

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
ESCUELA DE POST GRADO
MAESTRIA EN CIENCIAS BÁSICAS
MENCION: FISILOGIA Y BIOFÍSICA



INFORME DE TESIS:

Efecto del *Lepidium mayenii* Walp “Maca” sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var. Holtzman*.

AUTOR:

Br. RODRÍGUEZ SILVA CRISTHIAN NEIL

ASESOR:

Dr. LUIS ARTEAGA TEMOCHE

Trujillo - Perú 2016

N° Registro: _____

JURADO

Dr. Jose Llanos Quevedo

Presidente

Ms. Augusto Chafloque Chafloque

Secretario

Dr. Luis Alberto Arteaga Temoche.

Asesor

AGRADECIMIENTO

A Dios nuestro padre, por bendecir mi camino,
especialmente en los momentos más difíciles, ayudándome a
superar los obstáculos y seguir adelante logrando así
alcanzar cada una de las metas trazadas:

Buen hijo, Mejor padre y Excelente profesional.

A Santos y María Luisa

Con todo mi cariño y mi amor para las mis padres que hicieron y dieron todo para que yo pudiera lograr mis objetivos, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

A Mathías y Thiago.

Dos excelentes razones para ser cada día mejor y sé que en sus caminos les dejaré huella para así alcancen sus objetivos. Gracias por ser la inspiración del mis días.

¡Sus inocencias me hacen eternamente feliz!

CYNTHIA

A tu paciencia y comprensión, preferiste sacrificar tu tiempo para que yo pudiera cumplir con el mío. Por tu bondad, es que me inspiras a ser mejor, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de ti, gracias por estar siempre a mi lado, ¡Mi Reyna hermosa!

Gracias a todos mis maestros, desde pregrado y postgrado, importantes en mi vida, a los que siempre estuvieron listos para brindarme su ayuda, ahora me toca retribuir un poco de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi afecto esta tesis se las dedico a ustedes mis maestros:

Dr. José Llanos Quevedo.

Dr. Julio Hilario-Vargas.

Dr. Luis Alberto Arteaga Temoche.

Dra. Luz Guerrero Espino.

Dr. Jorge Campos Reyna.

Por sus conocimientos, amistad, consejos en cada uno de los ciclos académicos en la escuela de Postgrado de la UNT, además del apoyo e interés constante para la realización de éste informe.

Resumen

Esta investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del *Lepidium mayenii* Walp, “Maca” sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var.* Holtzman.

Tuvo una duración de 28 días, para ello los animales de experimentación fueron divididas en 3 grupos de 10 animales cada uno. **Grupo1: Blanco:** solución salina 0.9% (**0.5 ml**) intraperitonealmente más dieta. **Grupo2: Problema I:** fueron administradas por vía IP con Ifosfamida **1.2 g/Kg/día** por 10 días y luego, fueron administrados maca en solución, **5g/día**, por 18 días. **Grupo 3. Problema II** Recibieron dieta y solución Maca **5g/día** por 18 días, luego fueron administradas por vía IP con Ifosfamida **1.2 g/Kg/día** por 10 días.

Se analizaron muestras pruebas por espectrofotometría método cinético: Úrea, Creatinina, (sérica y urinaria) además de fósforo, y por Electrodo ión Selectivo (EasyLyte): Sodio y Potasio. Se realizaron cortes histológicos a los riñones. a lo cual se concluye:

El *Lepidium meyenii* Walp presenta efecto sobre la nefrotoxicidad inducida por ifosfamida, éste se ve evidenciado por el efecto regenerador es decir una disminución y/o control en los valores séricos ($p<0.05$): sodio, úrea, creatinina, fosfato y glucosa, además de las muestras urinarias: úrea y creatinina ($p<0.05$).

Además se evidencia por el efecto protector es decir permitir que no aumente los valores séricos ($p<0.05$): úrea y glucosa, además de las muestras urinarias: úrea y creatinina ($p<0.05$).

No se evidencia efecto de la maca significativa sobre las características de Tejido renal.

Palabra clave:

Nefrotoxicidad, Ifosfamida, *Lepidium meyenii* Walp, “Maca”, urea, creatinina

ABSTRACT

This research aimed to determine Effect of *Lepidium mayenii* Walp "Maca" on ifosfamide-induced nephrotoxicity in *Rattus rattus* var. Holtzman.

Lasted 28 days, these experimental animals were divided into 3 groups of 10 animals each. **Group 1: White:** 0.9% saline (0.5 ml) intraperitoneally plus diet. **Group 2: Problem I:** were administered IP with ifosfamide **1.2 g/kg /day** for 10 days and then were administered Maca solution, **5g/day** for 18 days. **Group 3: Problem II:** diet Received and Maca solution **5 g /day** for 18 days, then were administered IP with ifosfamide **1.2 g/kg/day** for 10 days.

Urea, creatinine, (serum and urine) and phosphorus, were analyzed by spectrophotometry, kinetic method. Ion Selective Electrode (EasyLyte): Sodium and Potassium tests. Kidney histological cuts were made.

To which concludes:

Lepidium meyenii Walp presents effect on induced nephrotoxicity ifosfamide, this is evidenced by the regenerative effect that is to say a diminution and / or control in the serum values ($p < 0.05$): sodium, urea, creatinine, phosphate and glucose, and urinary samples: urea and creatinine ($p < 0.05$).

In addition evidenced by the protective effect is allow not increase serum values ($p < 0.05$) urea and glucose in addition to the urine samples: urea and creatinine ($p < 0.05$).

No significant effect of Maca on the characteristics of renal tissue is evident.

Keyword:

Nephrotoxicity, ifosfamide, *Lepidium meyenii* Walp "Maca", urea, creatinine

INDICE

PAGINAS PRELIMINARES

DEDICATORIA	i
RESUMEN.....	iv
ABSTRACT	v
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. MATERIAL Y METODO.....	08
III. RESULTADOS.....	11
IV. DISCUSION.....	15
V.CONCLUSIONES	19
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	20

INTRODUCCIÓN

A pesar del avance continuo de la farmacología y la terapéutica por ser cada vez más preciso en los tratamientos de enfermedades, las interacciones medicamentosas y los efectos adversos de los mismos, siguen siendo limitantes, y es que su aparición va unida directamente al empleo continuo en la terapéutica humana ^{1, 2, 3}.

La relación entre enfermedad renal y toxicidad por medicamentos es doble. Por un lado sustancias y medicamentos de uso común pueden producir diferentes formas de daño renal y por otro la enfermedad renal asociada a su disfunción puede afectar la filtración y eliminación de metabolitos cuya acumulación provoca toxicidad en diferentes niveles del tejidos².

Las mostazas nitrogenadas son unos de los grupos de medicamentos, antineoplásicos, muy efectivos como tratamiento para diversos tipos de tumores sólidos tales como rabdomiosarcoma, tumor de Wilms, el sarcoma de Ewing, sarcomas de hueso, osteosarcoma y el neuroblastoma. Su eficacia depende del esquema y frecuencia de administración ^{4, 5, 6}.

La ciclofosfamida (CPA) e ifosfamida (IFO); ambos compuestos se administran como profármacos que requieren activación por citocromo P450, en sus isoformas CYP3A5 y CYP2B6 oxidasa, la mismas que producen mostazas de nitrógeno, y acroleína; citotóxicos capaces de reaccionar con las moléculas de ADN, causar urotoxicidad y llevar a la muerte celular. Tanto CPA e IFO se inactivan por N-decloroetilación, resultando entre sus metabolitos N-decloroetilados, el subproducto cloroacetaldehído (CAA). El CAA puede causar neurotoxicidad y nefrotoxicidad. Los metabolitos resultantes citotóxicos y subproductos tóxicos son neutralizados por diferentes aldehído deshidrogenasas (ALDHS) y por la conjugación con el glutatión (GSH) a través de GSH S-transferasa (GST) ^{6, 8, 9}.

Debido a que las isoformas CYP3A5 y CYP2B6 presentan actividad renal y hepática, los metabolitos tóxicos formados pueden inducir daño renal y hepático⁴.

La Ifosfamida es uno de los medicamentos oncológicos con más alta tasa de nefrotoxicidad, cerca del 30% de los pacientes pediátricos y adultos muestran casos severos como el

Síndrome de Fanconi y disfunción del túbulo proximal, asociado a la reducción de la filtración glomerular, glucosuria, aminoaciduria, fosfaturia y bicarbonaturia y proteínas de bajo peso molecular tal como β_2 -microalbúmina ^{6,8,10}.

El riñón es responsable de la eliminación de productos de desecho endógenos, de la función endocrina, control del estado de volumen, el mantenimiento de electrolitos y el equilibrio ácido-base, además, juega un papel importante en la eliminación de muchos fármacos y sus metabolitos. Éste tejido que está expuesto a altas concentraciones de fármacos y sus metabolitos, es el más sensible a la toxicidad, por lo cual son responsables hasta en un 25% de todos los casos de insuficiencia renal aguda ^{11, 12, 13}.

Las células del riñón son particularmente vulnerables al daño mediado por tóxicos, a través de uniones covalentes y no covalentes a macromoléculas o a través de especies reactivas de oxígeno. Las proteínas de membrana, los lípidos de membrana, el núcleo, los lisosomas, mitocondrias y el citosol son objetivos de las moléculas tóxicas. Si el metabolito causa estrés oxidativo, la oxidación de proteínas y la peroxidación pueden contribuir al daño celular. En muchos casos las mitocondrias son objetivos críticos y la falta de trifosfato de adenosina (ATP) conduce a lesiones de las células, debido a la dependencia de la función renal en el metabolismo aeróbico ^{12, 14, 15,16}.

Muchos mecanismos son los que se postulan para el daño renal mediado por fármacos, para el caso de los metabolitos tóxicos de la ifosfamida se postula que el daño mitocondrial es en el complejo C-I (NADH: ubiquinona oxidoreductasa). Fisiológicamente el C-I participa en la producción de un gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial interna y en la transferencia de electrones de NADH a la ubiquinona, proporcionando así la fuerza motriz de protones utilizado para la síntesis de ATP. Está bien establecido que el C-I es susceptible a daño de los radicales libres. Investigaciones estructurales sugieren que el resto de la NADH deshidrogenasa puede estar expuesto a la matriz, haciendo así C-I sensibles al daño por radicales libres y oxidantes. CAA, un radical químico producido tanto en el hígado y el riñón de los pacientes tratados IFO-, puede inhibir la actividad de C-I en los túbulos renales proximales, donde CAA se forma. ^{8, 13, 16, 17}.

La N-Acetilcisteína (NAC), se aprovecha como precursor sintético de GSH, el cual estimula la síntesis intracelular de este, que actúa como nucleófilo para conjugarse con los metabolitos reactivos y mejorar la actividad glutatión S transferasa ^{5,6}.

De ello parte que los antioxidantes son nuevamente reconocidos como estrategia de prevención y/o de antídoto para la regeneración del tejido expuesto a la toxicidad de medicamentos.

Las personas que tienen un consumo adecuado de agua y llevan una dieta rica en vegetales tienden a reducir múltiples tipos de daños oxidativos, dado que las frutas y verduras poseen metabolitos secundarios y estos son fuentes importantes de antioxidantes, las cuales son en gran parte responsables de sus efectos preventivos a la oxidación celular. Esta hipótesis está apoyada por datos epidemiológicos, que indican a los micronutrientes antioxidantes, en la reducción del riesgo de cáncer y en experiencias in vitro e in vivo ^{18,19}.

Existen muchas plantas de efecto antioxidante como el aceite de *Glicine max L* (soya), *Gossypium barbadense L* (algodón), *Zea mays L* (maíz), *Roystonea regia* (palma real); extractos de *Psidium guajaba L.* (guayaba), *Musa paradisiaca* (plátano), *Pino cubertisg* (pino), *Vitis vinífera L.* (uva), *Theobroma cacao L.* (cacao), *Solanum lycopersicum* (tomatera), *Mangifera indica L.*, *Rosamvirus officinalis l.*, entre otras, a las cuales se les atribuye propiedades antioxidantes y/o anticancerígenas ²⁰.

Lepidium meyenii Walp (maca), también conocida como *Lepidium peruvianum* Chacón, es una crucífera altoandina, que crece a entre los 3,500 y 4500 m.s.n.m. Originaria de la meseta del Bombón, en los departamentos de Junín y Pasco; por sus cualidades medicinales y su alto valor nutritivo, es una planta de alto interés económico, cuyo cultivo se ha extendido a otras regiones de nuestro país²¹.

La maca es un fruto que tiene un gran potencial para ser utilizada en formulaciones medicinales por sus propiedades benéficas en la fisiología reproductiva de hombres y mujeres²⁴.

Lepidium meyenii Walp (maca) dentro de las muchas propiedades nutraceuticas, se le atribuye a tener capacidad antioxidante, así, se demostró la capacidad antioxidante de los

extractos acuosos y etanólico de Harina de Maca amarilla *in vitro* al comprobar su efecto protector en animales que fueron sometidos a una dieta hipercolesterolémica. En estos animales la administración de maca ejerció un mayor efecto protector contra el daño oxidativo al disminuir los niveles de (Complejo formado por Tiobarbitúrico y malónAldehído) TBARS-NMDA en un 67.7% e incrementar los valores de vitamina C en un 87.7% respecto al control positivo. Además redujo los niveles de colesterol, LDLc y Triglicéridos ($p < 0.05$) respecto al control positivo, también disminuyó los niveles de fibrinógeno, que es un marcador que está relacionado con la inflamación y con el nivel de aterosclerosis ²².

Además, la administración de harina del *Lepidium meyenii* Walp (maca) amarilla a ratas con Diabetes inducida con streptozotocina, distribuidas en 4 grupos: grupo I control (solo dieta); II, harina de maca 4 g/día; III, harina de maca 6 g/día; y IV, dieta + glibenclamida 10 mg/kg de peso. Se evaluó diariamente la glicemia y el peso; al final del experimento se determinó en sangre los niveles de insulina, parámetros de daño oxidativo (vitamina C) y se midió la peroxidación lipídica (TBARS), como indicador del proceso oxidativo. La administración de harina de maca en la dieta (4 a 6 g/día) de animales diabéticos redujo la glicemia en 50%, incrementó los niveles de insulina 22% y mejoró los niveles de vitamina C respecto al grupo control. La administración de maca 4 g/día disminuyó el daño oxidativo, pues redujo la formación del complejo MDA–TBARS en 54% con respecto al grupo control. Se concluyó que la administración de harina de maca amarilla a animales diabéticos mejoró el metabolismo de la glucosa, regulando la glicemia y elevando los niveles de insulina. También, incrementó las defensas antioxidantes y protegió del daño oxidativo que se presenta en la diabetes. Los resultados demuestran la capacidad antioxidante (regenerador) de la maca, la que podría estar relacionada con la presencia de flavonoides (quercetina) y de antocianinas, entre otros compuestos ^{20,23}.

El *Lepidium meyenii* Walp (maca) es una de los rizomas más originales del suelo peruano, actualmente se utiliza tanto como hipoglicemiante, hipolipemiante, potenciadora sexual, mejorador del rendimiento deportivo, todas aprovechando sus propiedades antioxidantes. Nuestra propuesta es tener un agente natural que se pueda usar su efecto como protector y/o regenerador, para disminuir los efectos adversos oxidativos en los pacientes que se

encuentran bajo esquemas de tratamiento donde intervenga la ifosfamida u otra droga que tenga como efecto secundario la oxidación celular, aprovechando el efecto antioxidante de la maca. Definitivamente enmarcando esta característica es que nos planteamos el siguiente problema:

II. PROBLEMA:

¿Cuál es el efecto del *Lepidium meyenii* Walp “Maca” sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var.* Holtzman?

2.1 HIPÓTESIS

Ho: El *Lepidium meyenii* Walp “Maca” no tiene efecto sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var.* Holtzman.

$$Em = Et$$

Ha: El *Lepidium meyenii* Walp “Maca” tiene efecto sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var.* Holtzman.

$$Em \neq Et$$

Em: Efecto maca.

Et: Efecto tóxico

III. OBJETIVOS.

OBJETIVO GENERAL.

Determinar el efecto del *Lepidium meyenii* Walp, “Maca” sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida en *Rattus rattus var.* Holtzman.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Comparar los parámetros bioquímicos séricos y urinarios basales entre los diferentes grupos de *Rattus rattus var.* Holtzman.
2. Determinar el efecto regenerador del *Lepidium meyenii* Walp, “Maca” sobre los parámetros séricos, urinarios y tejido renal en el **Grupo Problema I** tras la administración de ifosfamida..
3. Determinar el efecto protector del *Lepidium meyenii* Walp, “Maca” sobre los parámetros bioquímicos séricos, urinarios y tejido renal en el **Grupo Problema II**, previo a la administración de la Ifosfamida.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL DE ESTUDIO

Materiales.

- Balanza con jaula.
- Jaulas especiales.
- Embudos
- Soporte: Trípodes
- Gasas no estériles.
- Espectrofotómetro Cobas C111
- Vasos colectores de orina
- Capilares Heparinizados
- Agujas N° 25
- Bisturí N° 24
- Algodón
- Glucómetro Accu chek®
- Analizador de electrolitos Easylite

Reactivos

- Ifosfamida 1g
- Cloroformo
- Formol 10%

Población objetivo

La población fueron los especímenes machos de *Rattus rattus var. Holtzman*, provenientes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud de Lima -Perú.

Número muestra:

$$n = \frac{2S^2(Z_{\frac{\alpha}{2}} + Z_{\beta})^2}{(d)^2}$$

n: tamaño de la muestra= 32; $Z_{\frac{\alpha}{2}}$: Nivel de significancia. (0.05 \rightarrow 1.96); Z_{β} : Potencia de la prueba. (0.1 \rightarrow 1.28), d : Diferencia de medias, obtenidas de la úrea sérica piloto =2

S^2 : varianza de la población en estudio obtenido de la úrea sérica piloto = 6.25

Criterios de inclusión

Especímenes aproximadamente adultos jóvenes y con 100-125 g de peso, en aparente buen estado salud, todos de una misma edad, que no hayan sufrido manipulación alguna y adecuado periodo de adaptación en bioterio de la facultad de farmacia de la Universidad Nacional de Trujillo.

Criterios de exclusión

Especímenes que durante el transporte sufrieron algún cambio observable y/o los que no se tuvieron adecuado periodo de adaptación en bioterio de la facultad de farmacia de la Universidad Nacional de Trujillo.

MÉTODO Y TÉCNICAS.

La metodología fue una adaptación de las que usan en la inducción de nefrotoxicidad por medicamentos oncológicos en animales de experimentación.^{6,8}

Esta metodología fue adaptada y se trabajó en dos fases. Los animales de experimentación fueron divididas en 3 grupos, cada uno consistirá de 10 animales.

GRUPOS DE TRABAJO	FASE I		FASE II	
	DÍAS DE ANÁLISIS /TIPO DE TRATAMIENTO			
	0	10	18	28
Blanco	dieta	Dieta	dieta	dieta
Problema I	dieta+ ifosfamida	dieta+ ifosfamida	dieta+ maca	dieta+ maca
Problema II	dieta+ maca	dieta+ maca	dieta+ maca	dieta+ ifosfamida

Rojo: días de análisis.

Grupo Blanco: (control negativo): Los animales de experimentación fueron tratadas con solución salina 0.9% (0.5 ml) intraperitonealmente más dieta por 28 días.

Grupo Problema I: Los animales de experimentación recibieron dieta y fueron administradas intraperitonealmente por 10 días con ifosfamida en una dosis de **1.2 g/Kg/Día (realizar este procedimiento con mucho cuidado)**. Luego fueron administrados solución de Maca liofilizada, por vía oral en una dosis de **5g/día**, por un periodo de 18 días.

Grupo Problema II Los animales de experimentación recibieron dieta y solución Maca liofilizada **5g/día** por 18 días, Luego se les inyectó Intraperitoneal de Ifosfamida en dosis de **1.2 g/Kg (realizar este procedimiento con mucho cuidado)**.

La Maca con la que se trabajó en esta experiencia fue la liofilizada del ecotipo “Negra”. Adquirida de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Cada caja adquirida contenía 100 sobres cada una de ellas 3g.

La solución de maca se preparó el equivalente a 5 g en 10 – 15 ml de solución salina fisiológica.

ANÁLISIS DE MUESTRAS SÉRICAS Y URINARIAS

Muestras Séricas: Estas muestras fueron tomadas por punción en la cola en capilares no Heparinizados, desde las 7.30 am-8:30am en los días propuestos en el cuadro anterior. Se cuantificó las siguientes pruebas por Espectrofotometría método cinético (cobas c111): Úrea, Creatinina, fósforo, Electrodo ión Selectivo (EasyLyte): Sodio y Potasio.

Muestras Urinarias: Estas muestras fueron tomadas de manera individualizada a cada especie, luego de encontrar las orinas, desde las 7.30 am-8:30am se procedió a filtrarlas, las cuales se cuantificó las siguientes pruebas por Espectrofotometría método cinético (cobas c111): Úrea, creatinina.

ANÁLISIS HISTOLÓGICO.

24 horas posterior al último tratamiento, se sacrificaron los animales de experimentación mediante la Eutanasia en una campana con cloroformo (**Realizar este procedimiento con mucho cuidado**).

Se compararon los tejidos renales, con diversos cortes (Microtomos en parafina), para ello se obtuvo los 2 riñones de animales de experimentación y se los mantuvo en una solución de formol 10%, éste procedimiento fue llevado a cabo por colaboración del Instituto de Investigación Inbiomed de la ciudad de Trujillo.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El Anova para las muestras Basales de cada grupo, la prueba T de Student para diferencia de medias independientes en cada grupo, además se aplicó el Test exacto de Fisher para los datos cualitativos en los cortes histológicos renales. Todas las pruebas ($p < 0.05$), fueron analizados en la base estadística del SPSS VERSIÓN 22.

V. RESULTADOS

5.1.1 En la Tabla 01 se muestran los valores promedios de cada Parámetros Bioquímicos Séricos Basales, comparando en los 3 diferentes grupos de *Rattus rattus var. Holtzman*. Siendo estas homogéneas $p > 0.05$.

Tabla 1: *Parámetros Bioquímicos Séricos basales en los diferentes grupos.*

<i>Parámetros</i>	<i>Blanco</i>	<i>Problema 1</i>	<i>Problema 2</i>	<i>*p</i>
Sodio (Na⁺) (mEq/L)	144.25 ± 3.33	142.5 ± 3.47	140.7 ± 5.46	0,1868
Potasio (K⁺)(mEq/L)	6.93 ± 0.44	6.36 ± 0.55	6.712 ± 0.59	0,0708
Urea (mg/dL)	41.5 ± 3.17	39.6 ± 3.41	40.3 ± 3.33	0,4538
Creatinina (mmol/L)	0.251 ± 0.04	0.221 ± 0.03	0.23 ± 0.02	0,1665
Fosfato(PO₄) (mg/dL)	6.876 ± 0.36	6.978 ± 0.59	6.979 ± 0.43	0,8773
Glucosa (mg/dL)	121.2 ± 3.33	121.5 ± 4.86	123.4 ± 2.46	0,3643

ANOVA: $p > 0.05$ GL: 29. :*p valor crítico. No hay diferencia significativa,

5.1.2 En la Tabla 02 se muestran los valores promedios de cada Parámetros Bioquímicos Urinarios Basales, comparando en los 3 diferentes grupos de *Rattus rattus var. Holtzman*. Siendo estas homogéneas $p > 0.05$.

Tabla 2: *Parámetros Bioquímicos Urinarios basales en los diferentes grupos.*

<i>Parámetros</i>	<i>Blanco</i>	<i>Problema 1</i>	<i>Problema 2</i>	<i>*p</i>
Urea (mmol/L)	399.16 ± 2.65	402 ± 3.04	401.9 ± 3.59	0,0652
Creatinina (mmol/L)	4.85 ± 0.3	4.6 ± 0.39	4.75 ± 0.47	0,4833

ANOVA: $p > 0.05$ GL: 29. :*p valor crítico. No hay diferencia significativa.

5.2.1 En la Tabla 03 se observa la evolución de los parámetros bioquímicos séricos en el Grupo Problema 1, tras la administración de ifosfamida por 10 días, luego la administración de Maca por 18 días; se evidencia el efecto “regenerador” sobre el sodio, la úrea, creatinina y fosfato, además de la disminución de los valores de glucosa.

Tabla N° 03: Efecto de la maca sobre los valores de los parámetros bioquímicos séricos en el Grupo Problema 1.

Parámetros	Basal X ±DS	Ifosfamida X ±DS	Maca X ±DS
<i>Sodio (Na⁺) (mEq/L)</i>	143.8 ± 3.82	148 ± 3.65***	137.7 ± 2.05**
<i>Potasio (K⁺)(mEq/L)</i>	6.6 ± 0.28	7.0 ± 0.22***	7.1 ± 0.10**
<i>Urea (mg/dL)</i>	36.1 ± 2.56	41.7 ± 1.89***	38.7 ± 2.29
<i>Creatinina (mmol/L)</i>	0.35 ± 0.02	0.44 ± 0.03***	0.37 ± 0.035
<i>Fosfato(PO₄) (mg/dL)</i>	7.6 ± 0.27	8.6 ± 0.58**	7.5 ± 0.31
<i>Glucosa (mg/dL)</i>	131.6 ± 4.76	133.8 ± 5.53	121.71 ± 2.43*

T Student. Para datos pareados *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 comparado con el grupo blanco

5.2.2 En la Tabla 04: Se observa la evolución de los parámetros bioquímicos urinarios en el Grupo problema 1, debido a la administración de ifosfamida por 10 días y luego de la administración de la Maca por 18 días, se observa el efecto “regenerador” altamente significativo sobre la úrea y significativa sobre la creatinina.

Tabla N° 04: Efecto de la Maca sobre de los valores de Urea y Creatinina urinaria en el Grupo problema 1 .

Parámetros	Basal X ±DS	Ifosfamida X ±DS	Maca X ±DS
<i>Urea (mmol/L)</i>	402 ± 1.56	437.1 ± 26.47**	390.5 ± 4.39***
<i>Creatinina (mmol/L)</i>	4.6 ± 0.31	5.6 ± 0.36**	4.2 ± 0.17 *

T Student. Para datos pareados *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 comparado con el grupo blanco

5.2.3 En la tabla N° 05 se determina el cambio de las características renales, comparados con el basal, el efecto de Maca como regenerador, aunque su efecto se aprecia solo en la ausencia Edema ($p < 0.05$).

Tabla N° 05: Efecto de la Maca sobre las Características del tejido renal en el Grupo problema 1.

Características		Túbulos proximales distorsionados	Desprendimiento o de células tubulares	Infiltrado inflamatorio intersticial	Edema.	Necrosis.	Degeneración del glomérulo con pérdida	Sustancia administrada
Antes	Basal	0	0	0	0	0	0	
Después	Presencia %	50	87,5	56,25	6,25	43,75	62,5	ifosfamida
	Ausencia %	50	12,5	43,75	93,75	56,25	37,5	maca
	significancia	N.S	N.S	N.S	S	N.S	N.S	

Test exacto de Fisher: (S) Significativo ($p < 0.05$) (N.S) No significativo ($p > 0.05$)

5.3.1 En la Tabla 06 se observa la evolución de los parámetros bioquímicos séricos en el Grupo problema 2, tras la administración de maca por 18 días y luego ifosfamida por 10 días, se observa el efecto de la maca sobre los parámetros séricos no se evidencia un efecto protector significativamente al efecto tóxico de la ifosfamida.

Tabla N° 06: Efecto de la Maca sobre los valores de los parámetros séricos en el Grupo problema 2.

Parámetros	Basal X ±DS	Maca X ±DS	Ifosfamida X ±DS
Sodio (Na^+) (mEq/L)	141.6 ± 2.07	136.3 ± 3.36*	147.1 ± 1.86**
Potasio (K^+) (mEq/L)	7.2 ± 0.18	7.2 ± 0.56	6.9 ± 0.21*
Urea (mg/dL)	42.3 ± 2.21	38.3 ± 2.81*	39.7 ± 2.36
Creatinina (mmol/L)	0.23 ± 0.027	0.25 ± 0.017*	0.38 ± 0.024***
Fosfato (PO_4) (mg/dL)	6.5 ± 0.26	7.1 ± 0.16**	7.3 ± 0.21**
Glucosa (mg/dL)	124.3 ± 2.06	119.3 ± 2.70**	123 ± 1.83

T Student. Para datos pareados * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ comparado con el grupo blanco

5.3.2 En la Tabla 07: Se observa la evolución de los parámetros bioquímicos urinarios en el Grupo problema 2, debido a la administración de Maca por 18 días y luego de la ifosfamida por 10 días, se observa el evidencia el efecto “protector” altamente significativo sobre la úrea y significativa sobre la creatinina.

Tabla N° 07: Efecto de la Maca sobre de los valores de Urea y Creatinina urinaria en el Grupo problema 2

<i>Parámetros</i>	<i>Basal</i> <i>X ±DS</i>	<i>Maca</i> <i>X ±DS</i>	<i>Ifosfamida</i> <i>X ±DS</i>
<i>Urea (mmol/L)</i>	398.9 ± 3.18	390.5 ± 4.4**	397.4 ± 1.56
<i>Creatinina (mmol/L)</i>	4.8 ± 0.36	4.2 ± 0.17**	4.6 ± 0.26

T Student. Para datos pareados *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 comparado con el grupo blanco

5.3.3 En la tabla N° 08 se observa al tejido renal bajo el efecto de Maca como protector, aunque su efecto se aprecia en el aumento del % de ausencia en tres características renales, no son significativas, salvo Edema (p<0.05)

Tabla N° 08: Efecto de la Maca sobre las Características del tejido renal en el Grupo problema 2

<i>características</i>		<i>Túbulos proximales distorsionados</i>	<i>Desprendimiento de células tubulares</i>	<i>Infiltrado inflamatorio intersticial</i>	<i>Edema.</i>	<i>Necrosis.</i>	<i>Degeneración del glomérulo con pérdida</i>	<i>Sustancia administrada</i>
<i>Antes</i>	<i>Basal</i>	0	0	0	0	0	0	
<i>Después</i>	<i>Presencia %</i>	50	50	31,25	0	18.75	12,5	<i>Maca</i>
	<i>Ausencia %</i>	50	50	68,75	100	81.25	87,5	<i>Ifosfamida</i>
	<i>significancia</i>	N.S	N.S	N.S	S	N.S	N.S	

Test exacto de Fisher: (S) Significativo (p<0.05), (N.S) No significativo (p>0.05)

VI. DISCUSION

Esta investigación es una de las primeras en cuanto a la aplicación de la maca sobre toxicidad renal. El riñón es una de las principales vías de eliminación de los Citostáticos y, por ello, muchos agentes quimioterápicos pueden producir fracaso renal o una lesión específica a nivel de los túbulos o los glomérulos. El daño renal condiciona alteraciones metabólicas que conllevan cúmulo de metabolitos tóxicos.

Efecto de Ifosfamida 50mg/kg sobre algunos parámetros bioquímicos séricos y urinarios se observa en muchos casos a partir de los 5 días de tratamiento⁶, en nuestro piloto para la inducción de la nefrotoxicidad a los 10 días del tratamiento se manifiesta las características del síndrome de Fanconi.

Los datos basales, en las muestras séricas (Tabla N° 01) y urinarias (Tabla N° 02) en los 3 grupos, aplicando el test de Anova los resultados son homogéneos ($p > 0.05$). Estos animales fueron sometidos a un periodo de adaptación, todos ellos en las mismas condiciones de alimentos, ciclo día noche, volumen de hidratación, entre otros factores.

El sodio es uno de los principales factores determinantes de la osmolaridad del líquido extracelular, La variación de los datos séricos (**Tabla N° 03**), aumenta significativamente los valores de sodio ($p < 0.01$). La hipernatremia ocurre por pérdida de agua extrarenal o renal, a medida que el agua se elimina, se produce una hiperosmolaridad extracelular.¹⁶ El síndrome de Fanconi, inducido por la administración de ifosfamida, es un defecto generalizado del transporte de sodio y acidosis tubular proximal. La secreción de protones (H^+) se produce por dos mecanismos distintos, en intercambio con el sodio o independiente de Na^+ . La secreción de H^+ en intercambio con el Na^+ se realiza por medio de un sistema «antiporter» localizado a nivel de la membrana apical, secretándose los H^+ a la luz en intercambio con el Na^+ que entra a la célula por un gradiente electroquímico favorable al movimiento iónico transmembrana.²⁷

La Maca, posee metabolitos, como derivados de flavonoides y resinas que tienen un comportamiento diurético que podrían estar mejorando el equilibrio hidroelectrolítico, promoviendo la eliminación de Sodio ($p < 0.01$)²¹.

La elevación del potasio en la **Tabla N° 03**, se puede deber a que para que sea efectiva su excreción de potasio exige una cantidad normal de unidades nefronales funcionales, alteraciones de los túbulos renales pueden conducir a la hiperpotasemia secundaria a la retención de potasio. La relación entre K^+ intra y extracelular la depende del equilibrio ácido básico renal, mientras que la acidosis tiende a movilizar el K^+ intracelular hacia fuera de las célula; por el contrario, la alcalosis favorece en su movilización hacia las células.²⁷.

Otra causa del aumento de las concentraciones de K^+ plasmático que sigue a la ingestión de alimentos que estimulan la insulina, la maca tiene efecto hipoglucemiante, por mejorar el efecto de la insulina. La administración de harina de maca en la dieta (4 a 6 g/día) de animales diabéticos redujo la glicemia en 50%, incrementó los niveles de insulina 22%²³.

La úrea y creatinina, marcadores séricos y renales importantes se vieron elevados ($p < 0.001$), La úrea en sangre se mide y se expresa como Nitrógeno de Úrea (BUN), éstos varían en relación inversa con la filtración glomerular (FG), la excreción de úrea es un reflejo de importancia de la FG, el aumento de creatinina sérica indica daño renal o progresión de este daño, sus descensos, urea y creatinina sérica sugiere una recuperación renal^{26,27}, lo cual en la **Tabla N° 03**, se observa un recuperación franca de la úrea y creatinina ($p > 0.05$) comparado con su basal.

Las posibles relaciones entre parámetros del metabolismo mineral, fundamentalmente el fósforo, y la inflamación a través de los marcadores de la proteína C reactiva (PCR), el factor de necrosis tisular alfa (TNF- α) y la interleucina-6 (IL-6), aparecen con el daño renal, mientras que el tratamiento con Maca sirvió para volver a sus estados basales ($p > 0.05$)^{15,24}.

De la Tabla N° 04; La azotemia intrarrenal (aumento de urea y creatinina sérica), también conocida como insuficiencia renal aguda (IRA), una de las causas más comunes es la necrosis tubular aguda (NTA), Los balances de urea y creatinina en orina mostradas en esta tabla, sufren alteración con la dosis administrada de ifosfamida esto debido y confrontado con los daños en el tejido renal: Túbulos proximales distorsionados y Desprendimiento de células tubulares mostradas en la **Tabla N° 05**.

La nefrotoxicidad inducida por medicamentos es un hallazgo de gran importancia clínica, debido a su alta frecuencia y potencial severidad, así como al desconocimiento de medidas

preventivas en muchos casos ^{10, 16}. Las principales alteraciones renales producidas por medicamentos se pueden clasificar histopatológicamente, según la función renal alterada. De este modo, se encuentra la necrosis tubular aguda, la nefritis intersticial, la lesión glomerular y las alteraciones vasculares, que a su vez incluyen la microangiopatía trombótica, la aterosclerosis y la vasculitis ^{25, 26, 27}.

Los agentes quimioterapéuticos pueden afectar al glomérulo y van desde una elevación asintomática de la creatinina sérica a una insuficiencia renal aguda que requieren diálisis, la nefrotoxicidad inducida por medicamentos muchas veces puede prevenirse o en lo mejor de los casos pueden ser reversibles, dependiendo de la dosis del medicamento, la complejidad del caso o el tiempo que se tenga en uso, entre otros factores, evidencias experimentales que implican a las especies reactivas de oxígenos (EROs) como mediadores primarios en la patogénesis del daño renal y producen lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares especialmente en segmentos del túbulo proximal generando daño de la integridad celular y alteración de la capacidad de transporte celular y la producción de energía^{6, 26}.

La maca, el ecotipo “negra”, tiene gran cantidad de vitaminas como la vitamina C y la vitamina E, además del complejo B, la presencia de los minerales hace que la maca sea un excelente revitalizante, contiene además potasio y sodio; minerales que son cofactores enzimáticos importantes para el organismo, como el cobre, magnesio y zinc en ppm^{20, 22}. La maca tiene la capacidad de eliminar y disminuir los radicales libres (EROS/ERN), lo cual puede deberse a la presencia de glucosinolatos ²².

Los glucosinolatos son estructuras químicas importantes debido a su actividad fertilizante, acción citostática, actividad anticarcinogénica y la prevención de enfermedades crónicas. Sus productos de hidrólisis como los isotiocianatos y los indoles han demostrado tener actividad antitumoral. Químicamente los glucosinolatos son compuestos hidrosolubles, tienen el mismo núcleo el cual consiste en un tioglucósido, unido al átomo de carbono de una oxima sulfonada y un grupo funcional R que deriva aminoácidos como valina, alanina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina y triptófano ²⁸.

El efecto protector o citoprotector de una sustancia sobre un tejido, se refiere a la administración del tratamiento previo y/o paralelo a la injuria, lo cual podría observarse, dos resultados distintos, protección a corto plazo y a largo plazo respectivamente.

En la **Tabla N° 05**, se evidencia que la maca viene ejerciendo efecto sobre el tejido renal, pero no es significativamente, aparentemente tendría que utilizarse por más tiempo para ver mejores resultados.

En esta investigación también se analizó el efecto de la Maca previo a la administración de Ifosfamida; En la **Tabla N° 06**, la Maca disminuye las concentraciones de sodio ($p < 0.05$) respecto al basal, de las aunque, la administración de la Ifosfamida se observa la elevación de estos valores ($p < 0.05$) respecto al basal. Se postula que la administración paralela de Maca e Ifosfamida no hubiese dado una elevación significativa.

En el caso del potasio **Tabla N° 06**, la Maca mantiene los valores séricos ($p > 0.05$), aunque la administración de ifosfamida la disminuya ($p < 0.05$). En los marcadores úrea sérica y urinaria, **Tabla N°07**, se evidencia una disminución de los valores por efecto de la maca ($p < 0.05$), aunque la administración de la Ifosfamida las eleve pero siendo estas no significativas respecto al basal ($p > 0.05$). Estos datos pueden servir como evidencia para postular que la Maca protege los valores de algunos marcadores séricos hasta el daño tóxico por ifosfamida.

Los valores de creatinina se ven elevados por la administración de la Maca ($p < 0.05$) y la Ifosfamida ($p < 0.01$) la cual evidencia que no hay efecto protector, al igual que con los valores de séricos de fosfato ($p < 0.05$) luego de la administración de la Maca e Ifosfamida.

El efecto hipoglucemiante de la Maca²³ ($p < 0.01$) no permite que la ifosfamida pueda llevarla hasta un efecto contrario ($p > 0.05$).

Tabla N° 08, la ifosfamida parece afectar a todo el tejido renal con diferentes características, aunque parece no afectar con edema, aunque el efecto de la Maca no se evidencia pero se puede postular que la administración conjunta podría disminuir el efecto tóxico.

V. CONCLUSIONES

Luego de haber analizado los datos del efecto de la Maca sobre la nefrotoxicidad, se concluye en lo siguiente:

La administración en solución de la *Lepidium meyenii* Walp, “Maca”, ecotipo Negro sobre la nefrotoxicidad inducida por la ifosfamida si presenta efecto sobre la nefrotoxicidad inducida por ifosfamida, éste se ve evidenciado por el efecto regenerador es decir una disminución y/o control en los valores séricos ($p < 0.05$): sodio, úrea, creatinina, fosfato y glucosa, además de las muestras urinarias: úrea y creatinina ($p < 0.05$).

Además se evidencia por el efecto protector es decir permitir que no aumente los valores séricos ($p < 0.05$): úrea y glucosa, además de las muestras urinarias: úrea y creatinina ($p < 0.05$).

No se evidencia efecto de la maca significativamente sobre las características de Tejido renal.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Organización Mundial de la Salud. Cáncer, Datos, cifras y Tratamiento centro de prensa de la OMS. Ginebra: OMS; 2012. Nota descriptiva N°297.
2. B. L. Hug, D. J. Witkowski, C. M. Sox. Occurrence of adverse, often preventable, events in community hospitals involving nephrotoxic drugs or those excreted by the kidney. *Kidney Int* 2009; 76:1192-1198. Disponible en: [http://www.kidney-international.org/article/S0085-2538\(15\)53872-6/fulltext](http://www.kidney-international.org/article/S0085-2538(15)53872-6/fulltext)
3. Vázquez E, Delgado I, Sánchez-Montañez A, Barber I, Sánchez-Toledo J, Enríquez G. Side effects of oncologic therapies in the pediatric central nervous system: update on neuroimaging findings. *Radiographics*. 2011 Jul-Aug;31(4):1123-39. Review. PubMed PMID: 21768243.
4. Portillo Horcajada L, Fernandez-Corada Sánchez A, Efectos secundarios del tratamiento en el paciente oncológico 2006. *Boletín Farmacoterapéutico de Castilla-La Mancha*. SESCAM. Vol. VII, N°4.
5. Chabner B, Amrein P, Brian J, Druker B, Michaelson M, Mitsiades CGoss P, Et al. *Fármacos Antineoplásicos Quimioterapia de enfermedades neoplásicas, Las bases Farmacológicas de la terapéutica*. Sección IX Cap 5. Pág. 1323-1334.
6. Chen N, Aleksa K, Woodland C, Rieder M, Koren G. N-Acetylcysteine prevents ifosfamide-induced nephrotoxicity in rats. *Br J Pharmacol*. 2008 Apr;153(7):1364-72. Epub 2008 Feb 18. Acceso 21 de Noviembre 2012, disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2437918/>
7. Satoshi T, Nobuo S, Akira N, Mikio Yashiki. Monitoring of urinary acrolein concentración in patients receiving cyclophosphamide and ifosfamide. *Journal of Chromatography B* 2004. Jun 25;806(1):59-63. Acceso 21 de Noviembre 2012 Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15149612>
8. Itzhak Nissim, Oksana Horyn, Yevgeny Daikhin, et al. Ifosfamide- induced Nephrotoxicity: mechanism and prevention. *American Association for cancer research*. 2006;66:7824-7831, publicado 02/08/2006 Fecha de acceso Julio 2012. Disponible en:
<http://cancerres.aacrjournals.org/content/66/15/7824.long>

9. Zhang J, Tian Q, Shu-Feng Z. Clinical pharmacology of Cyclophosphamide and Ifosfamide Department of Pharmacy, Faculty of Science, National University of Singapore, Singapore. Fecha de acceso 10/11/2012 disponible en:
<http://www.benthamscience.com/cdth/samples/cdth1-1/Zhou.pdf>
10. Yao X, Panichpisal K, Kurtzman N, Nugent K. Cisplatin nephrotoxicity: a review. *Am J Med Sci.* 2007 Aug;334(2):115-24. Review. PubMed PMID: 17700201.fecha de acceso: 18/11/2012 disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17700201>
11. Decloedt E. Maartens G. Drug-induced renal injury, The kidney plays an important role in the elimination of many drugs and their metabolites. *CME JUNE 2011 Vol.29 No.6.* Fecha de acceso: 27/11/2012 disponible en:
<http://www.ajol.info/index.php/cme/article/viewFile/72001/60950>
12. Schnellmann G, Kelly K Pathophysiology of Nephrotoxic Acute Renal Failure. Friedman HH, coordinador. *Manual de Diagnóstico Médico.* 5ª ed. Barcelona: Masson; 2004. p.183-90.
13. Perazella MA. Renal vulnerability to drug toxicity. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Jul;4(7):1275-83. Epub 2009 Jun 11. Review. PubMed PMID: 19520747.Fecha de acceso: 27/11/2012 disponible en:
<http://cjasn.asnjournals.org/content/4/7/1275.full>
14. Lázaro A, Camaño S., Humanes B, Tejedor A. Novel Strategies in Drug-Induced Acute Kidney Injury. *Renal Physiopathology Laboratory, Department of Nephrology, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain* disponible en :
http://cdn.intechopen.com/pdfs/32135/InTech-novel_strategies_in_drug_induced_acute_kidney_injury.pdf
15. Moffett BS, Goldstein SL. La lesión renal aguda y creciente -medicación nefrotóxica exposición en noncritically con enfermedades hijos. *J Am Soc Clin Nephrol.* 2011 Apr; 6 (4) :856-63. Epub 2011 Jan 6. PubMed PMID: 21212419; PubMed Centro PMCID: PMC3069379. Fecha de acceso:27/11/2012 disponible en:
<http://cjasn.asnjournals.org/content/6/4/856.long>

16. Anzai N. Hitoshi E. Renal drug transporters and nephrotoxicity. 2007. Department of Pharmacology and Toxicology, Kyorin University School of Medicine, Shinkawa, Mitaka-shi, Tokyo. Japan Fecha de acceso 26/11/2012 disponible en :
<http://altweb.jhsph.edu/wc6/paper447.pdf>
17. Bartlett k., Eaton S. Mitochondrial b-oxidation. MINIREVIEW (2004) Eur. J. Biochem. 271, 462–469 (2004) Fecha de ingreso 23/1/2012 disponible en:
<http://pirate.shu.edu/~rawncarr/Regulation%20of%20beta-oxidation.pdf>
18. World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. (2007) Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. AICR, Washington, DC. Fecha de ingreso 23/1/2012 Disponible en:
<http://eprints.ucl.ac.uk/4841/1/4841.pdf>
19. Hagat S, Ghone RA, Suryakar AN, Hundekar PS. Lipid peroxidation and antioxidant vitamin status in colorectal cancer patients. Indian J Physiol Pharmacol. 2011 Jan-Mar;55(1):72-6. PubMed PMID: 22315813. Fecha de ingreso 23/1/2013 Disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22315813>
20. Rosas B J. Determinación del Efecto antioxidante de *Lepidium peruvianum chacon* (Maca) (Tesis doctoral). Arequipa. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Católica de Arequipa. 2003.
21. Mostacero J., Mejía F., Gamarra O. Taxonomía de las Fanerogamas útiles del Perú. Trujillo: Concytec. 2002. P:270.
22. Oré M. Efecto Hipolipémico y antioxidante de *Lepidium maneyii* Walp en ratas (Tesis doctoral). Lima. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2008.
23. Rodrigo M, Valdivieso R, Suárez S, Oriondo R, Oré M. Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. An. Fac. med. [online]. ene./mar. 2011, vol.72, no.1 [citado 04 Diciembre 2012], p.7-11. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832011000100002&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1025-5583.

24. Navarro JF, Muros M, Mora C, Macía M, Getino MA, García J. Independent relationship between Phosphorus and Inflammatory Parameters in Chronic Kidney Disease Patients. ASN 2008; F-PO1805. [Acceso: 17/03/2016] disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v12_n2/pdf/a11v12.pdf
25. Bancharo P, Saldombide Uso de quimioterapia en la insuficiencia renal Rev Med Uruguay 2004; 20: 145-149, [Acceso: 17/03/2016] disponible en: <http://www.rmu.org.uy/revista/2004v2/art9.pdf>
26. Muñoz-Arizpe Ricardo, Escobar Laura, Medeiros Mara. Acidosis tubular renal en niños: conceptos actuales de diagnóstico y tratamiento. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. [revista en la Internet]. 2013 Jun [Acceso 2016 Mayo 17]; 70(3): 178-194. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462013000300002&lng=es.
27. Peña R. Manual de Nefrología y trastornos de agua y electrolitos. 1° ed. México McGrawHill; 2006.
28. Ayambo L. Optimización del proceso de extracción etanólica del *Lepidium Peruvianum* Chacón, “maca” [Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2006.