

Efecto protector de Pericón (*Tagetes lucida*) contra daño renal inducido por gentamicina, nefropatía diabética y deshidratación por calor

Ameliorative effects of Tagetes lucida on gentamicin-induced nephrotoxicity, diabetic nephropathy and heat exposure in animal models

Rodrigo Castañeda ^{1,2*}, Caroline Aldana¹, Agustín Aceituno¹, David Morales¹, Diana Velasquez ¹, Cesar Rodriguez¹, Sully M. Cruz ^{2,3}

¹Laboratorio de investigación de farmacología experimental y Bioterio, ²Escuela de Química farmacéutica, y ³Laboratorio de investigación de productos naturales, Facultad de Farmacia, Universidad San Carlos, Guatemala

*Autor al que se dirige la correspondencia: castaneda.rodrigo@usac.edu.gt

Recibido: 22 de mayo 2022 / Revisión: 11 de marzo 2023 / Aceptado: 30 de mayo 2023

Resumen

Existe un gran número de especies utilizadas tradicionalmente en Guatemala para el tratamiento de condiciones asociadas al riñón, con una importante relación con el sistema de purificación de sangre, de excreción de sustancias y de protección renal. Sin embargo, hasta la fecha no ha sido explorada la actividad nefroprotectora de especies tradicionalmente reportadas en Guatemala para afecciones renales. El objetivo de este estudio fue evaluar *in vivo* un extracto etanólico de *Tagetes lucida* Cav. en modelos *in vivo* de daño renal por nefrotoxicidad inducida por gentamicina, nefropatía diabética inducida por estreptozotocina, y deshidratación por exposición a calor. Para ello, se indujo nefrotoxicidad en ratas con administración de gentamicina (100 mg/kg I.P.) durante 8 días, diabetes inducida por estreptozotocina (110 mg/kg I.P.) con evaluación por 3 meses de progresión diabética, y deshidratación por calor tras 5 semanas de exposición a 37° C por 1.5 h, con evaluaciones de peso corporal, evaluaciones de glucosa, creatinina y urea en sangre y en orina. La administración oral de 100 mg/Kg de *T. lucida*, protegió significativamente ($P < .05$) ante la elevación de los niveles de creatinina y urea en orina y sangre, inducida por gentamicina en ratas y en nefropatía diabética en ratones. Finalmente, el extracto de *T. lucida* suprimió significativamente la elevación de los niveles de urea en orina comparado con el grupo control deshidratado por calor privado de agua. Estos datos sugieren que *T. lucida* tiene un potencial efecto nefroprotector y metabólico que podría ser beneficioso en prevenir daño renal.

Palabras clave: *In vivo*, Aminoglucósidos; hiperglucemia; nefropatía de etiología desconocida; Pericón

Abstract

There are multiple noxious factors for the kidney that have a considerable impact on public health, such as hypertension, diabetes, exposure to nephrotoxic drugs, polluting environmental factors such as heavy metals or pesticides, and chronic dehydration, among others. Several species are traditionally used for the treatment of conditions associated with the kidney, with an important relationship with the blood purification system, substance excretion, and renal protection. However, the nephroprotective activity of species traditionally reported in Guatemala for kidney disorders has not been explored to date. This study aimed to evaluate the *in vivo* protective effects of an ethanolic extract of *Tagetes lucida* Cav. against gentamicin-induced nephrotoxicity, streptozotocin-induced diabetic nephropathy, and dehydration produced by heat exposure. Nephrotoxicity was induced in male rats by the administration of intraperitoneal gentamicin (IP, 100 mg/kg) for 8 days; diabetes was induced by streptozotocin (110 mg/kg IP) with evaluation of diabetic progression for 3 months; and dehydration was produced by continuous heat exposure of 1.5 hours at 37° C for 5 weeks, assessing body weight, blood glucose, creatinine, urea and protein in blood and urine. Oral administration of 100 mg/Kg of *T. lucida* significantly attenuated ($P < .05$) the elevation of creatinine and urea levels in rats exposed to gentamicin and in diabetic nephropathy in mice. Finally, the *T. lucida* extract significantly suppressed the elevation of urea levels in urine compared to the water-deprived heat-dehydrated control group. These data suggest that *T. lucida* has potential nephroprotective and metabolic effects that could be beneficial in preventing kidney damage.

Keywords: Aminoglycosides; hyperglycemia; dehydration, kidney, *in vivo*



Introducción

Aproximadamente 1.2 millones de personas fallecen al año por enfermedad renal crónica, con un aumento global del 32% desde 2005, y alrededor de 1.7 millones por daño de tipo agudo (Luyckx et al., 2018). Esto se relaciona con una tremenda carga económica para los sistemas de salud, sobre todo en países en vías de desarrollo (Nugent et al., 2011). Existen múltiples factores nocivos para el riñón que tienen un impacto considerable en salud pública, como hipertensión, diabetes, envejecimiento, exposición a fármacos nefrotóxicos, factores ambientales contaminantes como metales pesados, deshidratación crónica, entre otros. Esto ha impactado la investigación preclínica a partir del desarrollo de modelos animales que permitan comprender la fisiopatología en el riñón, además de utilizarlos para proponer distintos agentes farmacológicos que puedan proteger o regular funciones renales (Castañeda et al., 2020). Entre los factores etiológicos en modelos celulares y en modelos animales destacan el daño agudo producido por fármacos nefrotóxicos como aminoglucósidos (Abdel-Azeem et al., 2017; El-Kashef et al., 2015; Mahmoud, 2017). Existen otros factores con mayor impacto en clínica que tiene un factor crónico, como nefropatía diabética (Deshpande et al., 2008) o recientemente deshidratación por calor (Laux et al., 2016), que tienen el inconveniente en modelos animales a ser costosos y/o prolongados, por lo que puede resultar útil asociarlos a un modelo de tamizaje farmacológico de nefroprotección, como el modelo agudo de daño renal inducido por un nefrotóxico, para el desarrollo de nuevas opciones farmacológicas.

Mesoamérica es una región que se ha destacado por su patrimonio cultural y por ser una de las regiones con mayor biodiversidad del mundo, siendo uno de los centros más eminentes de domesticación de plantas (Pickersgill, 2016). Existen varias especies utilizadas tradicionalmente para el tratamiento de condiciones con importante relación con el sistema de purificación de sangre y de excreción de sustancias asociado al riñón (Castañeda et al., 2023). Hasta la fecha, ningún estudio etnofarmacológico enfocado a poblaciones guatemaltecas se ha buscado elucidar directamente la actividad nefroprotectora de las especies tradicionalmente reportadas en funciones renales. Entre estas especies, se encuentra *Tagetes lucida* Cav, conocida popularmente como pericón, la cual es una especie nativa muy importante en medicina tradicional de Guatemala, usada principalmente para enfermedades del sistema nervioso central, para problemas gastroin-

testinales, y para afecciones urinarias y purificación de la sangre (Hitziger, 2016). La administración oral de extractos crudos acuosos y etanólicos de las partes aéreas de *T. lucida*, así como las fracciones de acetato de etilo y acetato de etilo: hexano del extracto orgánico, han demostrado actividades de tipo ansiolítico, sedante y antidepresivo en ratones y ratas (Guadarrama-Cruz et al., 2008, 2012; Pérez-Ortega et al., 2016). Así mismo, recientemente se ha demostrado su actividad anti-inflamatoria, antiespasmodica y antidiarreica *in vivo* en varios modelos animales (Hernandez-Leon et al., 2020; Nayeli et al., 2020; Ventura-Martinez et al., 2020). Tomando en cuenta que en los últimos años se ha incrementado considerablemente el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos asociados a muerte celular renal, donde se conocen algunos productos naturales que podrían ser propuestos por su afinidad en bloquear mecanismos en común de enfermedad renal, no existen reportes donde exploren la protección de células renales a partir de especies vegetales usadas tradicionalmente en la población guatemalteca para proteger al riñón.

Es por ello que el objetivo de este estudio fue evaluar la actividad nefroprotectora de *T. lucida* en distintos modelos de daño renal en roedores inducido por nefrotoxicidad, nefropatía diabética y deshidratación por exposición a calor. Para ello, se indujo nefrotoxicidad en ratas macho, con administración de gentamicina intraperitoneal (I.P., 100 mg/kg) durante 8 días, diabetes inducida por estreptozotocina (STZ, 110 mg/kg I.P.) con evaluación de 3 meses de progresión diabética, y por deshidratación por calor tras 5 semanas de exposición a 37° C por 1.5 h, con evaluaciones de peso corporal, evaluaciones de glucosa, creatinina, y urea, en sangre y en orina. Los datos muestran que *T. lucida* tiene un potencial efecto nefroprotector y metabólico *in vivo* que podría ser beneficioso en prevenir daño renal, siendo el primer reporte de confirmación de su uso tradicional en función renal.

Materiales y Métodos

Declaración ética

Todos los protocolos y procedimientos *in vivo* se realizaron en acorde a la guía del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos para el Cuidado y Uso de animales de laboratorio (NIH 8023, revisado en 1996) y fueron aprobados por el comité de ética institucional de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala (CICUALCCQF-01-2020).

Animales

Todos los animales se mantuvieron desde su nacimiento a una temperatura de $22^{\circ}\text{C} \pm 3$, humedad de 40-60%, con un ciclo de luz oscuridad 12/12, con comida y agua *ad libitum* y con control diario de sus comportamientos innatos. Ratas Wistar macho de 7 semanas de edad de generación 1 y ratones de 7 semanas de edad CD-1 generación 4, fueron obtenidas y almacenadas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (obtenidas de Charles River Laboratories, Massachusetts, USA). En el inicio de cada experimento se utilizaron animales de la misma fecha de nacimiento con una variación máxima de ± 3 días y se balancearon los grupos en función del peso y otros parámetros propios de cada modelo.

Modelos *in vivo*

Nefrotoxicidad en ratas se realizó tras la administración de una solución de gentamicina intraperitoneal (I.P.) durante 8 días con pretratamiento 1 h antes (Sun et al., 2018). Posteriormente en las drogas vegetales activas se evaluó daño renal producido por diabetes inducida por STZ tras 14 semanas de daño diabético en ratones CD-1 (Calvin et al., 2010); y deshidratación tras un modelo de 5 semanas de exposición de ratas Wistar a 1-2 h diarias a 37°C en incubadora para roedores (Ugo Basile, Geronio, Varase, Italia) con administración oral posterior a la inducción (García-Arroyo et al., 2019). La administración oral y registro de pesos se realizó a diario en todos los experimentos, excepto en deshidratación por calor, en donde se realizaba 5 veces por semana.

Drogas vegetales

El extracto etanólico al 70% de hojas de *Tagetes lucida* (rendimiento 48.1%) fue realizado en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Facultad de Farmacia (USAC). Todos los parámetros de colección de la muestra vegetal fueron registrados y almacenados con número de espécimen de herbario (BIGU1127, Herbario de la Escuela de Biología, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC).

Drogas de referencia o inducción

Para los modelos de nefrotoxicidad se utilizó solución de gentamicina 100 mg/mL (Gentex, Queretaro,

México). Para los modelos de diabetes se utilizó STZ (MP Biochemicals, LLC, Illkirch, Francia) preparada inmediatamente en buffer de citratos (pH 4.5). Los extractos secos fueron diluidos en dimetilsulfoxido (Merck, Darmstadt, Alemania), ketamina 100 mg/mL (Dutchfarm. Mederhost den Berg, Holanda) y xilazina 20 mg/mL (Dutchfarm. Mederhost den Berg, Holanda) fueron utilizados para inducir anestesia en el momento de eutanasia. Glibenclamida (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) fue utilizada como control positivo en diabetes y N-acetilcisteína (NAC; Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) como control positivo en nefrotoxicidad.

Marcadores renales y metabólicos

La colección de orina se realizó en cajas metabólicas y los volúmenes de orina colectada de cada animal fueron medidos volumétricamente. La colección de 3 mL sangre fue obtenida vía punción cardiaca, recolectada en tubos de polipropileno sin aditivos de 3 mL, centrifugada a 5000 rpm por 10 min. El plasma y la orina obtenidas fueron analizadas usando un método colorimétrico (Espectrofotómetro Microlab 300) siguiendo los protocolos de los kits de prueba (DiaSys, Holzheim, Alemania). Se midieron creatinina en plasma y orina, urea en plasma y orina, glucosa excretada en orina. Para las evaluaciones de creatinina y urea en orina se realizaron diluciones 1:50. Las evaluaciones de glucosa en sangre se realizaron en punción de cola con usando un sistema de monitoreo de glucosa en sangre (One Touch; Lifescan, Milpitas, NV).

Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Prism 8 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Todos los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media (EEM). Las comparaciones estadísticas de las pruebas metabólicas, análisis de plasma y orina se realizarán utilizando ANOVA de una vía con comparación múltiple posterior a la prueba de Dunnett. Las comparaciones estadísticas en pesos y glucosa en diferentes días (o sus diferenciales con valores basales al inicio del experimento) se realizaron a partir de ANOVA de dos vías entre los grupos tratados con vehículo y los tratados con el daño experimental y tratamientos farmacológicos, seguido de la prueba de comparación de Bonferroni. Los valores de $P < .05$ se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

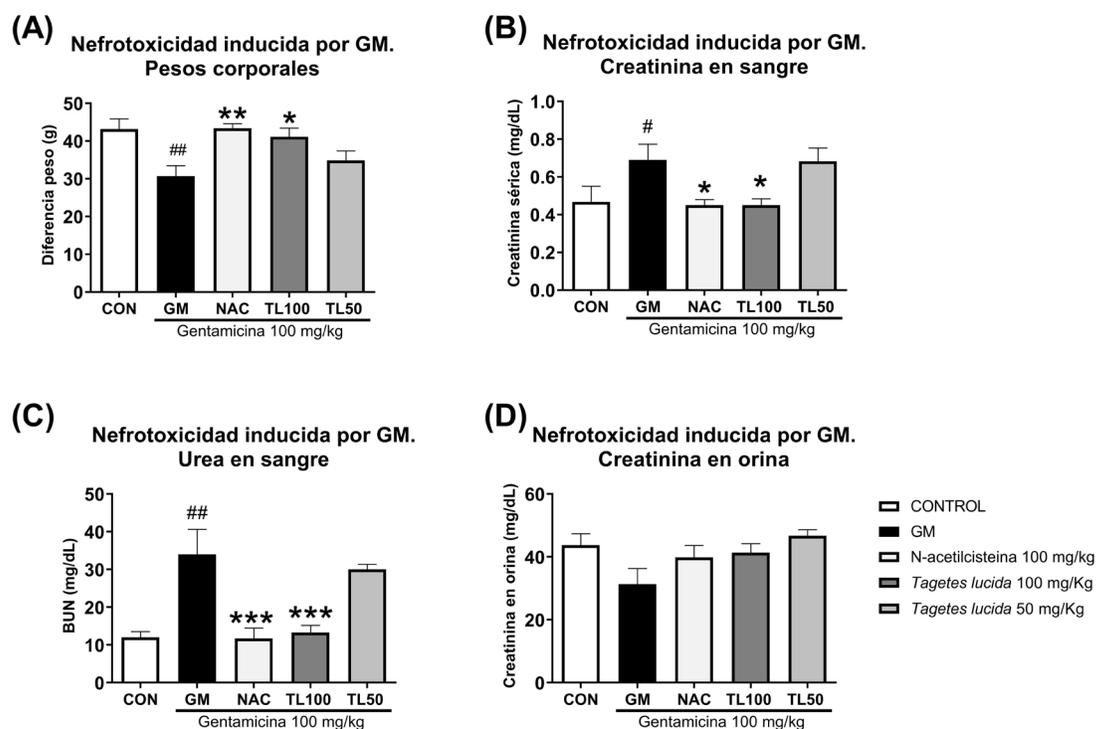
Inicialmente, se evaluó la actividad nefroprotectora aguda del extracto etanólico al 70% de hojas de *Tagetes lucida* en ratas Wistar ($n = 8$) en el modelo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina comparado con NAC como control positivo. La evaluación preliminar de pesos corporales demostró una significativa reducción de pesos corporales en el grupo control administrado con gentamicina (GM) después de 8 días de administración ($P < .05$) comparado con el grupo control con salino (Figura 1A). La administración oral de NAC y *T. lucida* 100 mg/kg protegió significativamente

($P < .05$) la reducción de pesos inducidas por gentamicina, y la elevación de creatinina plasmática y de nitrógeno de urea en sangre (BUN), comparados con el grupo control administrado con gentamicina (Figura 1B, 1C). Los valores promedio de creatinina en orina fueron mayores en el grupo administrado con NAC y *T. lucida* comparado con el grupo GM, similares al grupo de control administrado con salino (Figura 1E).

Posteriormente, se evaluó la actividad nefroprotectora crónica en ratones CD-1 ($n = 8$) en el modelo de nefropatía diabética inducida por STZ 110 mg/Kg comparado con Glibenclamida como control positivo. La evaluación de pesos corporales reveló una significativa reducción producida por diabetes en el grupo control

Figura 1

Efectos de *Tagetes lucida* en ratas Wistar macho administradas con Gentamicina (GM) ($n = 8$)



Nota. Panel A: Cambios en peso corporal tras 8 días de administración concomitante de gentamicina con extractos o control positivo. Panel B: Evaluación en creatinina sérica tras 8 días de administración concomitante de gentamicina con extractos o control positivo. Panel C: Nitrógeno de urea en sangre tras 8 días de administración concomitante de gentamicina con extractos o control positivo. Panel D: Creatinina en orina tras 8 días de administración concomitante de gentamicina con extractos o control positivo. Se demostró una significativa protección de *T. lucida* a dosis de 100 mg/kg, sobre la elevación de peso corporal, creatinina y urea en sangre, producidas por GM comparado con el grupo control salino, de forma similar al control positivo N-acetilcisteína. Los valores de $\#P < .05$, $\#\#P < .01$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control salino (normal). Los valores de $*P < .05$, $**P < .01$, $***P < .001$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control GM.

STZ comparada con el grupo control no diabético desde el día 22 de inducción de STZ (datos no mostrados). Posterior a las 4 semanas de inducción de diabetes (día 0), los grupos fueron asignados al azar según al valor promedio de pesos y niveles de glucosa comparable en cada grupo para que fuesen homogéneos, y se comenzó la administración oral del extracto de *T. lucida* durante 10 semanas, revelando un significativo menor peso corporal en los ratones diabéticos comparado con los ratones no diabéticos (Figura 2A). El grupo administrado con glibenclamida presentó valores promedio mayores al grupo control STZ. La administración oral diaria de *T. lucida* no mostró una protección a la pérdida de peso producida por diabetes inducida por STZ tras 10 semanas de evaluación. Después de 30 y 60 días de progresión diabética los valores de glucosa en sangre fueron aumentando significativamente en el grupo STZ control, comparado con el grupo control normal (Figura 2B, 2C). Después de 30 y 60 días de administración de tratamientos, glibenclamida y *T. lucida* redujeron significativamente los aumentos en los niveles de glucosa comparados con los valores basales (Figura 2C, 2D). La evaluación en creatinina sérica, orina de nitrógeno de urea, y excreción de glucosa, demostró que *T. lucida* protegió significativamente la elevación éstos valores comparado con el grupo control diabético de forma similar al control positivo hipoglucemiante glibenclamida (Figura 2E, 2I).

Posteriormente, se procedió a evaluar la actividad nefroprotectora de *T. lucida* en ratas macho de 7 semanas (n=8) en el modelo de deshidratación por calor. La evaluación de pesos corporales reveló una reducción de los valores promedio producida por deshidratación por calor desde el día 19, la cual fue ligeramente mayor en el grupo administrado con *T. lucida* (Figura 3A). La evaluación en orina de nitrógeno de urea y creatinina sérico demostró que *T. lucida* suprimió significativamente la elevación estos valores comparado con el grupo control deshidratado por calor privado de agua (Figura 3B, 3C). Sin embargo, aunque se observaron menores valores promedio, no se observaron alteraciones significativas en los valores de nitrógeno de urea en sangre y creatinina en orina (Figura 3D, 3E). Adicionalmente el control positivo, no demostró actividad nefroprotectora en este modelo.

Discusión

Mundialmente la nefropatía es la complicación más frecuente producida por diabetes, con 27.8% de

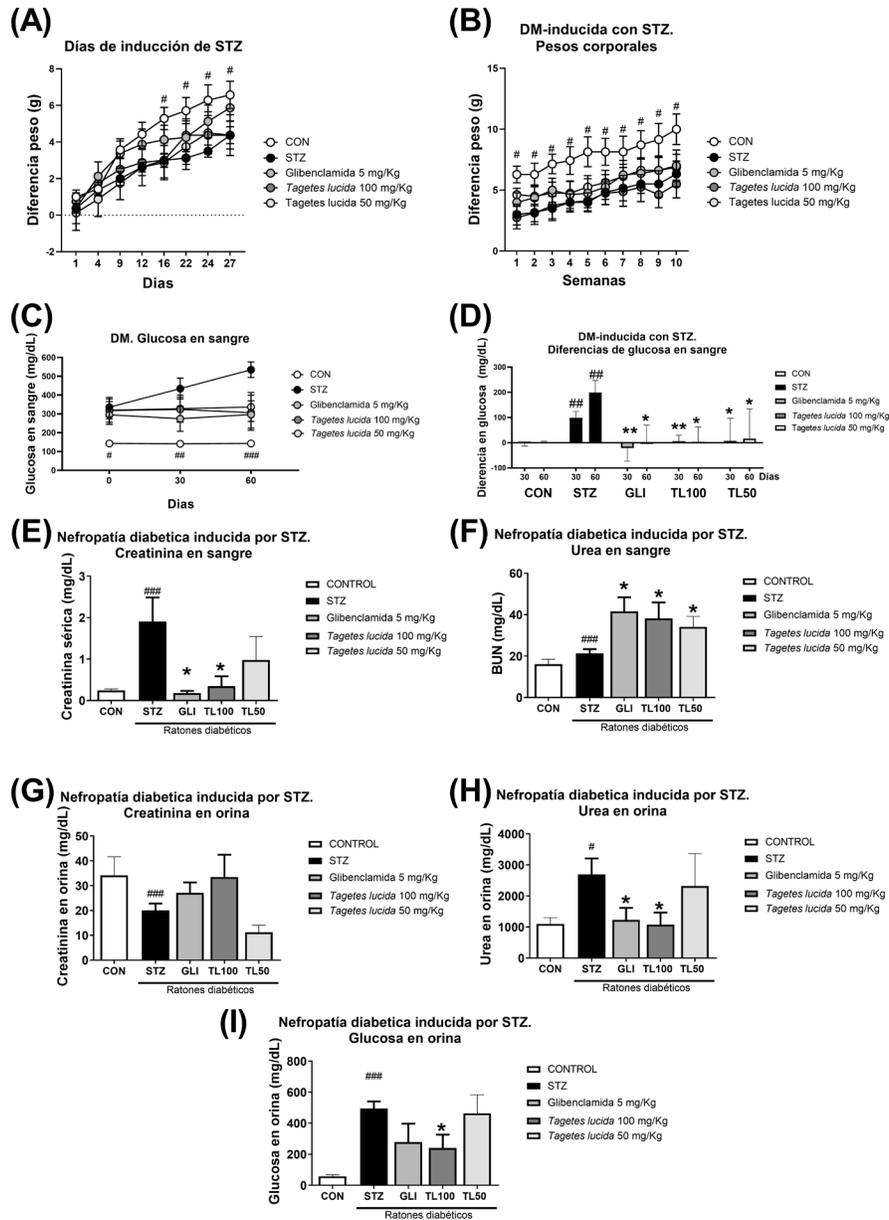
incidencia, seguida de pie diabético con 22.9%, y seguida de problemas visuales con 18.9% (Deshpande et al., 2008). Esto lo hace una complicación relevante a nivel mundial, sobre todo en países donde el índice de diabetes tiende a aumentar, como lo es en Guatemala, siendo un país que presenta dentro de las principales diez causas de mortalidad la insuficiencia renal crónica (Bream et al., 2018). Adicionalmente, existe una epidemia regional emergente en Guatemala de ERC de etiología es conocida en personas jóvenes, en trabajadores agrícolas principalmente en la costa sur del país, donde se ha desarrollado la hipótesis que el efecto de deshidratación sumada a exposición a calor genera daño renal crónico. Es por ello de suma importancia establecer un modelo de daño renal con estas características, que permita asociar con un mecanismo fisiopatológico de deshidratación y búsqueda de nuevos tratamientos que se puedan asociar a prevenir y disminuir el daño renal o sus complicaciones (Castañeda et al., 2020). Sin embargo, modelos animales que aproximen estas fisiopatologías son prolongadas, por lo que puede resultar útil asociarla a un modelo de tamizaje farmacológico de nefroprotección como el modelo agudo de daño renal inducido por un nefrotóxico.

En la actualidad, existen muchas plantas medicinales nativas utilizadas como medicina tradicional por varias comunidades guatemaltecas con un componente renal o relacionados con un proceso metabólico que puede involucrar al riñón en su prescripción (Ankli et al., 1999; Ayala Lemus, 1999; Barreno Ortiz, 2012; Cáceres et al., 1987; Cleaves Herrera, 2001; Giovannini et al., 2016; Girón et al., 1991; Hitziger, 2016; Hitziger et al., 2016; Kufer et al., 2010; Pardo Villegas et al., 2011; Sandoval, 1999; Tún, 2017; Vargas, 2019; Vargas & Andrade-Cetto, 2018).

Sin embargo, a la fecha aún no poseen evidencia en seguridad y eficacia, para ser utilizadas en prevenir y tratar el daño renal. Las implicaciones de estos productos naturales podrían representar una opción viable para su incorporación en el sistema de salud pública y apoyar a las personas que no tienen acceso a los tratamientos. Es por ello, que el presente estudio, evalúa la evaluación de una planta nativa con componente etnobotánico de daño renal, *Tagetes lucida*, en un modelo *in vivo* de daño renal inducido por gentamicina en ratas Wistar macho, en un modelo de nefropatía diabética inducido por STZ en ratones CD-1, y en un modelo de deshidratación por calor tras 5 semanas de exposición a 37° C por 1.5 h.

Figura 2

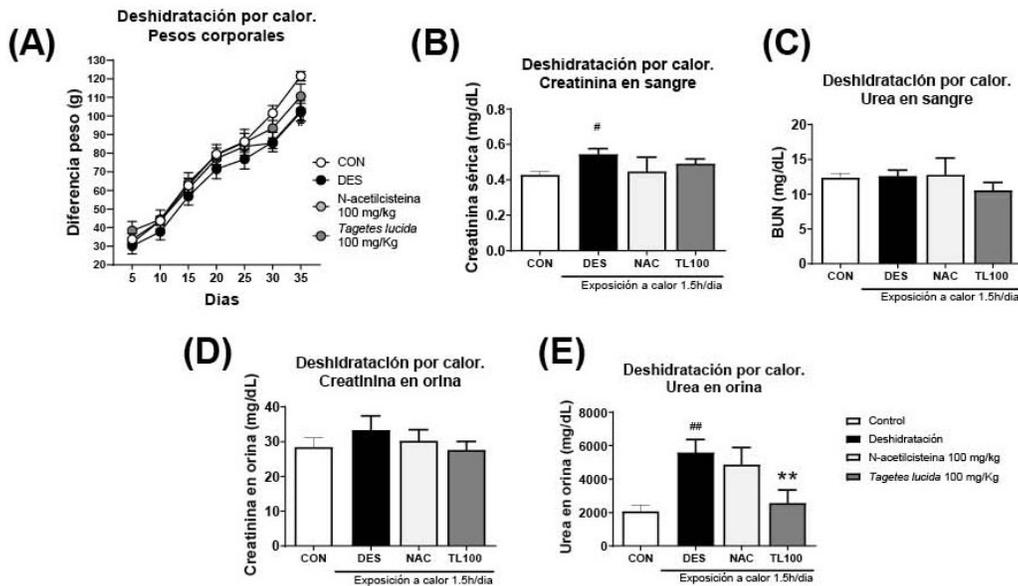
Evaluación de la administración oral de *Tagetes lucida* en ratones CD-1 macho en nefropatía diabética inducida por estreptozotocina (STZ) ($n = 8$)



Nota. Panel A: Cambios en peso corporal en inducción diabética tras 4 semanas de inyección de STZ. Panel B: Cambios en peso corporal en progresión diabética de 10 semanas. Panel C y D: Valores de glucosa en sangre posterior a la inducción de 4 semanas con STZ y sus diferenciales tras 30 y 60 días de administración de tratamientos, revelaron una significativa reducción en los diferenciales de glucosa comparados con los valores iniciales (día 0) tras la administración oral de glibenclámda y *T. lucida* (C,D). Panel E: Creatinina sérica tras 60 días de administración de tratamientos en progresión diabética. Panel F: Nitrógeno de urea en sangre tras 60 días de administración de tratamientos en progresión diabética. Panel G: Creatinina en orina tras 60 días de administración de tratamientos en progresión diabética. Panel H: urea en orina tras 60 días de administración de tratamientos en progresión diabética. Panel I: Excreción de glucosa tras 60 días de administración de tratamientos en progresión diabética. Estos resultados sugieren una protección de *T. lucida* sobre la elevación éstos valores comparado con el grupo control diabético de forma similar al control positivo glibenclámda. Los valores de $^*P < .05$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control no diabético (normal). Los valores de $^*P < .05$, y $^{**}P < .01$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control diabético.

Figura 3

Evaluación de la administración oral de *Tagetes lucida* en ratas Wistar macho en deshidratación por calor con privación de agua 1.5 horas diarias, 5 días a la semana, por 5 semanas ($n = 8$)



Nota. Panel A: Cambios en peso corporal durante 5 semanas de deshidratación por calor a 37 °C tras administración oral de *Tagetes lucida* 100 mg/Kg comparada con grupo control (vehículo sin exposición a calor), grupo deshidratado (vehículo con exposición a calor), y grupo control positivo (exposición a calor y administración de N-acetilcisteína). Panel B: Creatinina en sangre tras 5 semanas de administración concomitante de extracto o control positivo con deshidratación por calor. C: Urea en sangre tras 5 semanas de administración concomitante de extracto o control positivo con deshidratación por calor. Panel D: Creatinina en orina tras 5 semanas de administración concomitante de extracto o control positivo con deshidratación por calor. Panel E: Urea en orina tras 5 semanas de administración concomitante de extracto o control positivo con deshidratación por calor. El extracto de *T. lucida* suprimió significativamente la elevación de urea en orina. Los valores de [#] $P < .05$, ^{##} $P < .01$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control no expuesto a calor. Los valores de ^{*} $P < .05$ fueron considerados significativos comparados con el grupo control con exposición a calor.

Inicialmente se utilizó un modelo daño renal agudo por el aminoglucósido gentamicina que permitiera de forma preliminar mostrar actividad farmacológica en riñón. La GM es un antibiótico aminoglucósido utilizado de forma parenteral en clínica para infecciones bacterianas gramnegativo, que tiene entre sus efectos adversos más destacados una evidencia nefrotóxica al desarrollar en poco tiempo la elevación en los niveles de urea y creatinina en sangre, disminución de la tasa de filtración glomerular, lesiones tubulares y fibrosis (Al-Shabanah et al., 2010; Romero et al., 2009). Un gran número de estudios animales han demostrado que

GM en dosis entre 40-200 mg/kg vía intraperitoneal entre 4-10 días permiten tener datos consistentes de daño renal agudo (Abdel-Azeem et al., 2017; Arjajarn et al., 2016; Bae et al., 2014; El-Kashef et al., 2015; Guo et al., 2013). Uno de los mediadores que explican la muerte celular en distintas estructuras de la nefrona producida por aminoglucósidos es la activación de rutas apoptóticas a partir del aumento en estrés oxidativo mitocondrial que impacta la función renal (Castañeda et al., 2020). Es por ello que se seleccionaron antioxidantes como controles positivos, como N-acetilcisteína debido a su actividad en protección

renal (Mazzon et al., 2001). Experimentalmente se demostró una protección de funciones renales comparada con el vehículo al administrar dosis altas de *T. lucida* durante 8 días, al evitar algunas de las alteraciones metabólicas, como aumento de creatinina sérica, disminución de la creatinina urinaria, y aumento de urea sérica y urinaria. En este sentido *T. lucida* no ha sido una especie con actividad reportada en funciones renales, donde ha sido propuesta como agente activo en el sistema gastrointestinal, en reducir la presión y en el sistema nervioso central (Castañeda et al., 2022; Estrada-Soto et al., 2021; Ventura-Martinez et al., 2020). El aumento en los niveles de creatinina en plasma puede explicarse por la reducción en la filtración glomerular producto del daño producido en esta estructura. Esta especie ha sido poco explorada farmacológicamente en enfermedades metabólicas, sin embargo, se ha sugerido su actividad anti-inflamatoria que podría ser relevante en el proceso fisiopatológico producido por GM (Nayeli et al., 2020).

Entre los modelos animales diabéticos más utilizados en nefropatía diabética son aquellos donde la diabetes se induce químicamente a partir de la administración de STZ, la cual impacta la sobrevivencia de las células β de los islotes pancreáticos que se encargan de liberar insulina y mediante a ésta, disminuir los niveles de glucosa en sangre al promover el almacenamiento en los tejidos (Szkudelski, 2001). Esta elevación en los niveles de glucosa termina impactando el riñón, descompensando el sistema antioxidante celular, promoviendo la activación de cascadas que promueven el daño en la célula renal de forma que progresa la elevación de la glucosa en sangre (Tesch & Allen, 2007). Es por ello, que, como control positivo en los experimentos diseñados para evaluar protección renal producida por nefropatía diabética, se utilizó el antidiabético glibenclamida, ya que al regular los niveles de glucosa se previene de forma concomitante la reducción de parámetros metabólicos de daño renal. Los cambios morfológicos en los riñones de roedores producidos por elevación de los niveles de glucosa en sangre han demostrado al ratón CD-1 como un mejor modelo comparable con patologías asociadas con la nefropatía diabética humana avanzada. Es por ello que se seleccionó a esta cepa para evaluar el potencial nefroprotector de *T. lucida* en dos concentraciones.

Diferentes modelos de roedores se han utilizado para evaluar el impacto de la deshidratación en el daño renal crónico, con una intervención a partir de privación de agua y exposición a calor. Un estudio en ratones

C57BL/6J evaluó el efecto de deshidratación por calor, proponiendo un modelo con intervalos de deshidratación por calor durante 30 min/h durante 7 horas en 5 días por semana, comparando hidratación durante los 30 minutos de descanso entre periodos de deshidratación contra la privación de agua en este periodo (Roncal Jimenez et al., 2014). Este estudio demostró en ratones sin hidratación durante los 30 minutos de descanso, una mayor pérdida de peso por deshidratación y un significativo aumento en los niveles de creatinina sérica, presión arterial. Los ratones de tipo salvaje que recibieron hidratación tardía desarrollaron lesión tubular proximal e inflamación, fibrosis renal, y elevación en creatinina sérica elevada, comparado con los ratones que fueron hidratados durante las horas de deshidratación por calor. Esto sugiere que, en la construcción del modelo, el daño renal es más pronunciado al privar a los animales de hidratación. En otros estudios, este modelo, elaborado con intervalos de deshidratación por calor durante 30 min/h durante 7-8 horas (con privación de agua en periodos de descanso) en 5 días por semana, ha evidenciado aumento en la creatinina sérica, lesiones en el túbulo proximal (con pérdida de células en el borde en cepillo) e infiltración de macrófagos y fibrosis renal temprana tanto en la corteza renal como en la médula externa (Milagres et al., 2018; Roncal-Jimenez et al., 2017). También se han observado cambios glomerulares. Estos modelos con deshidratación aguda relativamente severa, resultan aproximadamente en un 14% de pérdida de peso diaria al final de cada período de deshidratación por calor, con un impacto en su reducción de peso a las 5 semanas de aproximadamente 4% comparadas con control. Esto está acompañado de un marcado aumento de la osmolalidad sérica en asociación con un aumento de la coceptina sérica y un aumento de la osmolalidad urinaria y creatinina urinaria, consistente con la concentración urinaria. Esto se encuentra en concordancia a lo observado en este estudio en la fase de validación y en la fase de experimentación, donde sorprendentemente se observan niveles elevados de creatinina urinaria, lo cual fue contrario a lo observado experimentalmente en los modelos de nefrotoxicidad y nefropatía diabética, donde la creatinina urinaria se encuentra generalmente disminuida. Sin embargo, la administración de *T. lucida* mostró una tendencia en reducir los valores promedio comparados con el grupo control. Estudios en ratas Wistar expuestas a deshidratación por calor 1 hora diaria con inmediata rehidratación posterior, han confirmado daño renal después de 4 semanas

(García-Arroyo et al., 2017, 2019; Sánchez-Lozada et al., 2018). En este estudio brinda un aporte complementario a los parámetros metabólicos observados en deshidratación por calor.

Los datos presentados en este estudio corresponden a los reportados en otros estudios de nefropatía diabética, donde un extracto etanólico de hoja (500 mg/kg) después de 5 semanas de administración oral en ratas diabéticas redujo la creatinina sérica, la urea y el ácido úrico, el estrés oxidativo (niveles de MDA en el riñón) y aumentando los niveles del sistema antioxidante renal (Abdel-Haleem et al., 2017). La evaluación de los compuestos activos ha sugerido que un compuesto aislado del aceite esencial de las partes aéreas, el β -cariofileno, puede ser el responsable de la actividad antiinflamatoria y analgésica en ratas (Hernandez-Leon et al., 2020). En este sentido, el β -cariofileno ha demostrado una actividad nefroprotectora en la nefrotoxicidad inducida por cisplatino (Horváth et al., 2012). Otro compuesto presente en esta especie que puede contribuir a la actividad nefroprotectora de esta especie es la umbeliferona, donde evidencias recientes sugieren su eficacia en la supresión del daño renal producido por agentes nefrotóxicos (gentamicina y cisplatino) y nefropatía diabética en ratas (Garud & Kulkarni, 2017; Hassanein et al., 2021; Naowaboot et al., 2020).

Por lo tanto, este estudio muestra por primera vez el potencial nefroprotector de *T. lucida*, en 3 modelos animales con diferencias fisiopatológicas, que permiten proponer como un candidato para estudios posteriores. Este estudio contribuye al uso etnofarmacológico de la especie en uso de afecciones urinarias, y propone que se evalúe su impacto en enfermedad renal producida por deshidratación con calor, así mismo como su evaluación histopatológica, comparación de distintas dosis, y posteriores mecanismos moleculares y principios activos responsables de su actividad.

Agradecimientos

La siguiente investigación fue cofinanciada por la dirección general de investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala (DIGI-USAC), mediante el financiamiento de los proyectos B9-2020 y Des3-2021.

Contribución de los autores

Coordinación, elaboración y revisión del Documento: RC
 Diseño de la recolección de datos o del trabajo en campo: RC
 Recolección o contribución de datos o realización del trabajo de campo: CA, AA, DM, DV, CR, SMC
 Limpieza, sistematización, análisis o visualización de datos: RC
 Participación en análisis de datos, estructura y en la escritura del documento: RC

Materiales suplementarios

Este artículo no tiene archivos complementarios.

Referencias

- Abdel-Azeem, A. S., Hegazy, A. M., Zeidan, H. M., Ibrahim, K. S., & El-Sayed, E. M. (2017). Potential Renoprotective Effects of Rosemary and Thyme Against Gentamicin Toxicity in Rats. *Journal of Dietary Supplements*, 14(4), 380-394. <https://doi.org/10.1080/19390211.2016.1253632>
- Abdel-Haleem, S. A., Ibrahim, A. Y., Ismail, R. F., Shaffie, N. M., Hendawy, S. F., & Omer, E. A. (2017). *In-vivo* hypoglycemic and hypolipidemic properties of *Tagetes lucida* alcoholic extract in streptozotocin-induced hyperglycemic Wistar albino rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.aos.2017.11.005>
- Al-Shabanah, O. A., Aleisa, A. M., Al-Yahya, A. A., Al-Rejaie, S. S., Bakheet, S. A., Fatani, A. G., & Sayed-Ahmed, M. M. (2010). Increased urinary losses of carnitine and decreased intramitochondrial coenzyme A in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(1), 69-76. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp457>

- Ankli, A., Sticher, O., & Heinrich, M. (1999). Medical ethnobotany of the Yucatec Maya: Healers' consensus as a quantitative criterion. *Economic Botany*, 53(2), 144-160. <https://doi.org/10.1007/BF02866493>
- Arjinajarn, P., Pongchaidecha, A., Chueakula, N., Jaikumkao, K., Chatsudthipong, V., Mahatheeranont, S., Norkaew, O., Chattipakorn, N., & Lungkaphin, A. (2016). Riceberry bran extract prevents renal dysfunction and impaired renal organic anion transporter 3 (Oat3) function by modulating the PKC/Nrf2 pathway in gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomedicine*, 23(14), 1753-1763. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.10.014>
- Ayala Lemus, M. L. (1999). *Etnobotánica con énfasis en el aspecto agronómico de las plantas medicinales usadas por el grupo étnico k'aqchikel en el municipio de Tecpán Guatemala, Chimaltenango* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Centro de Documentación e Información Agrícola, Facultad de Agronomía. <http://fausac.usac.edu.gt/tesario/tesis/T-01805.pdf>
- Bae, E. H., Kim, I. J., Joo, S. Y., Kim, E. Y., Choi, J. S., Kim, C. S., Ma, S. K., Lee, J., & Kim, S. W. (2014). Renoprotective effects of the direct renin inhibitor aliskiren on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 15(4), 348-361. <https://doi.org/10.1177/1470320312474853>
- Barreno Ortiz, F. M. (2012). *Estudio etnobotánico medicinal en 11 municipios de la Reserva de Usos Múltiples Cuenca del Lago de Atitlán, Sololá* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Centro de Documentación y Biblioteca de Farmacia, Facultad de ciencias Químicas y Farmacia. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/B238.pdf>
- Bream, K. D. W., Breyre, A., Garcia, K., Calgua, E., Chuc, J. M., & Taylor, L. (2018). Diabetes prevalence in rural Indigenous Guatemala: A geographic-randomized cross-sectional analysis of risk. *PLoS ONE*, 13(8), Artículo e0200434. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200434>
- Cáceres, A., Girón, L. M., & Martínez, A. M. (1987). Diuretic activity of plants used for the treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 19(3), 233-245. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(87\)90001-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(87)90001-8)
- Castañeda, R., Cáceres, A., Cruz, S. M., Aceituno, J. A., Marroquín, E. S., Barrios Sosa, A. C., Strangman, W. K., & Williamson, R. T. (2023). Nephroprotective plant species used in traditional Mayan Medicine for renal-associated diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 301, Artículo 115755. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115755>
- Castañeda, R., Cáceres, A., Velásquez, D., Rodríguez, C., Morales, D., & Castillo, A. (2022). Medicinal plants used in traditional Mayan medicine for the treatment of central nervous system disorders: An overview. *Journal of Ethnopharmacology* 283, Artículo 114746. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114746>
- Castañeda, R., Ortiz, E., Aldana, C., Cruz, S. M., & Cáceres, A. (2020). Biomarcadores traslacionales de modelos *in vitro* e *in vivo* de daño renal: Una perspectiva para abordar nefrotoxicidad desde múltiples factores etiológicos. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 7(1), 107-128. <https://doi.org/10.36829/63cts.v7i1.893>
- Cleaves Herrera, C. I. (2001). *Etnobotánica médica participativa en siete comunidades de la zona de influencia del parque nacional laguna Lachuá, Cobán, Alta Verapaz, Guatemala* [Tesis de licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. Centro de Documentación y Biblioteca de Farmacia, Facultad de ciencias Químicas y Farmacia. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/B120.pdf>
- Deshpande, A. D., Harris-Hayes, M., & Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy*, 88(11), 1254-1264. <https://doi.org/10.2522/ptj.20080020>
- El-Kashef, D. H., El-Kenawi, A. E., Suddek, G. M., & Salem, H. A. (2015). Flavocoxid attenuates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 388(12), 1305-1315. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1164-8>

- Estrada-Soto, S., González-Trujano, M. E., Rendón-Vallejo, P., Arias-Durán, L., Ávila-Villarreal, G., & Villalobos-Molina, R. (2021). Antihypertensive and vasorelaxant mode of action of the ethanol-soluble extract from *Tagetes lucida* Cav. aerial parts and its main bioactive metabolites. *Journal of Ethnopharmacology*, 266, Artículo 113399 <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113399>
- García-Arroyo, F. E., Gonzaga, G., Muñoz-Jiménez, I., Osorio-Alonso, H., Iroz, A., Vecchio, M., Tapia, E., Roncal-Jimenez, C. A., Johnson, R. J., & Sánchez-Lozada, L. G. (2019). Antioxidant supplements as a novel mean for blocking recurrent heat stress-induced kidney damage following rehydration with fructose-containing beverages. *Free Radical Biology and Medicine*, 141, 182-191. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.06.016>
- García-Arroyo, F. E., Tapia, E., Blas-Marron, M. G., Gonzaga, G., Silverio, O., Cristóbal, M., Osorio, H., Arellano-Buendía, A. S., Zazueta, C., Aparicio-Trejo, O. E., Reyes-García, J. G., Pedraza-Chaverri, J., Soto, V., Roncal-Jimenez, C., Johnson, R. J., & Sánchez-Lozada, L. G. (2017). Vasopressin mediates the renal damage induced by limited fructose rehydration in recurrently dehydrated rats. *International Journal of Biological Sciences*, 13(8), 961-975. <https://doi.org/10.7150/ijbs.20074>
- Garud, M. S., & Kulkarni, Y. A. (2017). Attenuation of renal damage in type I diabetic rats by umbelliferone – a coumarin derivative. *Pharmacological Reports*, 69(6), 1263-1269. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.06.014>
- Giovannini, P., Howes, M. J. R., & Edwards, S. E. (2016). Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 58-71. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.034>
- Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 34(2-3), 173-187. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90035-C](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90035-C)
- Guadarrama-Cruz, G., Alarcon-Aguilar, F. J., Lezama-Velasco, R., Vazquez-Palacios, G., & Bonilla-Jaime, H. (2008). Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2), 277-281. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.013>
- Guadarrama-Cruz, G., Alarcón-Aguilar Francisco, J., Vega-Avila, E., Vázquez-Palacios, G., & Bonilla-Jaime, H. (2012). Antidepressant-like effect of *Tagetes lucida* Cav. extract in rats: Involvement of the serotonergic system. *American Journal of Chinese Medicine*, 40(4), 753-768. <https://doi.org/10.1142/S0192415X12500565>
- Guo, X., Meng, Q., Liu, Q., Wang, C., Sun, H., Peng, J., Ma, X., Kaku, T., & Liu, K. (2013). JBP485 improves gentamicin-induced acute renal failure by regulating the expression and function of Oat1 and Oat3 in rats. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 271(2), 285-295. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.04.029>
- Hassanein, E. H. M., Ali, F. E. M., Kozman, M. R., & Abd El-Ghafar, O. A. M. (2021). Umbelliferone attenuates gentamicin-induced renal toxicity by suppression of TLR-4/NF- κ B-p65/NLRP-3 and JAK1/STAT-3 signaling pathways. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(9), 11558-11571. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11416-5>
- Hernandez-Leon, A., González-Trujano, M. E., Narváez-González, F., Pérez-Ortega, G., Rivero-Cruz, F., & Aguilar, M. I. (2020). Role of β -caryophyllene in the antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential oil. *Molecules*, 25(3), Artículo 675. <https://doi.org/10.3390/molecules25030675>
- Hitziger, M. (2016). *Mayan phytotherapy in Guatemala: A transdisciplinary study for ethnographic documentation and local empowerment* [Tesis de doctorado, ETH Zürich]. Repository for Publications and Research Data. ETH Zurich Research Collection. <https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-a-010735971>
- Hitziger, M., Heinrich, M., Edwards, P., Pöll, E., Lopez, M., & Krütli, P. (2016). Maya phytomedicine in Guatemala - Can cooperative research change ethnopharmacological paradigms? *Journal of Ethnopharmacology*, 186, 61-72. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.040>
- Horváth, B., Mukhopadhyay, P., Kechrid, M., Patel, V., Tanchian, G., Wink, D. A., Gertsch, J., &

- Pacher, P. (2012). B-Caryophyllene ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in a cannabinoid 2 receptor-dependent manner. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(8), 1325-1333. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.01.014>
- Kufer, J., Heinrich, M., Förther, H., & Pöll, E. (2010). Historical and modern medicinal plant uses - the example of the Ch'orti' Maya and Ladinos in Eastern Guatemala. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(9), 1127-1152. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0008>
- Laux, T. S., Barnoya, J., Cipriano, E., Herrera, E., Lopez, N., Polo, V. S., & Rothstein, M. (2016). Prevalence of chronic kidney disease of non-Traditional causes in patients on hemodialysis in southwest Guatemala. *Revista Panamericana de Salud Publica/Pan American Journal of Public Health*, 39(4), 186-193.
- Luyckx, V. A., Tonelli, M., & Stanifer, J. W. (2018). The global burden of kidney disease and the sustainable development goals. *Bulletin of the World Health Organization*, 96(6), 414-422C. <https://doi.org/10.2471/BLT.17.206441>
- Mahmoud, Y. I. (2017). Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in albino mice via the activation of Nrf2 and the inhibition of NF-κB (Kiwi & gentamicin-induced nephrotoxicity). *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 94, 206-218. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.07.079>
- Mazzon, E., Britti, D., De Sarro, A., Caputi, A. P., & Cuzzocrea, S. (2001). Effect of N-acetylcysteine on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *European Journal of Pharmacology*, 424(1), 75-83. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(01\)01130-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(01)01130-X)
- Milagres, T., García-Arroyo, F. E., Lanaspá, M. A., García, G., Ishimoto, T., Andres-Hernando, A., Kuwabara, M., Jensen, T., Sato, Y., Glaser, J., Sánchez-Lozada, L. G., Johnson, R. J., & Roncal-Jimenez, C. (2018). Rehydration with fructose worsens dehydration-induced renal damage. *BMC Nephrology*, 19, Artículo 180. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0963-9>
- Naowaboot, J., Somparn, N., & Saenthaweesuk, S. (2020). Renoprotective effect of umbelliferone in high-fat diet/streptozotocin-induced type 2 diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 10(1), 11-17. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.273089>
- Nayeli, M. B., Maribel, H. R., Enrique, J. F., Rafael, B. P., Margarita, A. F., Macrina, F. M., Ivan, M. D., & Manasés, G. C. (2020). Anti-inflammatory activity of coumarins isolated from *Tagetes lucida* Cav. *Natural Product Research*, 34(22), 3244-3248. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1553172>
- Nugent, R. A., Fathima, S. F., Feigl, A. B., & Chyung, D. (2011). The burden of chronic kidney disease on developing nations: A 21st century challenge in global health. *Nephron - Clinical Practice*, 118(3), c269-c277. <https://doi.org/10.1159/000321382>
- Pardo Villegas, P. D., Burgos Barrios, C. L., & Cruz de León, H. W. (2011). *Plantas medicinales y comestibles de la reserva natural de usos múltiples Monterrico-RNUMM, Taxisco, Santa Rosa* (Inf-2011-24). Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación, Programa Universitario de Investigación en Recursos Naturales y Ambiente, Centro de Estudios Conservacionistas y Centro de Datos para la Conservación
- Pérez-Ortega, G., González-Trujano, M. E., Ángeles-López, G. E., Brindis, F., Vibrans, H., & Reyes-Chilpa, R. (2016). *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 181, 221-228. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.040>
- Pickersgill, B. (2016). *Domestication of plants in Mesoamerica: An archaeological review with some ethnobotanical interpretations*. En R. Lira, A. Casas & J. Blancas (Eds.), *Ethnobotany of Mexico, Interactions of people and plants in mesoamerica* (pp. 207-231). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6669-7_9
- Romero, F., Pérez, M., Chávez, M., Parra, G., & Durante, P. (2009). Effect of uric acid on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats - Role of matrix metalloproteinases 2 and 9. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 105(6), 416-424. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2009.00466.x>

- Roncal Jimenez, C. A., Ishimoto, T., Lakkaspa, M. A., Rivard, C. J., Nakagawa, T., Ejaz, A. A., Cicerchi, C., Inaba, S., Le, M., Miyazaki, M., Glaser, J., Correa-Rotter, R., González, M. A., Aragón, A., Wesseling, C., Sánchez-Lozada, L. G., & Johnson, R. J. (2014). Fructokinase activity mediates dehydration-induced renal injury. *Kidney International*, 86(2), 294-302. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.492>
- Roncal-Jimenez, C. A., Milagres, T., Andres-Hernando, A., Kuwabara, M., Jensen, T., Song, Z., Bjornstad, P., Garcia, G. E., Sato, Y., Sanchez-Lozada, L. G., Lanaspá, M. A., & Johnson, R. J. (2017). Effects of exogenous desmopressin on a model of heat stress nephropathy in mice. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 312(3), F418-F426. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00495.2016>
- Sánchez-Lozada, L.-G., García-Arroyo, F. E., Gonzaga, G., Silverio, O., Blas-Marrón, M. G., Muñoz-Jimenez, I., Tapia, E., Osorio-Alonso, H., Madero, M., Roncal-Jiménez, C. A., Weiss, I., Glaser, J., & Johnson, R. J. (2018). Kidney injury from recurrent heat stress and rhabdomyolysis: Protective role of allopurinol and sodium bicarbonate. *American Journal of Nephrology*, 48(5), 339-348. <https://doi.org/10.1159/000494663>
- Sandoval, M. A. (1999). *Etnobotánica de las plantas medicinales usadas por la cultura K'aqchikel en el departamento de Guatemala*. Informe final del proyecto No. 32/97. Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología -Senacyt.
- Sun, H., Yang, H., Ruan, H., Li, W., He, X., Wang, L., Liu, F., & Zhang, J. (2018). The protective effect of sika deer antler protein on gentamicin-induced nephrotoxicity in Vitro and in Vivo. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 50(3), 841-850. <https://doi.org/10.1159/000494471>
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), 537-546.
- Tesch, G. H., & Allen, T. J. (2007). Rodent models of streptozotocin-induced diabetic nephropathy (methods in renal research). *Nephrology*, 12(3), 261-266. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2007.00796.x>
- Tún López, F. (2017). *Beneficios del uso de la medicina tradicional en la salud de las personas de la aldea La Unión cuarto pueblo, Ixcán, Quiché, Guatemala, C.A.* [Tesis de maestría inédita, Universidad de San Carlos de Guatemala].
- Vargas, J. M. (2019). *Etnofarmacología de las principales plantas medicinales utilizadas por los Q'eqchi'es en tres comunidades de Alta Verapaz, Guatemala* [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/TD002.pdf>
- Vargas, J. M., & Andrade-Cetto, A. (2018). Ethnopharmacological field study of three Q'eqchi communities in Guatemala. *Frontiers in Pharmacology*, 9, Article 1246. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01246>
- Ventura-Martinez, R., Angeles-Lopez, G. E., Gonzalez-Trujano, M. E., Carrasco, O. F., & Deciga-Campos, M. (2020). Study of antispasmodic and antidiarrheal activities of *Tagetes lucida* (mexican tarragon) in experimental models and its mechanism of action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, Article ID 7140642. <https://doi.org/10.1155/2020/7140642>