurético de *Cuphea glutinosa* Cham. et Schldl (Lythraceae) en ratas Wistar

Romina B. Balmaceda^{1*}, Francisco J. Cardinali^{1,2}, Mario A. Thevenon¹, María Elena Di Santo¹

¹ Laboratorio de Botánica, Departamento de Biología, Facultad de Cs. Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMDP). (7600) Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

² Facultad de Cs. Agrarias, INTA, Balcarce, Buenos Aires. Argentina.

* Autor a quien dirigir la correspondencia: rominabalmaceda7@gmail.com.

Resumen

Cuphea glutinosa (Lythraceae), popularmente conocida como “siete sangrías” o “sanguinaria”, ha sido utilizada en las prácticas de medicina popular, especialmente como diurética e hipotensora. Actualmente, es comercializada en herboristerías de la República Argentina y consumida en forma de infusión en concentraciones no específicas. En este estudio se evaluó la diuresis producida en ratas Wistar, a partir de la administración de infusiones de diferentes concentraciones de planta entera de *C. glutinosa*. Se utilizaron tres concentraciones al 2,5 %, 5,0 % y 10,0 %, Furosemida (10 mg/kg peso vivo) como control positivo y solución salina (blanco) (NaCl 0,9 %) como control negativo, que fueron administradas oralmente. Se midieron los niveles de excreción urinaria de las ratas, mantenidas en jaulas metabólicas, en intervalos de 2 horas, durante 8 horas, y una última recolección a las 24 horas. La administración oral de infusión al 5 % incrementó significativamente la excreción urinaria a las 8 horas, comparada con el control positivo. Además se observó una tendencia a la diuresis con la administración de infusiones al 5 % y 10 % a las 4 horas. Durante la aplicación de los tratamientos no se observaron cambios en las condiciones físicas de los animales. Se requieren nuevos estudios para la determinación de la ruta farmacológica y la toxicidad de esta especie.

Diuretic Effect of *Cuphea glutinosa* Cham. et Schldl (Lythraceae) in Wistar Rats

Abstract

Cuphea glutinosa (Lythraceae), popularly known as “siete sangrias” or “sanguinaria”, has been used in folk medicine, especially as a diuretic and hypotensive. Currently, it is marketed in health food shops of Argentina and it is consumed in the form of infusion in non-specific concentrations. This study evaluated the diuresis in Wistar rats, starting from the administration of infusions of whole plant of *C. glutinosa*, in different concentrations. There were used three concentrations of *C. glutinosa*: 2.5 %, 5.0 % and 10.0 %, furosemide (10 mg/kg live weight) as a positive control, and saline solution - (blank) (0.9 % NaCl) as negative control. All the drugs were orally administered. The rats were maintained in metabolic cages, the levels of urinary excretion were measured in intervals of 2 hours, during a period of 8 hours, with a last harvest at 24 hours. Oral administration of infusion 5 % significantly increased urinary excretion 8 hours after the administration of the infusion, compared with positive control. In addition, there was a trend to diuresis in

Palabras clave: *Cuphea glutinosa* - infusiones - *in vivo* - diuresis.

Key words: *Cuphea glutinosa* – infusions - *in vivo* - diuresis.

the case of the administration of infusions 5 % and 10 %, after 4 hours of administration. No changes in the physical conditions of animals were observed during application of treatments. New studies are required for determination of the drug route and the toxicity of this species.

Introducción

Las enfermedades cardiovasculares tienen una importante incidencia en la vida cotidiana. Una de las principales causas de muerte en el mundo está constituida por los infartos de miocardio y los accidentes cerebrovasculares, pudiendo ser evitables. Los diuréticos figuran entre los medicamentos utilizados para el tratamiento de este tipo de enfermedades (Morton y col., 2001).

El riñón de los mamíferos es el órgano osmorregulador que lleva a cabo las complejas funciones en la regulación de la composición química de los fluidos corporales (Hardman y col., 2001), ya que es necesario mantener el volumen de agua dentro de cierto rango, compatible con las necesidades de las células (Nedi y col., 2004). Los diuréticos permiten aumentar la excreción urinaria de sodio y el volumen de orina excretado, lo que ayuda a disminuir el volumen de sangre que circula a través del sistema cardiovascular (Gasparotto y col., 2009).

Cuphea glutinosa Cham. et Schltidl (Lythraceae) es originaria de regiones templado-cálidas de América. En Argentina, se encuentra en la estepa pampeana y altiplanicies de las sierras pampeanas y subandinas de Córdoba, Catamarca, San Luis, Tucumán, Jujuy y Salta, (Cabrera y Zardini, 1978; Randall y col., 1997). Vulgarmente conocida como “siete sangrías” o “sanguinaria” es reconocida en la medicina tradicional, por sus propiedades diurética, laxante (Marzocca, 1997), hipotensora (Ratera y Ratera, 1980), y antimalarial (Barboza y col., 2001). Ha sido utilizada como medicinal en comunidades tobas (Marzocca, 1997).

Esta especie vegetal ha sido caracterizada anatómicamente (Barboza y col., 2001; Cardinali y col. 2007) y morfológicamente (Yagueddú y col., 2006; Cardinali y col. 2007). Sin embargo, no existen evidencias científicas, que avalen la mencionada acción medicinal, por ello aún no ha sido registrada en la Farmacopea Argentina (Yagueddú y col., 2006).

El objetivo de este trabajo es comprobar los efectos

diuréticos de *C. glutinosa*, a partir de infusiones de distinta concentración de la planta entera, administradas a ratas Wistar.

Materiales y métodos

Se recolectaron 4 kg de plantas enteras, a partir de un cultivo nativo de *C. glutinosa*, en Sierra de los Padres (37° 56' 45" O, 57° 46' 45" S), Sistema de Tandilia, Buenos Aires, República Argentina, durante los meses de marzo y abril. Los ejemplares, fueron determinadas mediante claves dicotómicas, según la descripción de Cabrera y Zardini (1978) y se utilizaron como material de trabajo. Uno de los ejemplares se conservó herborizado en el Laboratorio de Botánica de la Universidad Nacional de Mar del Plata.

Las plantas fueron secadas en estufa a 40 °C y procesadas mediante un molinillo de café. A partir del pulverizado se prepararon tres extractos acuosos (infusiones) con concentraciones de 2,5 %, 5,0 % y 10,0 % P/V. Las infusiones se obtuvieron colocando 2,5; 5,0 y 10,0 g del material en 100 ml de agua destilada a 100 °C, y se dejaron en reposo a temperatura ambiente durante 15 min (Martín-Herrera y col., 2008; Gasparotto y col., 2009). Luego se filtraron con papel de filtro tipo Whatman de filtrado medio.

Se utilizaron 8 ratas Wistar (4 machos y 4 hembras) de 180 - 250 g por tratamiento, con tres repeticiones. Los animales se obtuvieron del bioterio de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad Nacional de Buenos Aires. Los animales recién destetados fueron mantenidos según las normas bioéticas vigentes para el tratamiento de animales en laboratorio (Jennings y col. 1998). El bioterio contó con jaulas de mantenimiento en condiciones controladas de temperatura, humedad y fotoperíodo (25 ± 2 °C; 63 ± 5 %; 12 horas-ciclo día/noche).

Previamente al estudio, los animales fueron aclimatados en jaulas metabólicas durante un período de quince días, con libre acceso al agua y alimento comercial (Jennings y col., 1998). Además, se tuvo en cuenta que no sufrieran ningún tipo de estrés, para lo cual se consideraron las dimensiones de las jaulas (de mantenimiento y metabólica), las condiciones ambientales, el comportamiento social de las ratas (Jennings y col. 1998) y los factores de bienestar, tanto como la necesidad de conseguir los objetivos científicos.

Se determinó la actividad diurética mediante el método de Kau, y col. (1984) adaptado por Benjumea y col. (2005) y Abdala y col. (2008). Previo a la administración de las infusiones, los animales tuvieron una deprivación de alimento durante 8 horas siguiendo la metodología de Vermeulen y col. (1997) con libre acceso al agua.

Se aplicaron cinco tratamientos consistentes en administraciones orales que correspondieron a 5 ml/kg de peso vivo de las tres concentraciones de *C. glutinosa* (2,5; 5,0 y 10,0 % P/V), 0,5 ml/kg de peso corporal de solución salina de NaCl al 0,9 % (Benjumea y col., 2005) como control negativo o blanco y furosemida como diurético de referencia y control positivo a razón de 10 mg/kg de peso vivo, dada la alta efectividad a corto plazo (Martínez Martín y col., 2004).

Luego de la administración, los animales fueron transferidos a jaulas metabólicas con libre acceso al agua. La orina fue colectada en un vaso de precipitado y con una jeringa graduada se determinó su volumen a intervalos de 2 horas, durante 8 horas, y una última recolección a las 24 horas. Se determinó el volumen total de orina excretada (VOE) durante cada ensayo (Arafat y col., 2008) y los resultados fueron expresados en ml /100g de peso corporal (Martín-Herrera y col., 2007; Gasparotto y col., 2009). También se calculó el índice diurético (ID) de cada recolección (Martín-Herrera y col., 2008).

$$ID = \frac{\text{Volumen de orina de grupo problema}}{\text{Volumen de orina de grupo control}}$$

En las muestras de orina de cada tratamiento correspondientes a las 24 horas se realizó la determinación de urobilinógeno, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, pH, sangre, densidad y leucocitos, utilizando tiras reactivas Siemens para

urianálisis (Siemens Healthcare Diagnostics). Este análisis permite realizar medidas cualitativas, ya que determina si la muestra es positiva o negativa y semicuantitativas, dado que las reacciones de color son estimativas. Cada uno de éstos parámetros se utilizan como indicadores de la presencia de diferentes afecciones como proteinuria, glucosuria, formación desmedida de cuerpos cetónicos, hematuria, hemoglobinuria como producto de la hemólisis intravascular y bacteriuria asintomática, entre otras (Mundt y Graff, 2011).

El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico Graph Pad Prism 5, con 16 muestras por tratamiento. Se aplicó en el caso de datos normales, ANOVA y Test de Student y en los datos no normales, el Test de Kruskal- Wallis. También se aplicó el Test de comparación múltiple de Dunn. La diferencia fue considerada significativa cuando $p \leq 0,05$.

Resultados

Los parámetros analizados, ID y VOE, para cada uno de los tratamientos aplicados se presentan en la tabla 1 y en la figura 1.

Los resultados obtenidos evidenciaron un aumento en el ID a las 4 horas con el tratamiento furosemida y con las concentraciones 5 % y 10 % de *C. glutinosa*. El mayor aumento del ID se obtuvo con el tratamiento de 5 % a las 8 horas, valores que duplicaron los obtenidos para furosemida al mismo tiempo (Figura 1).

Los parámetros considerados en el urianálisis, no registraron cambios en los diferentes tratamientos (Tabla 2).

A las 2 horas de aplicados los tratamientos, no se detectaron cambios estadísticamente significativos en el volumen de orina excretada (VOE), aun así, se registró un mayor volumen para las concentraciones 2,5 % y 5 %, aunque no significativo respecto al grupo control o blanco. A las 4 horas se determinó un incremento en el VOE con la administración de furosemida, aunque no significativo respecto al blanco. A las 6 horas no se observaron cambios significativos entre tratamientos mientras que el VOE a las 8 horas de la administración, sufrió un incremento significativamente superior al resto de los tratamientos con la administración de la infusión 5 % de *C. glutinosa* (Figura 1).

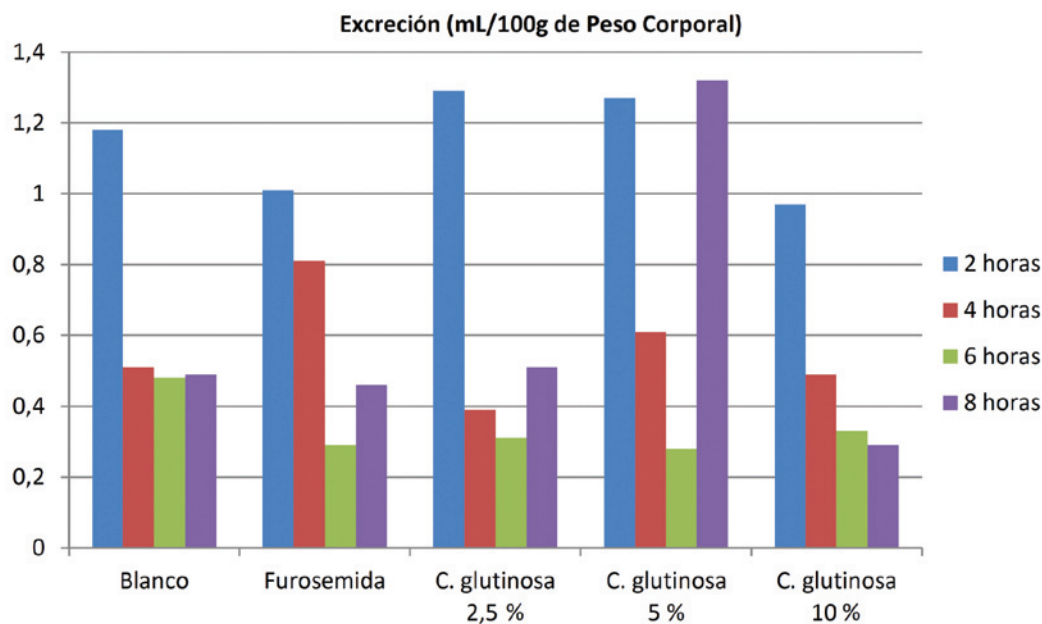
Tabla 1.- Evolución del Índice Diurético hasta las 24 h de tratamiento en ratas con distintas concentraciones de *Cuphea glutinosa* y furosemida

Tratamientos	n	Índice Diurético*					Vol. Total
		2 h	4 h	6 h	8 h	24 h	
Control	16	-	-	-	-	-	-
Furosemida	16	1,37	3,76	1,33	2,16	0,76	0,63
<i>C. glutinosa</i> (2,5 %)	16	1,58	1,92	1,78	1,77	1,00	0,86
<i>C. glutinosa</i> (5 %)	16	1,63	3,31	0,54	4,07 ^a	0,95	0,96
<i>C. glutinosa</i> (10 %)	16	1,12	3,62	0,65	1,65	1,02	0,88

n: número de ratas utilizadas en cada grupo.

*: Índice Diurético: Volumen de orina del grupo problema / volumen de orina del grupo Control o Blanco.

a: $p < 0,05$. Comparado con el resto de los tratamientos (test de Kruskal- Wallis)

Figura 1.- Volumen de orina excretado a distintos tiempos, a partir de la administración de los diferentes tratamientos**Tabla 2.-** Efecto de la administración oral de infusiones de *Cuphea glutinosa*, furosemida y solución salina, sobre los parámetros del urianálisis

Tratamiento	N	U	pH	Densidad	Proteínas	Nitrito	S-L-G-C-B
Control	10	0,1	7,30 ± 0,19	1,009	-	+	-
Furosemida	10	0,1	7,54 ± 0,21	1,009	15 ± 0,15	+	-
<i>C. glutinosa</i> (2,5 %)	10	0,1	7,69 ± 0,21	1,008	-	+	-
<i>C. glutinosa</i> (5 %)	10	0,1	7,54 ± 0,23	1,009	15 ± 0,15	+	-
<i>C. glutinosa</i> (10 %)	10	0,1	7,29 ± 0,25	1,011	15 ± 0,15	+	-

Referencias: U: Urobilinógeno; S: Sangre; L: Leucocitos; G: Glucosa; C: Cetona; B: Bilirrubina.

Los animales no presentaron cambios en su apariencia física durante el ensayo ni en los 15 días posteriores a la finalización del mismo.

Discusión

El aumento en el ID a las 4 horas (Tabla 1), con el tratamiento de Furosemida, se correspondería con la actuación de diuréticos de alta eficacia que pueden aumentar la excreción de orina en poco tiempo (Guyton y Hall, 2002). La variación del ID a las 8 horas con el tratamiento de 5 % fue significativamente diferente al resto de los tratamientos, aun mayor al valor de ID alcanzado por la furosemida ocurrido a las 4 horas. Esto demostraría las propiedades diuréticas de *C. glutinosa* aunque con un efecto retardado respecto a la furosemida. Sin embargo, el ID en la recolección a las 24 horas fue bajo en todos los tratamientos, lo que podría deberse a la activación de otros mecanismos de compensación de tipo fisiológicos, como por ejemplo la activación de la hormona antidiurética, entre otros, que se inician por la disminución del volumen del líquido extracelular (Guyton y Hall, 2008).

El efecto retardado en la diuresis, permitiría deducir que *C. glutinosa* tiene una acción diferente a los diuréticos de alta eficacia como Furosemida. Esto podría relacionarse a factores farmacocinéticos o farmacodinámicos de los principios activos de la planta (Randall y col., 1997), como se ha observado en los estudios realizados con otras especies vegetales como por ejemplo con extractos de macerados de raíz de *Carissa edulis* (Nedi y col., 2004) y *Tropaeolum majus* (Gasparotto y col., 2009).

En cuanto a los parámetros estudiados en el urianálisis, la administración de infusiones de *C. glutinosa* no alteró el valor normal de los mismos respecto al grupo control como lo muestran la ausencia de glucosa, cetonas, bilirrubina, sangre, leucocitos y los valores normales de densidad, pH y proteína en orina (Tabla 2).

El urobilinógeno que se forma por la conversión de la bilirrubina en los intestinos, mediada por las enzimas bacterianas, es excretado con las heces, mientras una pequeña parte también se excreta en la orina. El valor obtenido indicaría la metabolización normal del mismo en los animales (Tabla 2).

La presencia de nitritos en orina (Tabla 2) permitiría suponer una bacteriuria asintomática, por la cual, los

organismos que producen infección urinaria generan enzimas que reducen el nitrato urinario a nitrito. Sin embargo, la ausencia de leucocitos y sangre en orina permiten desechar la existencia de infección urinaria. De manera que los nitritos detectados en todos tratamientos podrían provenir de la presencia de nitratos en el alimento. La mayor parte de los nitratos ingeridos son absorbidos en la parte superior del intestino delgado y una porción pueden ser reciclados hacia las glándulas salivales. Las bacterias presentes en la saliva bucal reducen parte de ese nitrato a nitrito, posteriormente excretado por orina (García Roché y col., 1994).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el presente trabajo han permitido demostrar el efecto diurético de *C. glutinosa* en infusión al 5 % a las 8 horas, así como una tendencia a la diuresis con la administración de las infusiones 2,5 % y 5,0 % a las 2 horas. Se determinó también que el efecto de *C. glutinosa* hasta las 24 horas, no produce variaciones en los niveles de urobilinógeno, pH, densidad, glucosa, cetonas, bilirrubina, proteínas, nitritos, presencia de sangre en orina y leucocitos, respecto al grupo control, demostrando el buen estado sanitario de los animales a lo largo de todo el experimento.

Se requiere continuar con estudios que permitan determinar los principios activos, la ruta farmacológica y la posible toxicidad de *C. glutinosa*.

Agradecimientos

Este trabajo está enmarcado en el proyecto: “Estudio integral de especies medicinales autóctonas: *C. glutinosa* Cham. et Schldtl. nativa de las sierras bonaerenses” EXA-UNMdP N° 563/112 y 655/14, subsidiado por la UNMdP, que se desarrolló en el Laboratorio de Botánica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la misma Universidad.

Bibliografía

Abdala, S.; Martín-Herrera, D.; Benjumea, D.; Pérez-Paz, P. (2008). “Diuretic activity of *Smilax canariensis*, an endemic Canary Island species”. *Journal of Ethnopharmacology* 119 (1): 12-16.

- Arafat, M.O.; Tham, S.Y.; Sadikum, A.; Zhari, I.; Haughton, P.J.; Asmawi, M. Z. (2008). "Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 118 (1): 354-360.
- Barboza, G.E.; Bonzani, N.; Filippa E.M.; Luján M.C.; Moreno R.; Bugatti M.; Decolatti, N.; Ariza Espinar, L. (2001). *Atlas Histomorfológico de Plantas de Interés Medicinal de Uso Corriente en Argentina*. Pcia. de Córdoba (Argentina). Museo Botánico de Córdoba, Ed. Graphyon, Córdoba: 212 pp.
- Benjumea, D.; Abdala, S.; Hernandez-Luis, F.; Pérez-Paz, P.; Martín-Herrera, D. (2005). "Diuretic activity of *Artemisia thuscula*, an endemic Canary species". *Journal of Ethnopharmacology* 100 (1-2): 205-209.
- Cabrera, A.L.; Zardini, E.M. (1978). *Manual de la Flora de los alrededores de Buenos Aires*. Acme, Buenos Aires: 715 pp.
- Cardinali, F.J.; Thevenon, M.A.; Martinez Tosto, A.C. (2007). "Morphoanatomical characterization of *Cuphea glutinosa* (Lythraceae) seedlings primary root structure". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 42 (3-4): 237-243.
- García Roché, M.O.; García Melian, M.; Cañas Perez, R. (1994). *Nitratos, nitritos y compuestos de N-Nitroso*. Serie Vigilancia 13. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. Meterec Edo de México, México.
- Gasparotto Junior, A.; Boffo, M.A.; Lourenço, E.L.; Stefanello, M.E.; Kassuya, C.A.; Marques, M.C. (2009). "Natriuretic and diuretic effects of *Tropaeolum majus* (Tropaeolaceae) in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 122 (3): 517-522.
- Guyton, A.C.; Hall J.E. (2002). *Manual de Fisiología Médica*. Décima Edición. McGraw- Hill, Interamericana. México: 720 pp.
- Hardman, J.G.; Limbird, E.; Goodman, A. (2001). *Las bases farmacológicas de la Terapéutica*. Vol I. Décima Edición. McGraw- Hill. Interamericana. México: 797 pp.
- Jennings, M.; Batchelor, G.R.; Brain, P.F.; Dick, A.; Elliot, H.; Francis, R.J.; Hubrecht, R.C.; Hurt, J.L.; Morton, D.B.; Peters, A.G.; Raymond, R.; Sales, G.D.; Sherwin, C.M.; West, C. (1998). "Refining rodent husbandry: the mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party". *Laboratory Animals* 32 (1): 233-259.
- Kau, S.T.; Keddie, J.R.; Andrews, D. (1984). "A method for screening diuretic agents in the rat". *Journal of Pharmacological Methods* 11 (1): 67-75.
- Martínez Martín, S.M.; Paz Naranjo, J.; Corral Salvado, A.; Martínez Ruiz, C. (2004). Actividad diurética y antipirética de un extracto fluido de *Rosmarium officinalis* L. en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es> [Consulta: 16 de mayo de 2017].
- Martín-Herrera, D., Abdala, S.; Benjumea, D.; Gutiérrez-Luis, J. (2008). "Diuretic activity of some *Wisthania aristata* Ait. Fractions". *Journal of Ethnopharmacology* 117 (3): 496-499.
- Martín-Herrera, D.; Abdala, S.; Benjumea D.; Pérez-Paz, P. (2007). "Diuretic activity of *Wisthania aristata*: An endemic Canary Island species". *Journal of Ethnopharmacology* 113 (3): 487-491.
- Marzocca, A. (1997). *Vademécum de malezas medicinales de la Argentina indígenas y exóticas*. Orientación Gráfica Editora, Buenos Aires: 363 pp.
- Morton, D.B.; Jennings, M.; Buckwell, A.; Ewbank, R.; Godfrey, C.; Holgate, B.; Inglis, I.; James, R.; Page, C.; Sharman, I.; Verschoyle, R.; Westall, L.; Wilson, A.B. (2001). "Refining procedures for the administration of substances". *Laboratory Animals* 35 (1): 1-41.
- Mundt, L.A.; Graff, K.S. (2011). *Análisis de orina y de los líquidos corporales*. 2º Edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires: 348 pp.
- Nedi, T.; Mekonnen N.; Urga K. (2004). "Diuretic effect of the crude extracts of *Carissa edulis* in rats". *Journal of Ethnopharmacology* 95 (1): 57-61.
- Randall, D.; Burggren, W.; French, K. (1997). *Eckert Fisiología Animal. Mecanismos y adaptaciones*. Ed McGraw Hill. Interamericana. Madrid: 928 pp.
- Ratera, E.L.; Ratera, M.O. (1980). *Plantas de la flora argentina empleadas en medicina popular*. Hemisferio Sur, Buenos Aires: 189 pp.
- Vermeulen, J.K.; De Vries, A.; Schlingmann, F.; Remie, R. (1997). "Food deprivation: common

sense or nonsense?" *Animal Technology* 48 (2): 45-54.
Yagueddú, C.; Comparatore, V.M.; Cardinali, F.J.;
Martínez Tosto, A.C.; Bevacqua, S.V. (2006).

"*Cuphea glutinosa* (Lythraceae) en sierras del Sistema de Tandilia: morfología y ambiente". *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 41 (3-4): 285.