

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



“EFECTO NEFROPROTECTOR DE EXTRACTOS DE *FLOURENSIA CERNUA* L Y
OPUNTIA JOCONOSTLE L.”

POR

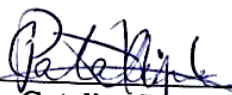
QFB. CARLOS HUMBERTO ANDRADE ORDAZ

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE Maestría en
Manejo y Aprovechamiento Integral de Recursos Bióticos

2023

“Efecto nefroprotector de extractos de *Flourensia cernua* L. y *Opuntia joconostle* L.”

Comité de tesis



Dra. Catalina Leos Rivas
Director de Tesis



Dr. Eduardo Sánchez García
Secretario



Dra. Sandra Loruhama Castillo Hernández
Vocal



Dra. Catalina Rivas Morales
Vocal



Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez
Vocal




SUBDIRECCIÓN
DE POSGRADO

Dra. Katiushka Arévalo Niño
Subdirectora de Posgrado

“Efecto nefroprotector de extractos de *Flourensia cernua* L. y *Opuntia joconostle* L.”

Dirección de tesis



Dra. Catalina Leos Rivas
Director Interno



Dra. Paula Cordero Pérez
Director Externo

AVISO DERECHOS DE AUTOR

DERECHOS RESERVADOS©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Agradecimientos Institucionales

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada número 809161

A la Universidad Autónoma de Nuevo León por el proyecto A PAICYT No 280-CN-2022 por el apoyo económico que contribuyo en la realización de este trabajo

Agradecimientos

A la Dra. Catalina Leos Rivas y la Dra. Catalina Rivas Morales, que siempre me brindaron infinita paciencia y apoyo a lo largo de toda mi maestría, así como su dirección en este trabajo.

A la Dra. Paula Cordero Pérez, quien me brindó todo su apoyo como directora externa, así como darme un lugar en su laboratorio.

Al Dr. Eduardo Sánchez García, la Dra. Sandra Loruhamá Castillo Hernández y el Dr. Sergio Arturo Galindo Rodríguez, por ser parte de mi comité de tesis, y brindarme apoyo y sugerencias durante mi posgrado.

A la Dra. Diana Raquel Rodríguez Rodríguez, la Dra. Diana Patricia Moreno Peña, la Dra. Liliana Torres, por apoyarme en la Unidad de Hígado y guiarme en muchos de los experimentos que lleve a cabo.

A la Dra. Edelia Claudina Villarreal Ibarra, quien me apoyó en mis experimentos de actividad antioxidante, y siempre estuvo disponible cuando me surgía alguna duda. Al Dr. David Gilberto García, por hacerme leer cuando más lo necesitaba. Al Maestro Sergio, que siempre estuvo al pendiente del laboratorio y resolvía las dudas que me surgían.

A Angela, mi compañera de maestría, que siempre me apoyó tanto en el laboratorio como fuera de él. A Santiago, que me brindó su amistad y apoyo. A Jorge, Fer, Daniel, Dani, Josué, David, Sebastián, André, y a todos los chicos del laboratorio de Química Analítica, que me apoyaron y siempre estuvieron para mí cuando era necesario, gracias por hacer del laboratorio un hogar.

A Gustavo, quien me enseñó a realizar I-R y me apoyó con gran parte de mi tesis. A Oscar y Ramiro, que fueron mis compañeros de experimentos y me sacaron de más de un apuro. A Gerardo, Valeria, Alondra, Jackie, Donny, y el resto de los chicos de la unidad de Hígado, por apoyarme siempre en mis experimentos y ayudarme en mis días en la facultad de Medicina.

A mi familia, que siempre estuvo al pendiente de mí durante todo este proceso, y que siempre me preguntaban que cuánto me faltaba para terminar.

A Alexia, que siempre me apoyó durante todo este viaje, que no me dejó sentirme solo, y que me ayudaba a ver las cosas de la manera correcta.

A mis amigos de saltillo. Al Arquitecto Frausto, el Ing. Jorge, el Maestro Erik, el Lic. Santiago, Angel, Aarón, Ricardo y Dylan. Por las llamadas por las noches que me hacían sentir en casa.

Dedicatorias

A mi papá, quien de seguro será el primero en leer esto, porque siempre está conmigo.

A mi mamá, quien siempre me ha apoyado, y sé que no lo dejará de hacer.

A Alexia, quien me acompaña y me permite acompañarla

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
1.- INTRODUCCIÓN	1
2.- ANTECEDENTES	4
2.1 Daño renal	4
2.2 Daño por Isquemia-reperfusión	5
2.3 Infecciones bacterianas en trasplantes	9
2.4 Bacterias farmacorresistentes	9
2.5 Bacterias en estudio	10
2.5.1 <i>Enterococcus faecalis</i>	10
2.5.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
2.5.3 <i>Acinetobacter baumannii</i>	12
2.5.4 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	12
2.5.5 <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.5.6 <i>Escherichia coli</i>	14
2.6 Especies vegetales	14
2.6.1 <i>Flourensia cernua</i>	15
2.6.2 <i>Opuntia joconostle</i>	16
3.-JUSTIFICACIÓN	19
4.-HIPÓTESIS	20
5.- OBJETIVO GENERAL	21
5.1 Objetivos específicos	21
6.- MATERIALES Y MÉTODOS	22
6.1 Extracción de los componentes vegetales	22
6.2 Perfil fitoquímico	22
6.3 Evaluación de efecto bactericida	24
6.4 Actividad antioxidante y fenoles totales	26

6.5 Actividad nefroprotectora	28
6.6 Actividad tóxica	33
6.7 Análisis estadístico	34
7.- RESULTADOS	35
7.1 Preparación de extractos - Rendimiento	35
7.2 Perfil fitoquímico	35
7.3 Actividad bactericida	36
7.4 Actividad antioxidante	37
7.5 Actividad citotóxica	38
7.6 Actividad nefroprotectora	39
7.7 Expresión de genes asociados al daño por IR de los animales de experimentación	41
8.- DISCUSIÓN	42
9.- CONCLUSIONES	47
10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Contenido	Página
1	Grupos experimentales de actividad nefroprotectora.	29
2	Elaboración de mezcla de RT-qPCR, considerando un volumen de 10 µL.	32
3	Primers utilizados en la RT-qPCR	33
4	Rendimiento de extracción de las plantas en estudio	35
5	Perfil fitoquímico de los extractos de las plantas en estudio	35
6	Inhibición del extracto de <i>F. cernua</i> sobre bacterias multifarmacorresistentes	36
7	Halos de inhibición de <i>F. cernua</i> y <i>O. joconostle</i> contra cepas estudiadas	36
8	Actividad hemolítica de <i>F. cernua</i>	38
9	Actividad hemolítica de <i>O. joconostle</i>	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Contenido	Pagina
1	<i>Flourensia cernua</i>	15
2	<i>Opuntia joconostle</i>	16
3	Curva de equivalencia de ácido gálico respecto a <i>F. cernua</i>	37
4	Curva de equivalencia de TROLOX respecto a <i>F. cernua</i>	37
5	Curva equivalencia Fe ²⁺ respecto a <i>F. cernua</i> y <i>O. joconostle</i>	38
6	Niveles de BUN y creatinina en el suero de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos	39
7	Niveles de MDA, GSH y SOD en el tejido renal de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos	40
8	Expresión de glutation peroxidasa (GPX) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos	41
9	Expresión del factor de transcripción nuclear kappa beta (NFk β , en ratas, conocido como <i>Rela</i>) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos	41
10	Expresión de mieloperoxidasa (MPO) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos	41

Lista de Abreviaturas

Abreviatura	Definición
OMS	Organización Mundial de la Salud
ESBL	β -lactamasa de Espectro Extendido
CKD	Daño Renal Crónico
GFR	Ratio de Filtración Glomerular
AKI	Daño Renal Agudo
FRI	Función Retardada de Injerto
IL-6	Interleucina-6
IL-1 β	Interleucina 1 Beta
TNF- α	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
I-R	Isquemia Reperfusión
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
AMG	Aminoglucósidos
GM	Gentamicina
MHA	Agar Müller-Hinton
TEAC	Actividad Equivalente de Trolox
ORAC Oxígeno	Capacidad de Absorción de Radicales de
AUC	Área de Fluorescencia bajo la curva
E+I-R	Extracto + Isquemia-Reperfusión
BUN	Nitrógeno de la Urea
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
LDH	Lactato Deshidrogenasa
FA	Fosfatasa Alcalina
MDA	Malondialdehído
TCA	Ácido tricloroacético
SOD	Superóxido dismutasa
PBS	Buffer Fosfato Salina

RESUMEN

Uno de los problemas actuales que aqueja a la humanidad es la demanda de trasplantes de órganos, dentro de los cuales se encuentra el de riñón, el cual presenta la mayor cantidad de receptores en espera en México. Los principales detonantes de esto son la Diabetes mellitus tipo II y las complicaciones en insuficiencia renal. En el proceso de trasplante se puede generar un daño renal agudo, producido comúnmente por el proceso isquemia-reperfusión, en donde se corta el flujo sanguíneo durante el trasplante y después se reanuda. Una de las alternativas para tratar este posible daño es la administración de medicamentos con efecto nefroprotector, los cuales ayudan a que el riñón esté preparado para combatir el daño ocasionado, sin embargo, pueden presentar la desventaja de producir efectos secundarios indeseados. Se ha reportado que los agentes antioxidantes contribuyen en el efecto nefroprotector, al neutralizar los radicales libres de oxígeno y mitigar el estrés oxidativo que se genera durante el proceso de isquemia-reperfusión. Por otro lado, una de las complicaciones frecuentes en el proceso de trasplante de órganos son las infecciones bacterianas, las cuales suelen agravarse por la resistencia generada por estos microorganismos a los fármacos utilizados comúnmente para combatirlos. Así, se ha impulsado la búsqueda de nuevas alternativas para su control con la finalidad de prevenir las infecciones bacterianas acaecidas en un proceso de trasplante renal. Los productos naturales de origen vegetal son de interés para la humanidad gracias a su capacidad de producir metabolitos secundarios con diversas actividades biológicas. En esta investigación se evaluaron los extractos metanólicos de dos especies vegetales de México: *Flourensia cernua* y *Opuntia joconostle*, incluyendo su actividad antioxidante, bactericida y efecto nefroprotector.

ABSTRACT

One of the current problems that afflict humanity is the demand for organ transplants, among which is the kidney, which has the largest number of recipients waiting in Mexico. The main triggers for this are type II diabetes mellitus and complications in renal failure. In the transplant process, acute kidney damage can be generated, commonly produced by the ischemia-reperfusion process, where blood flow is cut off during the transplant and then resumes. One of the alternatives to treat this possible damage is the administration of drugs with a nephroprotective effect, which help the kidney to be prepared to combat the damage caused, with the disadvantage of producing unwanted side effects. Evidence has been reported that antioxidant agents contribute to the nephroprotective effect, by neutralizing oxygen free radicals and mitigating the oxidative stress that is generated during the ischemia-reperfusion process. One of the frequent complications in the organ transplant process is bacterial infections, coupled with the resistance generated by these microorganisms to the drugs commonly used to combat them, promotes the search for new alternatives for their control, in order to in turn help prevent bacterial infections. bacterial infections that occur in a kidney transplant process.

Natural products of plant origin are of interest to humanity thanks to their ability to produce secondary metabolites with various biological activities.

In this research, the methanolic extracts of two plant species from Mexico will be evaluated: *Flourensia cernua* and *Opuntia joconostle*, which produce secondary metabolites with biological activity, such as antioxidant, bactericidal and possibly nephroprotective effect.

1.- INTRODUCCIÓN

La principal causa de enfermedad renal crónica en México, con más de 6 millones de adultos, es la Diabetes mellitus tipo II. En la enfermedad renal crónica, el trasplante de riñón es la única alternativa de vida, sin embargo, la baja tasa de donación de órganos en nuestro país provoca que esta sea escasa, por tal motivo es importante asegurar su viabilidad. Existen tratamientos para prevenir el daño por Isquemia-reperusión (I-R), la cual se presenta durante el proceso de trasplantes de órganos y es una de las principales causas del rechazo del implante. Para controlar este daño, se administran fármacos y tratamientos, como la vitamina C, los cuales presentan un efecto nefroprotector y ayudan a que el riñón esté preparado para prevenir o mitigar el daño ocasionado; no obstante, pueden presentar la desventaja de producir efectos secundarios indeseados, como insuficiencia renal, infarto agudo de miocardio, derrames cerebrales, así como reacciones anafilácticas. Una alternativa al tratamiento contra la lesión por I-R son los metabolitos secundarios producidos por las plantas que contribuyen en las diversas actividades biológicas de interés, entre estas, la actividad antioxidante ha demostrado eficacia al prevenir o mitigar el daño oxidativo por I-R.

El hombre ha experimentado con plantas desde hace miles de años, encontrando en diversas partes de estas curas o tratamientos para enfermedades. En un inicio se utilizaron plantas silvestres, desembocando posteriormente en el nacimiento de la medicina tradicional herbolaria; así, se comenzó a relacionar la taxonomía de la plantas con las actividades biológicas que presentaban, resultando en lo que se conoce como quimiotaxonomía.

Gracias a este conocimiento empírico, surgió el desarrollo de los primeros fármacos sintéticos, los cuales se formulaban tomando como base componentes encontrados en especies vegetales.

De los múltiples usos que se pueden dar a las especies vegetales, uno de los más importantes es el efecto contra microorganismos, lo que ha llevado a desarrollar fármacos capaces de controlarlos.

Las bacterias patógenas presentan una problemática para la humanidad, por lo cual se ha mantenido un estado de constante investigación para encontrar alternativas para

combatirlas, ya que las bacterias presentan la capacidad de adquirir resistencia a los fármacos. La alta incidencia de contaminación por bacterias patógenas en la industria de alimentos, así como la demanda en aumento de alimentos con poco o nada de aditivos químicos sintéticos ha conducido al desarrollo de alternativas de origen natural, por lo que, la investigación de los metabolitos secundarios y sus actividades biológicas ha tomado importancia.

La resistencia de bacterias patógenas para la salud del ser humano también ha estimulado la búsqueda de alternativas en los productos vegetales. Con el sustento de los siglos de tradición médica con el uso de estas especies, se busca en estos productos una alternativa importante, sin embargo, se estima que, de las aproximadas 250,000 especies de plantas vasculares que habitan el planeta, solo a 15% de estas se les ha realizado un estudio fitoquímico, y a un 6% se les ha realizado un análisis de sus diversas actividades biológicas, por lo que, aunque muchas especies hayan sido utilizadas a lo largo de la historia para el tratamiento de enfermedades y malestares, falta un estudio científico que permita conocer cuáles son los compuestos activos que les dan las propiedades de interés para el humano y la mejor forma de utilizarlos.

Flourensia cernua es una especie endémica del noreste de México, es conocida coloquialmente por los nombres de “hojasé”, “Hojasén” y “Hoja ancha”. A nivel herbolario, esta especie ha sido utilizada en infusiones de la hoja de la planta como un alivio para diversos malestares gastrointestinales como la diarrea, indigestión, malestar estomacal o disentería.

Opuntia joconostle es una especie del norte y centro de México. Perteneció al género *Opuntia*, que presenta diversas especies de cactus, de los cuales muchos producen un fruto ácido conocido como xoconostle, el cual es utilizado en la cocina tradicional mexicana para la elaboración de dulces, jaleas y bebidas. El xoconostle contiene una cantidad importante de azúcares absorbibles, fibra dietética, polifenoles, carotenoides, betacianinas y ácido ascórbico, los cuales son relacionados a algunos efectos benéficos para la salud como actividad hipoglucémica, acción hipolipidémica y propiedades antioxidantes.

En el presente trabajo se evaluó el efecto bactericida de extractos metanólicos de estas especies contra bacterias fármacoresistentes de interés, su actividad antioxidante y su efecto nefroprotector sobre un modelo murino con daño por I-R.

2.- ANTECEDENTES

En México las tres principales causas de muerte a nivel nacional son: Diabetes mellitus (151 214, 13.9%), COVID-19 (201 163, 18.5%) y Enfermedades del corazón (218 885, 20.2%) (Inegi, 2021).

La enfermedad renal crónica (ERC), con alta mortalidad y discapacidad, genera altos costos en los sistemas de salud. El incremento en la ERC se ha derivado de la alta incidencia de enfermedades como la hipertensión y diabetes, así como, por el envejecimiento poblacional (Torres-Toledano M, Granados-García V, Lopez-Ocañac L, 2017)

La principal causa de ERC en México es la diabetes mellitus tipo II con más de 6 millones de adultos. Una alternativa de vida es el trasplante renal, sin embargo, la donación de órganos es escasa, por tal motivo es importante asegurar su viabilidad, con tratamientos para prevenir el daño por I-R que se presenta durante el proceso de trasplantes de órganos, la cual es una de las causas del rechazo del implante (Dorweiler B, 2007, Inegi, 2021).

2.1 Daño renal

Se define como ERC (enfermedad renal crónica) a un deterioro en la tasa de filtración glomerular (GFR) $< 60 \text{ mL/min/1.72m}^2$, asociado con anomalías estructurales y funcionales en un periodo mayor a tres meses. La ERC se desarrolla en diversas etapas, hasta llegar a una última considerada como la etapa terminal, en la que el paciente usualmente requiere un reemplazo en la función renal, de lo contrario, la ERC puede llegar a provocar la muerte del paciente (Coca SG et al., 2012). En México, se estima que hay 5 pacientes en espera por cada riñón disponible para trasplante (CENATRA, 2018), y solamente en el cuarto trimestre de 2022 se reportó que, en México, la lista de receptores para trasplante de este órgano es la más grande, con 15,454 pacientes en espera, eclipsando el trasplante de córnea, el cual es el segundo órgano con más receptores en espera, con 4,267 (CENATRA, 2023).

El daño renal agudo (AKI por sus siglas en inglés: *Acute Kidney Injury*) se desarrolla principalmente debido a daños tóxicos e isquémicos y se ha definido como daño agudo en las células tubulares renales y disfunción de riñón (Gheissari, A 2013). La isquemia limita

el oxígeno celular y la obtención de nutrientes, resultando en una necrosis tubular aguda e inflamación que puede repercutir en un daño renal y provocar cambios funcionales en el riñón (Batista PB, Passos RD., 2012).

La importancia socioeconómica del daño renal agudo ha ido en aumento, sobre todo, porque está relacionado con el incremento en el riesgo de enfermedades del hígado crónicas o en etapa terminal, así como con complicación en tejidos no renales, como el corazón y los pulmones (Coca, SG *et al.*, 2012). El daño renal agudo ocurre en aproximadamente 10-15% de pacientes hospitalizados (Al-Jaghbeer *et al.*, 2018), y se ha encontrado que afecta a más de 50% de pacientes en cuidados intensivos (Hoste, E.A *et al.*, 2015).

2.2 Daño por Isquemia-reperfusión

Durante un trasplante puede ocurrir una condición denominada función retardada del injerto (FRI), la cual se caracteriza por una oliguria, o por la necesidad de apoyo de diálisis durante los primeros siete días de haberse realizado el trasplante. Aunque existen diferentes factores que determinan el éxito de un trasplante o el desarrollo de una FRI, uno de los más relevantes es el periodo de isquemia que se lleva a cabo durante el trasplante (Koning OHJ, Ploeg RJ *et al.*, 1997).

En el proceso de isquemia reperfusión, se produce una isquemia, en donde se restringe el suministro de sangre a un órgano por un periodo prolongado, para después ser reperfundido con sangre oxigenada, esto conlleva lesiones, genera daño oxidativo e inflamatorio, lo que puede ocasionar el daño FRI. Las células epiteliales endoteliales y tubulares son muy vulnerables a la isquemia y son gravemente dañadas al restaurar la circulación (Ponticelli C, 2014).

El daño por I-R es una de las principales causas de daño renal agudo en diversas situaciones clínicas como lo pueden ser *shocks*, bajo costo cardiaco, y trasplante de órganos. El daño por I-R es inevitable en un trasplante de riñón. La diálisis es una forma de soporte vital utilizada para pacientes con daño por I-R, y cabe remarcar que no se ha desarrollado otra técnica o medicación para mitigar el daño o promover la recuperación y supervivencia de pacientes con AKI (Wu L *et al* 2022).

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y las citocinas proinflamatorias como la interleucina-6 (IL-6) juegan un papel importante en la disfunción renal en el daño por I-R (Yilmaz, M. I. *et al.*, 2009). El proceso de I-R produce especies reactivas de oxígeno (ROS), que generan daño principalmente por la peroxidación de las membranas lipídicas, desnaturalización de enzimas y disfunción de orgánelos (Raffan F *et al.* 2000)

La producción de ROS es debido a la modificación de la ruta metabólica de la degradación de ATP. Brevemente, la adenosina a hipoxantina, la cual es oxidada a Xantina mediante xantina oxidasa. En condiciones normales esta enzima existe como reductor de NAD⁺ y es conocida como xantina deshidrogenasa. La hipoxia cambia la forma de xantina deshidrogenasa a Xantina oxidasa. La forma O utiliza oxígeno en lugar de NAD⁺ como sustrato para la conversión de hipoxantina a xantina, pero al no tener oxígeno debido a la isquemia, la xantina oxidasa no puede llevar a cabo su función, por lo que la hipoxantina se acumula en el interior de la célula. Al ocurrir la reperfusión, una gran cantidad de oxígeno entra en el microambiente celular, lo cual produce una reactivación rápida de la xantina oxidasa, lo que produce una gran cantidad de radicales peróxido de hidrógeno, ácido hipocloroso y superóxido, que pueden causar deterioro tisular (Gecit I *et al.*, 2012; Raffan Sanabria F, Carlos J, Gómez K, 2000).

En la actualidad, gran parte de la investigación enfocada en los daños al riñón se centra hacia la degradación de regeneración de células tubulares renales durante un estado de daño agudo en dichas células, y, con un creciente interés en la prevención, protección y la aceleración de la regeneración de las células tubulares renales.

La toxicidad en los riñones involucra una producción y aceleración en la formación de radicales libres en esa zona, la utilización de mecanismos de defensa antioxidantes y necrosis en las células tubulares renales (Tamadon MR *et al.*, 2013; Pickering JW *et al.*, 2014), lo cual lleva a una ratio de filtración glomerular (GFR) reducido, y a una disfunción del riñón.

La falla renal aguda es un síndrome que induce una caída rápida de la función renal. Entre algunas de las causas de daño renal agudo se encuentra la aplicación de medicamentos, como lo pueden ser los aminoglucósidos (AMG), los cuales se utilizan en gran medida como tratamiento a infecciones de bacterias Gram negativas. Entre algunos de estos

medicamentos, uno de los más usados, y de los que se ha demostrado efecto nefrotóxico es la Gentamicina (GM) (MP Mingleot-Lecrecq 1999). Medicamentos como la GM pueden presentar algunos mecanismos de nefrotoxicidad, por ejemplo, muerte de las células tubulares, amplificación de la generación de aniones superóxido, radicales hidroxilo, especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) y peróxido de hidrógeno en zonas cercanas a las células tubulares renales, lo que conlleva a un daño en los riñones (Baradaran A. *et al.*, 2015).

Las ROS llevan a cabo diversas funciones fisiológicas, y una acumulación no regulada de ROS puede causar daño biomolecular oxidativo, y perturbaciones en las membranas, las macromoléculas y en la funcionalidad de los organelos. La detoxificación o descomposición de procesos facilitada por antioxidantes endógenos pueden contrarrestar la producción de oxidantes, sin embargo, una condición como el AKI promueve la producción de ROS, sobrepasando la viabilidad de los antioxidantes endógenos y ocasionando la disfunción vascular, inflamación y citotoxicidad en células tubulares renales (Ratliff, B *et al.*, 2016).

El mecanismo exacto de cómo es que los ROS son generados en el daño renal agudo no está del todo definido, la disminución de generación de ROS y daño oxidativo puede ser una potencial solución terapéutica. Los antioxidantes tienen la capacidad de intervenir de manera temprana en el proceso de patogénesis del daño en el riñón al eliminar directamente los ROS o la fuente oxidativa (Chatterjee PK 2007; Koyner, J.L 2008).

Algunos estudios con animales han demostrado un aumento en el daño oxidativo y una disminución del tejido antioxidante después de una isquemia renal y/o un episodio de nefrotoxicidad (Paller, M.S 1994). Además, en pacientes con complicación renal o sepsis se ha encontrado un incremento de biomarcadores de proteína y oxidación lipídica que se correlacionan con marcadores de mediadores pro-inflamatorios y pro-oxidativos, así como de citoquinas (Himmelfarb J *et al.*, 2004).

Existen diversos ROS fisiológicos y patológicos, como lo pueden ser el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH\cdot$), u otros oxidantes como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el ácido hipocloroso ($HOCl$), los cuales pueden ser relevantes en el AKI (Ratliff, B.B 2016; Araujo, M 2006).

Estudios preclínicos arrojan que los antioxidantes pueden ser de utilidad para aliviar daño renal y mejorar la función del riñón a través de la reducción del daño oxidativo y/o inflamación. Algunos antioxidantes como la vitamina C han mostrado ser eficaces para el tratamiento de AKI en patologías con disfunción en el endotelio, sin embargo, no se ha logrado determinar si esto es debido a su rol fisiológico como un cofactor enzimático, o debido a su efecto antioxidante, o de ambas (M, Joanne *et al* 2017).

En una investigación se analizó el efecto nefroprotector de *Myrciaria dubia* (camu camu) en ratas inducidas a nefrotoxicidad provocada por gentamicina, y se demostró que esta especie logró una disminución en la creatinina sérica y una mejor conservación de las estructuras de los riñones. Esta especie contiene carotenoides, vitamina C y compuestos fenólicos como las antocianinas, flavonoides y taninos, los cuales exhiben actividad antioxidante (Becerra B, *et al*, 2019).

Otros estudios han logrado determinar que el estrés oxidativo puede provocar daño renal, y que la vitamina C y flavonoides, al presentar un efecto antioxidante, reducen la peroxidación lipídica, adjudicándole así un efecto nefroprotector (Azevedo JCS *et al.*, 2015; Baradaran A *et al.*, 2015; Neves LC *et al.*, 2015). De igual manera, Wei *et al* (2018) destacaron el papel de las antocianinas en la protección renal al asociarlas a un efecto antiapoptótico, antiinflamatorio y antioxidante.

Existen diversas metodologías y tratamientos para prevenir o mitigar el daño por I-R en trasplantes, uno de los más utilizados es el preacondicionamiento isquémico, en donde se expone a hipoxia previamente a un proceso isquémico, llevando a una protección durante la fase de reperfusión. La simvastatina ha sido utilizada para el proceso de I-R, pero no ha demostrado tener efecto en el daño del tejido. La aprotinina es utilizada de manera exitosa en procesos de I-R, sin embargo, se han reportado, hay reportes de efectos secundarios serios, como insuficiencia renal, infarto agudo al miocardio, derrame cerebral y reacciones anafilácticas. Por otro lado, se ha reportado que la adenosina ha mostrado protección temprana contra daño I-R. (Becker LB, 2004; Cowled PA, 2007; Westaby S, 1993; Beierlein W, 2005; Mangano DT, 2006; Dorweiler B, 2006).

2.3 Infecciones bacterianas en trasplantes

Actualmente, la frecuencia de infecciones bacterianas en pacientes receptores de trasplante renal (TR) sigue vigente, y estas producen una morbilidad pos agregada. Estas infecciones constituyen más del 70% de las infecciones posoperatorias, siendo la infección urinaria, infección en sitio quirúrgico y neumopatía aguda las más frecuentes (Alangaden GJ *et al*, 2006).

Las enterobacterias se encuentran entre las causantes de infección más frecuentes en este contexto, destacando *E. coli* y *Klebsiella spp.*, *P. aeruginosa* y *Enterococcus spp.* De igual manera, se ha reportado un incremento en las infecciones causadas por cepas de bacterias multirresistentes (Valera B *et al*, 2006; Cervera C *et al*, 2006).

Esta resistencia es un fenómeno global que incrementa la dificultad para encontrar una manera de contrarrestar las cepas que presentan resistencia contra los fármacos y terapias que se utilizan tradicionalmente para su control, y en el contexto de los trasplantes de órganos, su relevancia ha ido en aumento, puesto que se ha estimado que un 14% de pacientes receptores de órgano renal presentan infección por cepas bacterianas multirresistentes en el postransplante, incluyendo bacilos entéricos Gram negativos y no fermentadores, asociados a un peor pronóstico de injerto y de paciente (Linares L *et al* 2007).

2.4 Bacterias farmacorresistentes

Con la introducción de los antibióticos en la década de 1940, se revolucionó el campo de enfermedades infecciosas. Con el incremento en producción de antimicrobianos, vino a su vez, un incremento en la resistencia de bacterias, hongos, parásitos, e incluso virus a diferentes familias antimicrobianas (Cordiés L, *et al.*, 1998). La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha designado a la resistencia microbiana como una de las principales problemáticas que afronta la humanidad en este siglo, ya que, representa una de las más grandes amenazas a la salud humana (Spellberg *et al.*, 2011).

El efecto del antibiótico sobre las bacterias determina su clasificación; si un antibiótico es capaz de inhibir el crecimiento bacteriano se considera bacteriostático, y si produce la muerte o lisis bacteriana se considera bactericida (Blair, J *et al* 2015).

Cuando las bacterias de una especie son resistentes a uno o varios grupos de antibióticos, se considera que posee una resistencia natural o intrínseca, en donde se presenta una transmisión vertical a células hijas. Por otro lado, algunas especies pueden tener una resistencia adquirida, esta puede ser mediante mutaciones en el cromosoma, o a través de un intercambio de genes de resistencia por transferencia horizontal, por lo que es posible para las bacterias el desarrollar una resistencia a antibióticos sin tener que haber estado en contacto directo, esto mediante acción de enzimas inactivantes del antibiótico, la implementación de vías metabólicas alternativas o la modificación del sitio diana, entre otros (Quiñones, D 2017).

2.5 Bacterias en estudio

2.5.1 *Enterococcus faecalis*

Especies del género *Enterococcus* pueden ser encontradas en una amplia variedad de ambientes, como puede ser el tracto gastrointestinal en humanos y otras especies animales; no obstante, *E. faecalis* es la más comúnmente aislada de infecciones orales, como en periodontitis, infecciones en el canal raíz y abscesos periapicales (Rams T *et al.* 1992; Brook I *et al.* 1991).

E. faecalis es un coco Gram positivo que no forma esporas, es fermentativo y anaerobio facultativo. Sus células son ovoides y pueden llegar a medir de 0.5 a 1 μm de diámetro (Schleifer K y Kilpper-Balz R 1984).

La vancomicina es uno de los antibióticos más utilizados para *E. faecalis*, se ha reportado que si un paciente resulta infectado por una cepa resistente, la tasa de mortalidad puede aumentar de un 27% a un 52% (Boyd D, *et al.*, 2006)

Existen 6 clusters de genes en el género *Enterococcus* que se asocian a la resistencia de glicopéptidos: *vanA-vanG*. En más de 100 aislamientos de Enterococos se ha presentado el gen de resistencia *vanA* en el transposón Tn1546 (Williams y Hergenrother, 2008).

2.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa es responsable del 10-15% de infecciones nosocomiales alrededor del mundo (Blanc *et al.*, 1998). Se trata de bacilos Gram negativos del género *Pseudomonas*, las cuales tienen como hábitat común suelos, agua fresca, y ambientes marinos. Se trata de un patógeno oportunista, por lo que, su control está siempre dentro de los intereses del humano. La mayoría de sus cepas sintetizan bacteriocinas (Michel-Briand, Y 2002).

Las infecciones de *P. aeruginosa* suelen presentar complicaciones al momento de ser tratadas debido a la resistencia natural de las especies, así como por su habilidad de adquirir posteriormente más mecanismos de defensa a múltiples grupos de agentes antimicrobiales (Strateva, T 2009). *P. aeruginosa* es considerado un fenómeno de la farmacorresistencia, ya que, presenta prácticamente todas las enzimas y mecanismos mutacionales de resistencia bacteriana. Frecuentemente, estos mecanismos existen de manera simultánea, otorgando una resistencia combinada a muchas cepas (McGowan, 2006; Pechere & Kohler, 1999).

La bacteria *P. aeruginosa* presenta una resistencia intrínseca a una gran gama de agentes antimicrobianos no relacionados con la disminución de la permeabilidad de su membrana externa, la expresión de varias bombas de flujo con amplia especificidad de sustratos, y la presencia natural de AmpC β -lactamasa cromosomal (Mesaros *et al.*, 2007; Livermore, 2001; Nordmann & Guibert, 1998).

La producción de enzimas es el principal mecanismo de resistencia adquirida presente en *P. aeruginosa* para los antibióticos betalactámicos. Peniciloil-serina transferasa (usualmente conocida como β -lactamasas) rompe con el enlace amida del anillo de β -lactano, provocando que el producto obtenido carezca de actividad antibacteriana (Sykes & Matthew, 1976; Strateva T, 2009).

2.5.3 *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii es uno de los patógenos más problemáticos para la humanidad, su significancia clínica ha ido en aumento debido a su capacidad para regular y adquirir resistencia determinante, convirtiéndolo en uno de los organismos más alarmantes en la presente era antibiótica. Se han reportado cepas resistentes a todos los antibióticos conocidos, y junto con esta propiedad, *A. baumannii* sobrevive periodos prolongados de tiempo, lo que facilita su habilidad para dispersarse por medio nosocomial. Este organismo ataca principalmente a pacientes hospitalizados vulnerables. La enfermedad más comunmente causada por este microorganismo es la neumonía adquirida, aunque recientemente, problemáticas e infecciones relacionadas con el sistema nervioso central, piel y tejidos han emergido como problemáticas de esta bacteria (Peleg, A 2008; Glew, R. H 1977).

El género *acinetobacter* puede ser identificado como Gram negativo, catalasa positivo, oxidasa negativo, inmóvil, no fermentador de cocobacilos. Se presenta como bastones cortos y oblicuos (Peleg, A 2008). El mecanismo más prevalente en la resistencia a β -lactámicos en *A. baumannii* es la degradación enzimática por β -lactamasas (Bou, G 2000). También se ha relacionado la resistencia a estos compuestos a algunos mecanismos no enzimáticos, como cambios en las proteínas de la membrana exterior (Bou, G 2000; Costa, S. F 2000), bombas de flujo (Heritier, C 2005) y alteraciones en la expresión de proteínas ligadores de penicilina (Fernandez-Cuenca, F 2003).

2.5.4 *Klebsiella pneumoniae*

La bacteria *K. pneumoniae* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y habita normalmente en el bioma del tracto gastrointestinal de individuos sanos de humanos y animales. Es un patógeno oportunista común que representa hasta un tercio de todas las infecciones de Gram negativas alrededor del mundo. Se involucra en infecciones extra-intestinales, como pueden ser infecciones en el tracto urinario, cistitis, neumonía, infecciones en heridas quirúrgicas, y es también una causante de infecciones serias como

neumonía necrotizante, abscesos en el hígado y endoftalmitis (Podschun & Ullmann 1998; Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A, 2017).

Se han encontrado genes de β -lactamasa desde la década de 1960 en *K. pneumoniae*, a los que se les ha denominado β -lactamasa de espectro extendido (ESBL por sus siglas en inglés, “Extended-spectrum β -lactamase”). El incremento de *K. pneumoniae* productor de ESBL ha llevado a considerar a las infecciones de este microorganismo como una epidemia en diversos países del mundo (Calbo & Garau, 2015).

Los aminoglicósidos fueron utilizados como agentes antibacterianos de la década de 1940 hasta la de 1980, periodo en el cual *K. pneumoniae* desarrolló mecanismos de resistencia contra este grupo, el cual involucraba enzimas de modificación del fármaco con diferentes actividades como podían ser fosforilación, acetilación o adenilación (Krause *et al.*, 2016; Benveniste & Davies 1973). Familias de genes de resistencia mediada por plásmidos *aac*, *ant*, *aad* y *aph* han sido encontradas en *K. pneumoniae* (Navon-Venezia S, Kondratyeva K, Carattoli A, 2017)

2.5.5 *Staphylococcus aureus*

S. aureus es uno de los principales patógenos encontrados en hospitales e infecciones, y puede provocar enfermedades infecciosas, como infecciones en piel y tejidos, endocarditis infectiva, bacteriemia y neumonía fatal (Humphreys, 2012). Presenta una tinción Gram positiva, y propiedad hemolítica.

Con la implementación a gran escala de la penicilina en la década de 1950, cepas de *S. aureus* resistentes a penicilina comenzaron a presentarse. Estas cepas son capaces de sintetizar penicilinas, la cual es capaz de hidrolizar el anillo β -lactámico presente en la penicilina, lo cual lleva a la resistencia de este fármaco (Koshnood *et al.*, 2019). Cuando la permeabilidad de la membrana celular es reducida, la energía metabólica de la bacteria se ve afectada, lo que lleva a resistencia a fármacos (Li *et al.*, 2013). Al ser inducidas a sustratos del ambiente por un periodo de tiempo largo, los genes codificantes de las bombas de flujo son estimuladas, lo cual lleva a una resistencia a los fármacos (Zarate *et al.*, 2019).

2.5.6 *Escherichia coli*

E. coli es una especie bacteriana de peculiar importancia para el ser humano, puesto que representa un agente infeccioso capaz de causar infecciones severas en humanos y animales, por otro lado, también representa una parte significativa de la microbiota autóctona de diversos de sus hospederos. La principal problemática con esta especie recae en la transmisión de cepas resistentes (Poirel L *et al.* 2018)

Un número en constante incremento de genes de resistencia han sido identificados en aislados de *E. coli*, muchos de estos adquiridos a través de transferencia genética horizontal. Existen muchos genes en *E. coli* que proporcionan resistencia a agentes β -lactámicos, y genes que expresan ESBL, carbapenemasas también han sido detectados en la bacteria. También se ha encontrado resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas, las cuales son conocidas por ser bactericidas contra prácticamente cualquier cepa bacteriana, la resistencia a estas familias se debe principalmente a mutaciones en los objetivos de los fármacos, siendo estos principalmente los genes de DNA girasa y topoisomerasa IV, aunque otros mecanismos pueden actuar, como la permeabilidad de la membrana externa y la regulación de bombas de flujo de la bacteria (Poirel, L *et al.*, 2018; Hopkins KI, Davies RH, Therlfall EJ, 2005).

2.6 Especies vegetales

La necesidad de conocer más a fondo el funcionamiento de la actividad biológica que presentaban las plantas dio origen al desarrollo de la fitoquímica, es una rama de la ciencia que busca determinar los principios activos de las especies vegetales. La actividad biológica de las especies vegetales se atribuye a los metabolitos secundarios que estas generan en su ciclo de vida, metabolitos presentes en las especies del reino vegetal y fúngico, mientras que el reino animal no suele producir esta clase de sustancias (Rivas-Morales, C *et al.* 2016)

Los metabolitos primarios son aquellos que son esenciales para el desarrollo de la planta, comparten muchas similitudes químicas y estructurales con los denominados metabolitos secundarios, sin embargo, estos tienen un uso por la especie vegetal más orientado a las

correlaciones ecológicas de la especie y su entorno (Stone & Williams, 1992), los metabolitos secundarios suelen cumplir una función ecológica, como atraer insectos, actúan como pesticidas para defenderse contra amenazas naturales, y pueden ser sintetizados en respuesta a algún daño o estrés que sufra la especie vegetal (Colegate & Molyneux, 2007).

2.6.1 *Flourensia cernua*



Fig. 1 *Flourensia cernua*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Flourensia*

Especie: *cernua*

Flourensia cernua es una especie endémica del noreste de México, con diversos nombres comunes, como hojase u hojaseñ, en donde florece gracias a su ambiente semiárido, se encuentra en los desiertos de Chihuahua y Sonora, los cuales cubren estados de la república como Coahuila, Chihuahua, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas (Valdes 1998; Rodríguez *et al.*, 2006). Ha sido utilizada en la herbolaria mexicana como una infusión para tratar diversos malestares gastrointestinales, como lo pueden ser dolor estomacal o diarrea (Jaso de Rodríguez *et al.*, 2019).

Se tienen reportes de que *F. cernua* posee actividad antioxidante. Salazar *et al.* (2008), en un estudio de seis especies de plantas del noreste de México, reportó que las hojas, raíces, y tallo de *F. cernua* presenta actividad antioxidante, debido al contenido de componentes fenólicos que se presentan a lo largo de las partes de la planta, en donde también se reporta que los tallos y raíces poseen la mayor cantidad de componentes fenólicos de la planta, además de que estos compuestos fenólicos no presentan efecto citotóxico.

F. cernua ha sido estudiada principalmente como un posible agente antimicótico (Álvarez-Pérez *et al.*, 2020; Jasso de Rodríguez *et al.*, 2017), sin embargo, se han realizado algunos estudios de una posible actividad bactericida de esta especie, utilizando en su mayoría extractos etanólicos y acuosos (Salas-Mendez *et al.*, 2019; Molina-Salinas *et al.*; 2006), y se ha encontrado en estos estudios que dichos extractos han presentado un efecto bactericida contra cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* y *Enterobacter*.

2.6.2 *Opuntia joconostle*



Fig. 2 *Opuntia joconostle*

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Género: *Opuntia*

Especie: *joconostle*

El género *Opuntia* abarca una gran cantidad de nopales que presentan en su mayoría, un fruto conocido como “tuna” o “xoconostle”. Es una especie que crece en zonas áridas y semiáridas. Existen alrededor de 300 especies del subgénero *Opuntia*, sin embargo, una baja cantidad de estas, entre 10 y 12, son aquellas que presentan un interés para el humano, ya sea por su producción de fruta, forraje o cochinilla para la obtención de colorante, y a pesar de que es una especie que es cultivada a lo largo del mundo, como Estados Unidos, Argentina, Chile, Perú, Colombia, Israel, Portugal, entre otros, México es el principal productor de este fruto (Duru B, Turker N 2005; Uzun I 2008).

O. joconostle ha sido utilizada como un condimento en la cocina mexicana y para la elaboración de dulces, jaleas y bebidas, los frutos que produce pueden llegar a pesar hasta 60 g, con un diámetro de 4 a 5 cm (Reyes-Agüero *et al*, 2006).

Tanto el fruto como los clodios, también conocidos como “pencas” son fuentes de compuestos bioactivos, desde fibra dietética, pigmentos como las betalainas o carotenoides, minerales como potasio y calcio, vitaminas como la vitamina C, la cual se ha reportado presenta actividad antioxidante (Padayatty S.J. *et al.*, 2003) y polifenoles.

O. joconostle ha demostrado ser una rica fuente de compuestos antioxidantes, como lo pueden ser ácidos fenólicos libres y betacianinas, siendo el pericarpio del fruto la zona en donde se encuentra la mayor cantidad de ácidos fenólicos libres (Osorio-esquivel *et al*, 2015).

También se ha encontrado presencia de ácido ascórbico en la tuna, el cual es un agente antioxidante importante, en un estudio por Chavez-Santoscoy *et al* (2009), se determinó que el ácido ascórbico representa hasta el 68% de la actividad antioxidante del jugo de la tuna en *O. ficus indica*, mientras que en *O. joconostle*, el principal agente antioxidante se trata del ácido hidroxibenzoico (Osorio-esquivel *et al*, 2015)

Se ha reportado que, en ratas con nefrotoxicidad producida por gentamicina, para luego ser tratadas con una dosis de jugo de tuna (40 mL/kg) presentan una baja producción de los niveles de ácido úrico sérico, urea y creatinina, así como una disminución de la excreción de proteínas en orina. Se ha encontrado que la dosificación de ácido ascórbico disminuye el efecto nefrotóxico de la ingesta de gentamicina por medio de la inhibición

de la actividad enzimática de la N-acetil- β -D-glucosaminadasa y por ende la disminución de creatinina sérica (Villanueva J *et al.*, 2017). La quercetinina es un flavonoide encontrado en el jugo de tuna que presenta un fuerte efecto “scavenger” de radicales libres, capaz de revertir el incremento de peroxidación lipídica que puede presentarse al llevarse a cabo una nefrotoxicidad (Jovanovich SV, Simic MG 2000).

La luteolina es otro compuesto fenólico presente en el jugo de tuna que presenta propiedades, tales como antimicrobianas, antiinflamatorias y antioxidantes (López-Lázaro M 2009). Se ha reportado que la Luteolina produce una disminución del daño renal agudo a través de la regulación de la vía apoptótica, aminorando la activación de la caspasa 3, la cual se genera por la producción de ROS (Domitrovica R *et al.*, 2013).

O. ficus indica ha demostrado poseer cierto efecto antibacterial al probarse el efecto de extractos metanólicos, etanólicos y de cloroformo contra aislados bacterianos de *E. coli*, *Staphylococcus pneumonia*, *Salmonella typhi* y *Bacillus subtilis*, en donde se encontró una inhibición considerable contra *S. pneumonia* (Tilahun, Y 2018).

3.-JUSTIFICACIÓN

En México, la creciente incidencia de daño renal provoca una elevada demanda de trasplantes de riñón (17,300 receptores en espera) que, aunado a la baja donación de órganos, obliga a asegurar la viabilidad del trasplante. La isquemia-reperusión se presenta durante el proceso de trasplantes de órganos y es una de las causas del rechazo del implante. Actualmente, se administran fármacos con efecto nefroprotector, pero algunos ocasionan efectos secundarios. Se ha reportado que los agentes antioxidantes contribuyen con el efecto nefroprotector, al neutralizar los radicales libres de oxígeno que se generan durante el proceso de IR. Por otro lado, una de las complicaciones frecuentes en el proceso de trasplante de órganos son las infecciones bacterianas, aunada a la resistencia generada por estos microorganismos a los fármacos utilizados para combatirlos. En esta investigación se evaluaron los extractos metanólicos de dos especies vegetales de México: *Flourensia cernua* y *Opuntia joconostle* que producen metabolitos secundarios con actividades biológicas antioxidante, bactericida y, posible, efecto nefroprotector.

4.-HIPÓTESIS

Los extractos metanólicos de *Flourensia cernua* y *Opuntia joconostle* presentan actividad bactericida, antioxidante y nefroprotectora.

5.- OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad nefroprotectora del extracto metanólico con mayor bioactividad antioxidante y antibacteriana obtenidos a partir de *F. cernua* y *O. Joconostle*.

5.1 Objetivos específicos

- Obtener los extractos metanólicos de *F. cernua* y *O. joconostle* y realizar su perfil fitoquímico.
- Evaluar su actividad bactericida contra bacterias Gram positivas y Gram negativas de los extractos obtenidos por difusión en pocillos.
- Medir el efecto antioxidante por las siguientes pruebas: DPPH, ABTS+ y ORAC en los extractos obtenidos.
- Probar citotoxicidad de los extractos por la técnica de hemólisis.
- Evaluar la actividad nefroprotectora del extracto con mayor actividad antioxidante con un modelo murino por isquemia-reperfusión.

6.- MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Extracción de los componentes vegetales.

Se adquirió el material vegetal de *F. cernua* de la casa comercial Pacalli y se utilizó la parte aérea. La materia vegetal de *O. Joconostle* se obtuvo del rancho la colmena, ubicado en el estado de Hidalgo.

Para *F. cernua*, se realizó una molienda de la parte aérea de la planta. Para *O. joconostle* se tomó su fruto y se obtuvieron las semillas, las cuales se dejaron secar en condiciones controladas. Con el material vegetal se llevó a cabo una extracción por maceración estática con Metanol por 7 d de cada uno de los productos vegetales, posterior a esto, se filtraron y se rotavaporaron para eliminar el solvente de los extractos.

6.2 Perfil fitoquímico

Se realizaron diferentes pruebas para la determinación de diversos grupos funcionales de los componentes:

- Alcaloides: Prueba de Dragendorff.

Se prepararon dos soluciones; A y B. Se disolvieron 0.85 g de Nitrato de Bismuto en una mezcla de 10 mL de ácido acético glacial y 40 mL de agua. El reactivo se agregó a un tubo de ensaye con 2 a 3 gotas de la solución madre diluida de los extractos. La prueba se interpretó como positiva al observarse una coloración roja o naranja por un periodo de 24 h.

- Flavonoides: Prueba de Shinoda.

Se preparó una solución madre de los extractos de 10000 ppm y estos se prepararon en etanol, después se pusieron en contacto con limaduras de Mg, se aplicaron gotas de HCl. Esta prueba se consideró positiva si presenta coloraciones naranja, rojo, rosa, azul o violeta.

- Sesquiterpenlactonas:

Prueba de Baljet.

Se diluyó la solución madre de los extractos y se tomaron 2 a 3 gotas de estas en una placa de porcelana, se agregaron 4 gotas de solución mezcla, la cual consiste en una solución A compuesta por ácido pícrico al 1% en etanol y una solución B de NaOH al 10%, una tonalidad color naranja o rojo oscuro al realizar esta prueba se acepta como resultado positivo.

- Carbohidratos: Prueba de Molish.

Se tomaron de 2 a 3 gotas de las soluciones madres de los extractos y se les agregó gota a gota el reactivo de Molish (alfa-naftol al 1%), posteriormente se agregó 1 mL de ácido sulfúrico por las paredes; se tomó como positiva esta prueba al observarse un anillo púrpura en la interfase.

- Esteroles y triterpenos.

Prueba de Liebermann-Buchard:

Se mezcló gota a gota 1 mL de anhídrido acético y 1ml de cloroformo. Posteriormente se enfrió a 0°C y se añadió una gota de ácido sulfúrico. Si la prueba presenta colores azul, verde, rojo o anaranjado se acepta como positiva.

Prueba de Salkowski:

Se pusieron 2 mL del extracto en contacto con 1 mL de ácido sulfúrico. La prueba se acepta como positiva para esteroles y metilesteroles si presenta coloración amarilla o roja.

- Oxhidrilos fenólicos (Taninos vegetales).

Prueba de FeCl₃:

Se disolvieron 2 mg del extracto en 1 mL de agua o etanol, después se agregaron un par de gotas de cloruro de fierro al 12.5% en agua, si presenta un precipitado rojo, azul-violeta o verde se acepta como positivo el resultado.

- Insaturaciones

Prueba del KMnO₄

Se disolvieron 2 mg del extracto en 1 mL de agua destilada, acetona o metanol, y se añadió una gota de solución de KMnO_4 al 2% en agua, si se observa una decoloración o la formación de un precipitado café se acepta como positiva.

6.3 Evaluación de efecto bactericida.

Cepas utilizadas:

Gram positivas (*Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus aureus*)

Gram negativas (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*)

- Activación de las cepas.

Las cepas para este trabajo fueron: *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* y *A. baumannii* (Gram negativas) así como, *S. aureus* y *E. faecalis* (Gram positivas), para llevar a cabo su activación se preparó un caldo de cultivo nutritivo y se vertieron 4 mL de este en tubos de vidrio. Se mantuvieron durante 24 h en una incubadora para probar su esterilidad.

La activación se llevó a cabo en una campana de flujo laminar. Se esterilizó el aza bacteriológica en el mechero, se tomó una muestra de la cepa con el aza y se inoculó dentro de cada uno de los respectivos tubos, el proceso se repitió para cada una de las cepas a evaluar. Los tubos inoculados posteriormente fueron incubados por un periodo de 24 h a 36°C.

- Prueba de difusión por discos

Se realizó una solución del extracto a 30:70 de Metanol-Agua.

En placas con Agar Mueller-Hinton (MHA), se inocularon las bacterias a evaluar. Se agitó la suspensión del microorganismo para asegurar que esté bien mezclada. Se inocularon las placas con 100 μL de la solución de bacterias a una equivalencia del 1% en la escala de McFarland equivalente al tubo No 5 de la escala de McFarland (1×10^8 UFC/mL) y se

extendió en la superficie de la placa MHA con un asa Digrafsky, Esta solución se preparó tomando 200 μL del inóculo bacteriano para verterlo en 20 mL de caldo Mueller Hinton.

Se remojaron los discos con el extracto a evaluar a diversas concentraciones, y se colocaron sobre la placa inoculada, junto con otro disco remojado con el solvente del extracto que sirvió como blanco. Una vez realizado esto, se invirtieron las placas y se llevarán a incubación un periodo de 24 h a 37°C.

Una vez pasado el tiempo de incubación, se tomaron las placas y se verificó el crecimiento uniforme y medir las zonas de inhibición.

Se midieron los halos de inhibición utilizando luz reflejada. Se reportó la presencia de alguna zona de inhibición con bordes difusos, y después se realizó una interpretación de las colonias dentro de las zonas de la placa.

- Concentración mínima inhibitoria

En una microplaca de 96 Pocillos, se agregaron 100 μL de medio Muller-Hilton a cada pocillo del A1, A2 y A3, hasta H1, H2 y H3. En los pocillos A1, A2 y A3 se agregaron 100 μL de extracto de *F. cernua* y *O. joconostle* y se realizaron diluciones seriadas hasta H1, H2 y H3 (100 μL).

En pocillos del A7 al E7 se agregaron 100 μL de medio Muller-Hilton, posteriormente, se adicionaron 100 μL de la bacteria estandarizada a cada pocillo.

En los pocillos del A9 al A4 se agregaron a 100 μL de medio Muller-Hilton como control de contaminación.

Para el pocillo A10 a C10 se agregó 100 μL de extracto tanto de *F. cernua* y *O. joconostle* y 100 μL de medio Muller-Hilton, para el A11 al C11 se agregaron 100 μL de bacteria analizada y 100 μL de solvente, en los pocillos A12 al C12 se agregaron 100 μL de la bacteria y vancomicina a una concentración de 8 mg/mL como antibiótico para control positivo.

6.4 Actividad antioxidante y fenoles totales.

- DPPH:

Para el desarrollo de la metodología de DPPH se tomó una muestra de 100 μ L de solución en metanol del extracto a diferentes concentraciones (150, 100 y 50 mg/L). Posteriormente se añadieron 900 μ L de solución DPPH en metanol a una concentración de 60 mg/L, para después mezclarse.

Los tubos donde se efectuó la reacción se dejaron reposar durante 30 min en ausencia de luz. Después se midió la densidad óptica a 517 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Ácido gálico y ácido ascórbico fueron utilizados como control positivo en solución metanólica 100, 50 y 10 mg/L (Por triplicado).

Para determinar el porcentaje de inhibición radical DPPH se utiliza la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición DPPH} = \frac{A \text{ blanco} - A \text{ muestra}}{A \text{ blanco}} * 100$$

Donde *A blanco* hace referencia a la absorbancia del blanco y *A muestra* a la absorbancia de la muestra.

Se realizó una regresión lineal con los valores del porcentaje de inhibición de las diferentes concentraciones, se utiliza una ecuación de la recta:

$$Y = mx + b$$

La IC₅₀ se sustituye por el valor del 50% de inhibición de DPPH en el eje “y” y en el eje “x” la concentración de antioxidante para reducir al 50% el DPPH (Plazas-Gonzales, 2015).

- Método de FRAP (Ferric ion Reducing Antioxidant Power)

Se prepararon un buffer ácido-acetato de sodio 0.3 mM, (pH 3.4) y una solución de ácido clorhídrico, para la cual se diluyó 535 μ L de HCl concentrado en 100 mL de agua destilada.

Se preparó una solución de TPTZ a 10 mM, para esto se pesó 0.0312 g del reactivo TPTZ y se disolvieron en un matraz de 10 mL con HCL 40 mM.

Se preparó una solución de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 20 mM, 0.1352 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ disueltos en 25 mL de agua destilada.

Se preparó diariamente una solución FRAP con 900 μL de solución TPTZ, 2.5 mL de solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 20 mM aforando a 25 mL con la solución tampón de acetato.

En una microplaca de 96 pozos se depositaron 300 μL de la solución previamente preparada y se le adicionaron 10 μL de la muestra y 30 μL de agua destilada (1:34).

Se midió inicialmente la densidad óptica a 593 nm y se dejó reaccionar por 1 h midiendo finalmente la densidad óptica a la misma longitud de onda.

La curva de calibración para el control positivo TROLOX. La solución patrón se preparó disolviendo 0.01 g de TROLOX en 5 mL de metanol y 5 mL de agua destilada. A partir de esta se hicieron diluciones, a diferente concentración: 79, 119, 159, 199, 239, 279, 319, 359 y 399 μM .

- Prueba de Folin-ciocalteu

Se preparó el reactivo de Folin-ciocalteu 1 N (RF-C 1 N), realizando una mezcla de 1 mL de reactivo Folin-ciocalteu 2N (SIGMA) y 2 mL de agua destilada.

Después se preparó una solución de Na_2CO_3 al 10% (P/V) al aforar 5 g de Na_2CO_3 en un matraz de aforación de 50 mL con agua destilada.

Se prepararon soluciones madre de los extractos a una concentración de 10000 ppm cada una, de las cuales, se tomaron para realizar diluciones a 2000, 1000 y 100 ppm, utilizadas en este ensayo.

Una vez obtenidas las diluciones de los extractos, se procedió a realizar la reacción en una microplaca, agregando 50 μL de los extractos 100 μL de RF-C 1 N. Se dejó incubar con asistencia de agitación a 37° C durante 5 min. Transcurrido este tiempo, se agregaron 100 μL de la solución de Na_2CO_3 10%, se dejó incubar durante 30 min a 37° C.

Finalmente, la reacción fue leída en un espectrofotómetro, en donde se leyó la absorbancia del cromógeno azul obtenido a 765 nm.

Este ensayo se realizó por triplicado para cada uno de los extractos, se realizó una reacción de blanco con metanol en lugar de las muestras. Se realizó en conjunto una curva de Ácido gálico (AG) como patrón, en concentración de soluciones metanólicas que abarcaron 50-500 µg/mL. De esta curva se interpolaron las absorbancias obtenidas para obtener las concentraciones de fenoles totales expresada en mg AG/g de extracto seco.

6.5 Actividad nefroprotectora.

- Diseño del estudio.

Se formaron 3 grupos de ratas Wistar asignadas de forma aleatorizada (n=6), considerando un peso ideal entre 220 a 300 g.

Los grupos experimentales que se utilizaron en este trabajo son los siguientes:

1) Grupo control sin daño (Sham), al cual se le administró por vía orogástrica 1 mL solución TWEEN 20 al 2% por 7 d, posteriormente se sometieron a una laparotomía, sin realizar isquemia renal.

2) Grupo de No toxicidad (NoTox), al cual se le administró de forma intragástrica una dosis de 200 mg/Kg el extracto en un volumen máximo de aplicación de 1 mL, por un periodo de 7 d, posteriormente se sometieron a una laparotomía, sin realizar isquemia renal.

3) Grupo control de daño de I-R (I-R), al cual se le administraron por vía 1 mL de solución TWEEN 20 al 2% por 7 d, posteriormente se sometió a una laparotomía, para una posterior isquemia en ambos riñones por 60 min, y posteriormente una reperusión de 15 h.

4) Grupo de I-R + Extracto de *F. cernua* (E+I-R): al cual se le administró de forma intragástrica una dosis de 200 mg/Kg del extracto en un volumen máximo de aplicación de 1 mL, por un período de 7 d, posteriormente se sometió a una laparotomía, para luego llevar a cabo una isquemia renal por 60 min y posteriormente una reperfusión de 15 h.

Tabla 1. Grupos experimentales de actividad nefroprotectora.

	Grupo 1. SHAM	Grupo 2. NoTox	Grupo 3. IR	Grupo 4. Tratamiento
Administración	TWEEN 20 2%	Ext. <i>F. cernua</i> 200 mg/kg	TWEEN 20 2%	Ext. <i>F. cernua</i> 200 mg/kg
Isquemia renal	No	No	Isquemia 60 min Reperfusión 15 h	Isquemia 60 min Reperfusión 15 h

Población del estudio.

Se utilizaron 24 ratas Wistar, con un peso que osciló entre 220 y 300 g. Los animales de estudio se conservaron bajo condiciones estándar de laboratorio, con agua y alimento *ad libitum* bajo condiciones iguales de luz y oscuridad (12 h).

Los criterios de inclusión para el estudio son los siguientes:

- Ratas Wistar sanas
- Peso entre 220 y 300 g

La exclusión de los animales de estudio fueron los mayores de 6 meses de edad.

Si durante el periodo del experimento se eliminaran aquellos que cumplan con los siguientes criterios:

- Por muerte del animal en el procedimiento
- Por infección durante el proceso
- Por defecto morfológico renal
- Inducción de daño renal por isquemia-reperfusión

Grupo 1 y 2: Los animales se anestesiaron con 10 mg/kg de xilazina y 100 mg/kg de ketamina por vía intraperitoneal, posteriormente se realizó una laparotomía en mesa quirúrgica. Se eliminó el pelo abdominal y se desinfectó con MICRODACYN 60 y clorhexidina. Se realizó un corte en la región abdominal, ubicando el riñón derecho, se

disecó y posteriormente el riñón izquierdo. Después de este proceso los animales se observan por 60 min, tomando nota de las condiciones generales y condiciones de la lesión. Después de este periodo de tiempo, se corrobora la hemostasia y se sutura la lesión abdominal (5-0) continua en dos planos.

Posteriormente el animal se deja en recuperación durante 15 h. Se colocan en incubadora por parejas, con acceso a agua y alimento *ad libitum*; administrando analgésico (tramadol) de manera continua.

Grupo 3 y 4: Los animales se anestesiaron con 10 mg/kg de xilazina y 100 mg/kg de ketamina por vía intraperitoneal, posteriormente se someten a isquemia renal en ambos riñones. Se eliminó el pelo abdominal y se desinfecto con MICRODACYN 60 y clorhexidina.

Se realizó un corte en la región abdominal, ubicando el riñón derecho, se disecó y posteriormente el riñón izquierdo. Después de este proceso los animales se observan por 60 min, tomando nota de las condiciones generales y condiciones de la lesión. Después de este periodo de tiempo, se corrobora la hemostasia y se sutura la lesión abdominal (5-0) continua en dos planos.

Posteriormente el animal se deja en recuperación durante 15 h. Se colocan en incubadora por parejas, con acceso a agua y alimento *ad libitum*; administrando analgésico (tramadol) de manera continua.

- Toma de muestras

Los animales fueron anestesiados con Xilacina y ketamina, para posteriormente realizar una exanguinación y obtención de tejido renal. Se colocó sobre una mesa quirúrgica a las ratas, se eliminó el pelo abdominal y se desinfecto con alcohol a 70%. La exanguinación se llevó a cabo por punción de vena cava para obtener un volumen de 1 a 5 mL de sangre.

Después de este proceso la sangre se dejó coagular y se centrifugar a 3,500 r.p.m. / 15 min separando el suero del plasma para llevar a cabo las siguientes determinaciones: citocinas, creatinina sérica, alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST),

fosfatasa alcalina (FA), lactato deshidrogenasa (LDH), glucosa y nitrógeno de la urea (BUN).

A los riñones extirpados se les realizan las siguientes determinaciones: ancho, largo y peso; se dividen longitudinalmente y se deposita una muestra en criotubo y se congeló a -80°C posteriormente se realizó la determinación de marcadores de estrés oxidativo.

- Determinación de marcadores bioquímicos

Al suero se le evaluó los siguientes parámetros: creatinina sérica, ácido úrico, BUN, AST, LDH, FA, glucosa y ALT por métodos espectroscopicos UV-VIS (ILAB aries).

- Determinación tisular de marcadores de estrés oxidativo

En el tejido homogenizado se midieron los siguientes parámetros: MDA, GSH y SOD. Malondialdehído (MDA) por el método del ácido tricloroacético (TCA). El MDA con ácido tiobarbitúrico en medio ácido y caliente reaccionó y el producto de dicha reacción se midió la densidad óptica a 535 nm.

Actividad de glutatión peroxidasa (GSH) se utilizó un kit de ensayo para reacción de glutatión peroxidasa de marca Sigma-Aldrich, el producto de esta reacción fue medido la densidad óptica a 340 nm.

Actividad de superóxido dismutasa (SOD) se utilizó el método de reducción de tetrazolio a formazán con ayuda de un kit de SIGMA, en presencia de xantina oxidasa, xantina y oxígeno. La presencia del SOD reduce la velocidad de reducción de tetrazolio. Esta fue determinada a una densidad óptica de 450 nm.

- Expresión de genes relacionados al daño por I-R renal por RT-qPCR

Utilizando el tejido congelado, se extrajo RNA, en donde se agregó 1 mL de reactivo TriReagent por cada 100 mg de tejido, iniciando con la adición de 200 μL y realizando un homogenizado en baño de hielo hasta formar una solución heterogénea. Este lisado se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min a 4°C , el sobrenadante se transfirió a un tubo y se deja reposar por 5 min a temperatura ambiente, se agregaron 0.2 mL de cloroformo, se tapa el tubo y se agita por 15 segundos. Se dejaron reposar y se centrifuga a 12,000 rpm / 15 min a 4°C , la fase acuosa se transfiere a otro tubo y se le adicionan 0.5 mL de 2-

propanol y se agita vigorosamente por 15 segundos, posteriormente se centrifuga a las condiciones antes mencionadas por 5 min. Por último se adicionan 100 μ L de agua DEPC para resuspender el RNA, este se cuantifica en cada muestra.

La expresión de los genes glutatión peróxidasa (GPX), mieloperóxidasa (MPO) y el factor de transcripción nuclear kappa beta (NF- κ B) se determinarán mediante RT-qPCR, y como control interno se utilizó el gen β -actina, con sus correspondientes primers. La mezcla se hizo con la muestra y los reactivos correspondientes.

Tabla 2. Elaboración de mezcla de RT-qPCR, considerando un volumen de 10 μ L.

Reactivo	Concentración inicial	Concentración final
GO TAQ	2X	1X
GO SCRIPT	50X	1X
FORWARD PRIMER 20X	5 μ M	200 nM
REVERSE PRIMER 20x	5 μ M	200 nM
CXR	30 μ M	33 nM
MUESTRA	100 ng	Variable
AGUA		3 μ L

Tabla 3. Primers utilizados en la RT-qPCR

Gen	Primers	
	Forward	Reverse
β -actina	5' CCCTGGCTCCTAGCACCAT 3'	5' GATAGAGCCACCAATCCACACA 3'
NF-k β	5' CCTCATCTTTCCCTCAGAGCC 3'	5' CGCACTTGTAACGGAAACGC 3'
MPO	5' ATGTCACAGGGGACATGCG 3'	5' TCTGTGGCCAGACGGTTATG 3'
GPX	5' CATTGAGAATGTCGCGTCCC 3'	5' TTGCCATTCTCCTGATGTCCG 3'

6.6 Actividad tóxica.

Prueba de hemólisis

La toxicidad se realizó mediante la prueba de hemólisis. Se tomó una muestra de sangre humana de grupo O+ según la NORMA Oficial Mexicana NOM-253-SSA1-2012. Se tomaron 2.5 mL de sangre y se centrifugan a 3000 rpm / 15 min a temperatura ambiente. Se separó el sobrenadante con una pipeta Pasteur, el paquete celular se lavó 4 veces con una solución de Buffer de Fosfatos Salino isotónico a pH 7.4 (PBS). Los glóbulos rojos obtenidos se les adicionan los diferentes tratamientos del extracto metanólico. Para cada tratamiento se tomaron 250 μ L del paquete globular y se colocan en tubos cónicos de 1.5 mL de 975 hasta 997.5 μ L de PBS, posteriormente se agregó de 25 hasta 2.5 μ L el extracto metanólico, estas soluciones se incuban 30 min / 37°C en la obscuridad, posteriormente se centrifugan a 13 000 rpm / 5 min a 4°C, de la suspensión se tomaron 100 μ L y se colocaron en una microplaca de 96 pocillos, finalmente se mide la densidad óptica a 540 nm, utilizando como blanco 250 μ L de PBS.

6.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos en las pruebas de determinación de marcadores bioquímicos, marcadores de estrés oxidativo, y la expresión de genes relacionados al daño por I-R renal fueron analizados mediante el software GraphPad Prism 8.0. Se utilizó una prueba estadística de One-way ANOVA Tukey-kramer, para determinar la existencia de diferencias significativas entre los grupos. Los resultados fueron como la media \pm Desviación Estándar. Se tomó el $P < 0.05$ como estadísticamente significativo.

7.- RESULTADOS

7.1 Preparación de extractos – Rendimiento

En la Tabla 4 se muestran los rendimientos obtenidos de los procesos de extracción de las plantas de estudio.

Tabla 4. Rendimiento de extracción de las plantas en estudio

	<i>Flourensia cernua</i>	<i>Opuntia joconostle</i>
Materia seca (g)	103.60	29.58
Extracto (g)	33.70	2.048
% Rendimiento	32.52	6.92

7.2 Perfil fitoquímico.

En la Tabla 5 se muestra el perfil fitoquímico de los extractos de *F. cernua* y *O. joconostle*, a través de diversas pruebas químicas para determinar la presencia de metabolitos secundarios de interés en la composición de las muestras.

Tabla 5. Perfil fitoquímico de los extractos de las plantas en estudio

Prueba	Metabolito	<i>F. cernua</i>	<i>O. joconostle</i>
Liebermann-Burchard	Esteroles y triterpenos	+	-
Cumarinas	Cumarinas	+	+
Baljet	Sesquiterpenlactonas	+	+
Quinonas	Quinonas	+	+
Saponinas	Saponinas	-	-
Shinoda	Flavonoides	+	-
Taninos	Taninos	+	-
Antrona	Antrona	+	+
Dragendorff	Alcaloides	-	-

7.3 Actividad bactericida

En la Tabla 6 se presentan las pruebas preeliminares de difusión por pozos para medir el efecto del extracto de *F. cernua* a una concentración de 2000 ppm contra las siguientes cepas bacterianas multifarmacorresistentes de interés clínico para el ser humano; *E. coli* 25922, *E. faecalis* 29212, *A. baumannii* 15308, *S. aureus* BAA-44, *K. pneumoniae* 700603 y *P. aeruginosa* 27853.

Tabla 6. Inhibición del extracto de *F. cernua* sobre bacterias multifarmacorresistentes

Bacterias farmacoresistentes				
<i>E. coli</i>	<i>E. fecalis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneummonaeae</i>
-	+	+	+	-

n = 3; con inhibición (+); sin inhibición (-)

Tabla 7. Halos de inhibición de *F. cernua* y *O. joconostle* contra cepas estudiadas

Extractos	Diámetro de halos de inhibición en Bacterias multifarmacorresistentes (mm)					
	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>F. cernua</i>	0	0	0	0	0	0
<i>O. joconostle</i>	0	0	0	0	0	0

El extracto de *F. cernua* presentó actividad bactericida contra cepas de *E. faecalis*, *A. baumannii* y *S. aureus*. En pruebas preliminares de difusión por pozo, sin embargo, no se encontró actividad bactericida en las pruebas siguientes pruebas de difusión con discos para los extractos analizados.

7.4 Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se muestra en las siguientes figuras:

Prueba de folin-ciocalteu

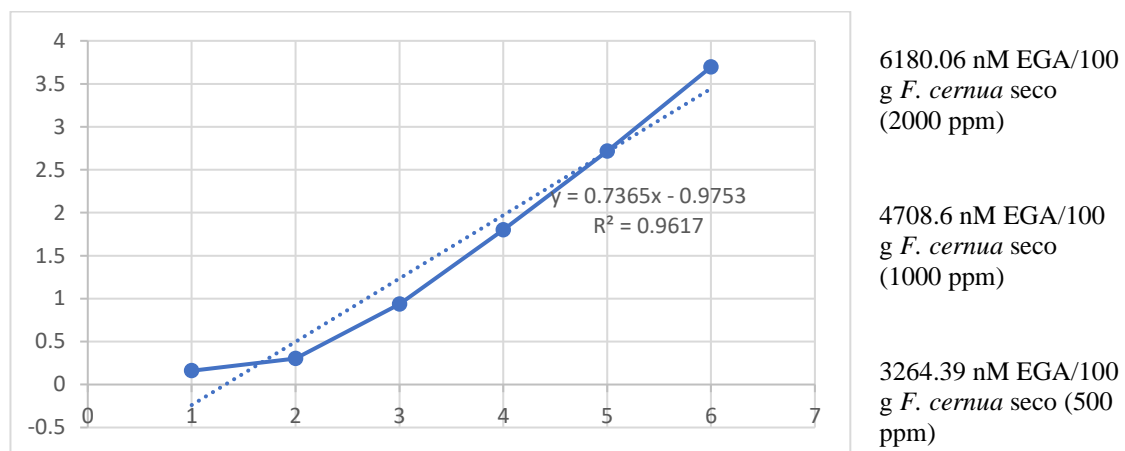


Fig 3. Curva de equivalencia de Ácido gálico respecto a *Flourensia cernua*

Prueba de DPPH

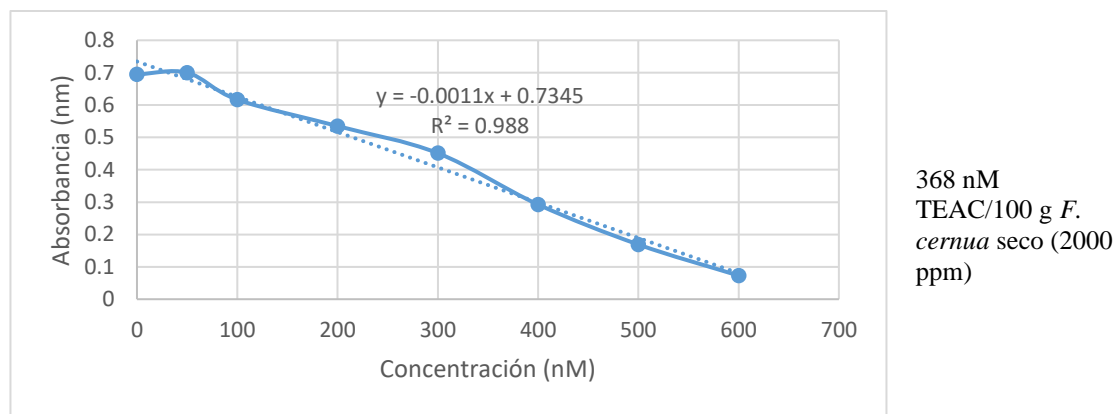


Fig 4. Curva de equivalencia de TROLOX respecto a *F. cernua*

Prueba de FRAP

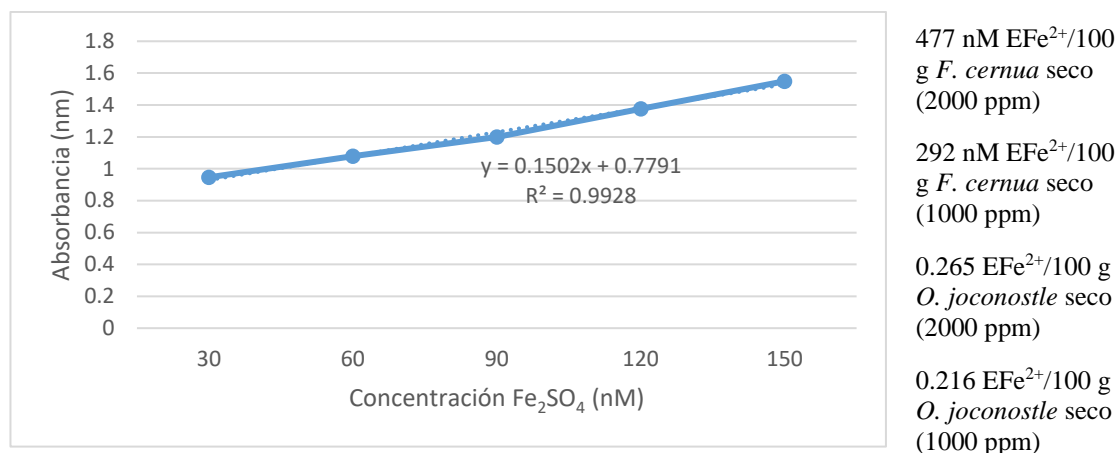


Fig 5. Curva equivalencia Fe^{2+} respecto a de *F. cernua* y *O. joconostle*

7.5 Actividad citotóxica

En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de hemólisis, en donde se presenta, en el extracto de *F. cernua* una citotoxicidad de un 12% de actividad hemolítica. Esta actividad disminuye para entrar dentro de parámetros de baja hemólisis a una concentración de 600 ppm.

Tabla 8. Actividad hemolítica de *F. cernua*

Concentración (ppm)	% Hemólisis <i>F. cernua</i>
1000	12±3.78
800	2.64±1.45
600	0.37±0.13
400	0.73±0.07
200	1.29±0.02
100	0.09±0.01

En la tabla 9 se presenta la actividad hemolítica del extracto de *O. joconostle*, en donde se encontró que el extracto no presenta actividad hemolítica.

Tabla 9. Actividad hemolítica de *O. joconostle*

Concentración (ppm)	% Hemolisis <i>O. joconostle</i>
1000	1.89±0.51
800	0.27±0.24
600	0.44±0.08
400	0.43±0.22
200	0.57±0.05
100	0.42±0.04

7.6 Actividad nefroprotectora

I. Marcadores bioquímicos en suero de los animales de experimentación,

En las figuras 6 se muestran los niveles de BUN y creatinina expresados en el suero de los animales de experimentación, junto con sus diferencias significativas entre grupos a través de un ANOVA con tukey Kramer.

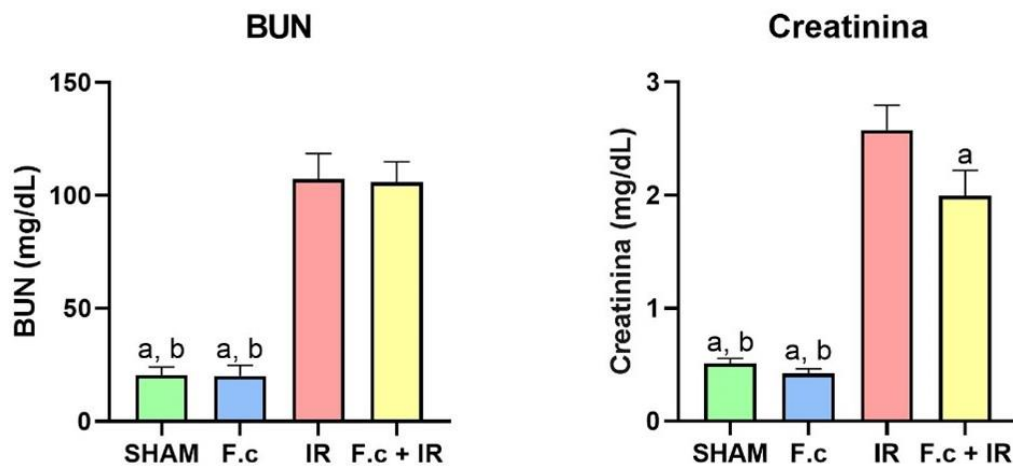


Fig 6. Marcadores de lesión renal. Datos expresados como media ± desviación estándar a. grupo vs I-R, $p < 0.05$; b, grupo vs F.c + I-R, $p < 0.05$. BUN= nitrógeno ureico en sangre (del inglés, blood urea nitrogen).

II.-Marcadores de estrés oxidativo en el tejido renal de los animales de experimentación

En la figura 7 se muestran los niveles de MDA, GSH y SOD expresados en el suero de los animales de experimentación, junto con sus diferencias significativas entre grupos a través de un ANOVA con tukey Kramer.

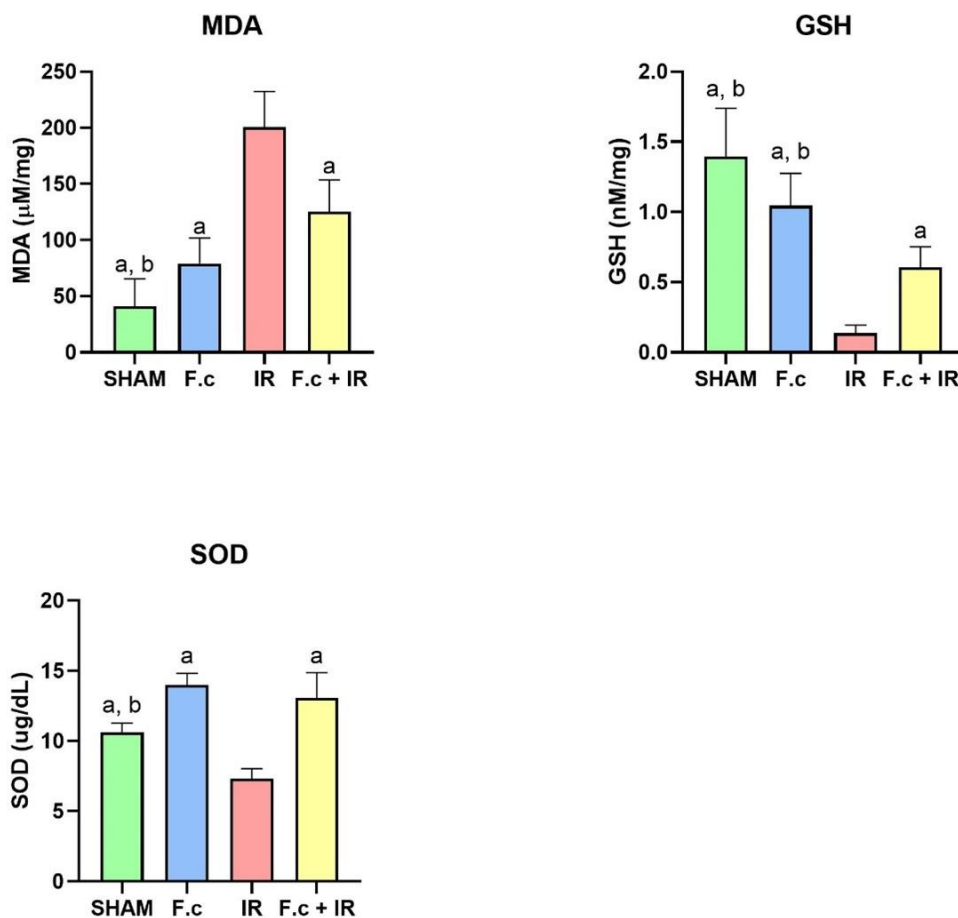


Fig 7. Marcadores de estrés oxidativo. Datos expresados como media \pm desviación estándar a. grupo vs I-R, $p < 0.05$; b, grupo vs F.c + I-R, $p < 0.05$. MDA= Malondialdehído; GSH= Glutathion reducido; SOD= superóxido dismutasa.

7.7 Expresión de genes asociados al daño por I-R de los animales de experimentación

En las siguientes figuras se presentan los valores de expresión relativa de los genes asociados al daño por I-R en los animales de experimentación, los cuales fueron glutatión peroxidasa (GPX), factor de transcripción nuclear kappa beta (NFk β) y Mieloperoxidasa (MPO)

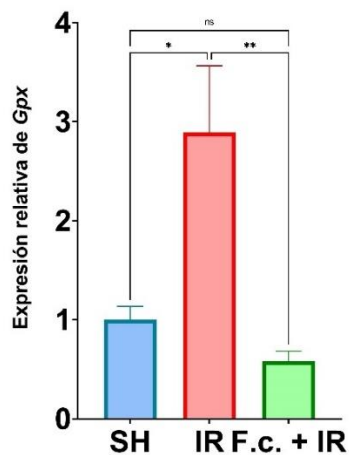


Fig 8. Expresión de glutatión peroxidasa (GPX) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos.

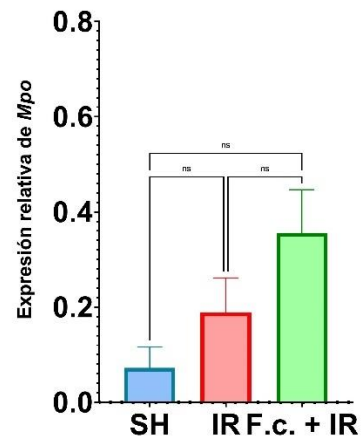


Fig 9. Expresión del factor de transcripción nuclear kappa beta (NFk β , en ratas, conocido como *Rela*) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos.

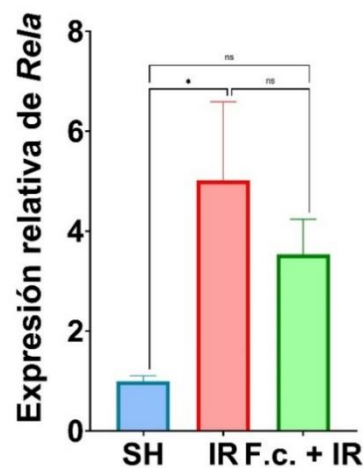


Fig 10. Expresión de mieloperoxidasa (MPO) en los diferentes grupos de los animales de experimentación con los diferentes tratamientos

8.- DISCUSION

Alvides, M. P. L (2022) ha reportado la presencia de flavonoides, fenoles y azucares reductores en extracto metanólico de *F. cernua* obtenido de la parte aérea de la planta, resultados los cuales coinciden con las pruebas fitoquímicas realizadas en este proyecto, en donde de igual manera se reportó la presencia de flavonoides mediante prueba de Shinoda. El ensayo de Folin-ciocoltaeu ha arrojado de igual manera la riqueza de fenoles totales presentes en el extracto de *F. cernua*.

Los resultados obtenidos pueden ser contrastados con aquellos obtenidos por Coila, R. O. (2023), en donde se realizó tamizaje fitoquímico de un extracto etanólico de semilla de *O. soehrensii*. Este análisis arroja la presencia de alcaloides, antranas, saponinas y terpenos, los cuales difieren con los obtenidos en el trabajo, en donde no se encontró la presencia de estos metabolitos secundarios, esto nos demuestra que, dentro del género de *Opuntia*, los metsabolitos obtenidos varían entre cada especie.

Rivera S. E. V *et al* (2015) reportaron que el extracto etanólico de *F cernua* presentó halos de inhibición de aproximadamente 1.01 cm contra cepas de *E. coli* y *S. aureus*, utilizando concentraciones de 4000 y 5000 ppm del extracto. Estas concentraciones son mayores a las utilizadas en esta investigación, las cuales fueron de 2000 ppm. En la prueba preliminar, utilizando el método de difusión por pocillos, el extracto de *F. cernua* metanólico presentó halos de inhibición contra *E. coli*, *S. aureus* y *A. baumannii*, sin embargo, al realizarse las pruebas definitivas con la metodología de difusión por discos, tanto el extracto de *F. cernua* como el de *O. joconostle* no presentaron halos de inhibición contra las cepas estudiadas. Esto puede ser debido a que en las pruebas definitivas se utilizaron cepas resistentes, debido a la falta de inhibición, no se realizaron las pruebas de concentración mínima inhibitorias con los extractos.

Al proponerse un extracto como una posible alternativa terapéutica, es necesario demostrar que este no presenta toxicidad. Para descartar algún daño nefrotóxico o hepatotóxico del extracto, se midieron los niveles de BUN, creatinina, ALT, SOD y MDA en el grupo experimental de *F. cernua*. El extracto no presentó diferencia significativa en estas variables, al comparar los niveles obtenidos con aquellos del grupo SHAM y No toxicidad de *F. cernua*.

La isquemia renal no puede ser evitada en algunos procesos clínicos como lo pueden ser trasplante renal, choque traumático, sepsis, hemorragia post parto o cirugías. El daño en riñones producido por isquemia renal se produce al interrumpirse temporalmente el flujo sanguíneo hacia un órgano, para después ser reperfundido de nuevo con sangre oxigenada al órgano. Este proceso produce la liberación de radicales libres de oxígeno, una de las principales causas de daño tisular causado por la reperfusión. Este daño en el tejido estimula una respuesta inflamatoria mediada principalmente por neutrófilos y macrófagos, los cuales después liberan mediadores proinflamatorios como citocinas. Esta respuesta inflamatoria afecta directamente la función renal, manifestadas en un incremento en las concentraciones de BUN y creatinina en suero.

Se ha reportado que algunas plantas con actividad antioxidante han reducido el daño secundario causado por el estrés oxidativo por la I-R del riñón. En este estudio se encontró que el pretratamiento de extracto metanólico de *F. cernua*, atenúa el incremento de niveles de creatinina séricos comparados con aquellos reportados en el grupo de I-R. Esto sugiere que el extracto de *F. cernua* tiene un efecto nefroprotector, que puede estar relacionado con su actividad antioxidante.

Wei, R (2012) y colaboradores realizaron un estudio en donde se evaluó la actividad nefroprotectora de extractos de proantocianidinas de semillas de uva (GSPE) en un modelo de I-R de 45 min/24 h respectivamente sobre ratas Wistar, en el cual se encontró que los grupos de ratas de control de daño tuvieron un incremento significativo en sus niveles de creatinina, urea y cistatina C en contraste con los expresados en los grupos SHAM, no toxicidad y el del grupo de GSPE, sin embargo, aunque existe una disminución en los niveles de creatinina expresados en el grupo GSPE, esta disminución concuerda con los resultados obtenidos en este trabajo con *F. cernua*. El modelo experimental no es el mismo, pero se comparte las mismas técnicas para la administración del extracto y el daño por isquemia-renal, por lo que se podría considerar que el uso de extractos con actividad antioxidante es factible para la disminución de niveles de creatinina en suero.

Akdere, H (2014) y colaboradores realizaron un estudio de la actividad nefroprotectora de extracto de *Ginko biloba* sobre un modelo de ratas Wistar contra daño por isquemia-reperfusión 1 h/1 h respectivamente, en donde el extracto fue administrado durante 2

semanas previas al proceso de isquemia renal. Los parámetros analizados en este ensayo fueron los niveles de MDA, SOD y CAT. Los valores de MDA fueron significativamente superiores en los grupos de I-R en contraste con los grupos SHAM, no toxicidad y extracto de *G. biloba*. En la isquemia renal, radicales libres de oxígeno son generados por la peroxidación lipídica en las membranas de las células de los riñones provocan daño tisular, y un buen indicativo de esto son los niveles de MDA en tejido. El incremento de MDA en grupo I-R contra los demás grupos son un indicativo del daño en el riñón. En este trabajo se ha encontrado de igual manera un incremento en los niveles de MDA en los grupos de I-R contra los demás grupos, por lo que, a pesar de que se utiliza un diferente extracto y protocolo de isquemia renal, los resultados son congruentes, indicando protección en el riñón cuando los niveles de MDA bajan al igual que el grupo sham. A su vez, el artículo de Akdere *et al* reportó actividad de enzima SOD y CAT, en las cuales, en contraste con los resultados obtenidos de MDA, presentan una disminución en su expresión en el grupo de I-R en contraste con el resto de los grupos. Estos valores son indicativos de isquemia. La irregularidad en la actividad antioxidante y el incremento en la producción de radicales libres de oxígeno son los causantes del daño renal, y los agentes antioxidantes reparan este daño. SOD logra esto al remover superóxido mediante dismutasa enzimática, y el mismo efecto se observa en CAT. En el trabajo de Akdere *et al* se encontró que el uso del extracto de *G. biloba* beneficia a estas enzimas, aumentando su expresión, y en caso contrario, en los grupos de I-R, los niveles de SOD y CAT son significativamente menores, por lo tanto, la implementación del extracto presenta una protección en el riñón expresada en los niveles elevados de SOD y CAT encontrados. En nuestro trabajo, de la misma manera, se encontró que, en el grupo de I-R, los niveles de SOD disminuían considerablemente contrastado con el resto de los grupos, y de igual manera los niveles de GSH expresados, los cuales presentan un mecanismo de acción similar al de SOD, fueron menores en el grupo de I-R, demostrando de igual manera, el extracto de *F. cernua* protege sobre los niveles de SOD y GSH.

Se ha reportado que la expresión de mRNA de antioxidantes y GPX disminuye frente a estrés oxidativo. Mard S. A. *et al* en 2016 reportaron en un estudio sobre el efecto de crocin, el cual es un compuesto rico en carotenoides, en la protección contra el daño por I-R en la zona gástrica, en donde la expresión génica de GPX disminuyó

significativamente después de daño gástrico por I-R. Por esto, siguiendo el I-R, existe un incremento en la producción de radicales libres debido a la reducción de antioxidantes, lo que converge en daño en el tejido. En este estudio, el pre-tratamiento con crosin incrementó la expresión de mRNA de GPX en el tejido mucoso del estómago de la rata wistar, por lo que la protección gástrica se asoció al incremento de antioxidantes y GPX. En este trabajo se realizó una rtPCR para determinar la expresión de GPX, en donde se encontró que la expresión de GPX se ve reducida en los grupos SHAM y Tratamiento, siendo estos resultados lo opuesto a lo reportado por Ali-Mard y colaboradores, por lo que el efecto de protección contra daño por I-R no es factible bajo este parámetro.

El aumento de ROS activa el factor nuclear $\text{k}\beta$ (NF- $\text{k}\beta$), el cual se encarga de regular la transcripción de los genes involucrados en la respuesta celular al estrés mecánico, y es requerido para reparar el tejido, así como también tiene en la apoptosis y en la respuesta adaptativa al estrés (Seok, Y. M 2008).

Kenan, M *et al* en 2011 llevaron a cabo un estudio en donde se evaluó el efecto de la quercetina en apoptosis, NF- $\text{k}\beta$ y la expresión del gen NOS al llevarse a cabo un daño renal por I-R en un modelo murino, en donde se determinó mediante pruebas inmunoquímicas que la expresión de NF- $\text{k}\beta$ se ve reducida en el grupo control, mientras que en el grupo de I-R (en donde se utilizó un tiempo de isquemia de 2 h y un tiempo de reperfusión de 6 h), la expresión de NF- $\text{k}\beta$. En el grupo en el cual se administró la quercetina, en conjunto con el daño por IR se pudo observar una disminución en el aumento de la expresión de NF- $\text{k}\beta$.

Existen reportes de que NF- $\text{k}\beta$ juega un papel central en la patología renal. Spandou *et al* en 2006 reportó que la I-R renal conlleva a la activación de NF- $\text{k}\beta$, lo cual sugiere que se trate de un marcador del daño relacionado a la fisiopatología de diversos desórdenes renales, incluyendo I-R, y cuya inhibición previene la apoptosis *in vivo* asociada al daño por I-R, por lo que la inhibición de la expresión de NF- $\text{k}\beta$ protege al tejido de daño isquémica. En este trabajo se encontró una disminución en la expresión de NF- $\text{k}\beta$ al administrarse extracto metanólico de *F. cernua*, aunque esta disminución no fue significativa al compararse con la expresión de NF- $\text{k}\beta$ en el control de daño, sin embargo, tampoco fue un aumento significativo en contraste con lo expresado en el grupo SHAM,

por lo que, a pesar de presentar el efecto esperado en la disminución de NF- κ B, esta disminución no se considera significativa.

La infiltración de leucocitos, en especial, neutrófilos, en el riñón también tiene una importancia en el daño producido por I-R, y se presume que la producción de ROS es un evento crítico en la activación de leucocitos. El MPO es un marcador de infiltración neutrófila, el cual es liberado de neutrófilos y cataliza la formación de HClO desde H₂O₂ y de iones cloruro. El nivel de MPO expresado refleja indirectamente la severidad de una respuesta inflamatoria (Gu, J 2011).

Qiao, X *et al* en 2013 llevaron a cabo una investigación para evaluar el efecto de Intermedina ante daño por I-R en un modelo murino, utilizando un tiempo de isquemia renal de 45 min y 24 h de reperfusión, en donde se encontró que el proceso de IR produjo un incremento en la actividad de MPO, lo cual es indicio de infiltración neutrófila al tejido del riñón, siendo estos niveles más elevados comparados con animales de su grupo SHAM, sin embargo, el tratamiento con intermedina produjo una disminución significativa de los niveles de MPO evaluados en el tejido renal, protegiendo de esta manera contra la infiltración neutrófila.

Sin embargo, en el presente estudio, en la expresión de MPO por RT-qPCR, no se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudios como lo reportado por Qiao X *et al* (2013), por lo que no se pudo valorar el impacto de esta enzima sobre el estrés oxidativo en el daño inducido por I-R en nuestro modelo experimental

9.- CONCLUSIONES

El extracto de *F. cernua* presentó un mayor rendimiento de extracción frente al de *O. joconostle*. El extracto de *F. cernua* presentó inhibición preliminar contra cepas de *E. coli*, *S. aureus* y *A. baumannii*, sin embargo, en las pruebas definitivas contra cepas farmacoresistentes. El extracto de *F. cernua* presenta una mayor actividad de captación de hierro frente al de *O. joconostle*, y una buena capacidad antioxidante contra la captación de radical DPPH y una gran cantidad de fenoles totales medidas por la prueba de Folin-ciocolteau. El extracto de *F. cernua* presenta actividad hemolítica, mientras que el extracto de *O. joconostle* no presenta esta actividad.

El extracto de *F. cernua* presenta efecto nefroprotector al disminuir los niveles de creatinina en suero. De igual manera, presenta un efecto nefroprotector al mediar algunos marcadores de estrés oxidativo, al disminuir los niveles de MDA en tejido renal, y disminuir los niveles de GSH y SOD en el mismo tejido.

El extracto de *F. cernua* presenta efecto nefroprotector, se recomienda continuar estudios para validar esta actividad biológica para ser propuesto como una alternativa para mitigar el daño por Isquemia-reperfusión, así como elucidar los compuestos a los que les puede atribuir dicha actividad.

10.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

aeruginosa. *J. Antimicrob. Chemother.*, v. 42, n. 2, p. 128-131, Aug, 1998.

Akdere, H., Tastekin, E., Mericliler, M., & Burgazli, K. M. (2014). The protective effects of Ginkgo biloba EGb761 extract against renal ischemia-reperfusion injury in rats. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 18(19).

Alangaden, G. J., Thyagarajan, R., Gruber, S. A., Morawski, K., Garnick, J., El-Amm, J. M., ... & Haririan, A. (2006). Infectious complications after kidney transplantation: current epidemiology and associated risk factors. *Clinical transplantation*, 20(4), 401-409.

Al-Jaghbeer, M., Dealmeida, D., Bilderback, A., Ambrosino, R., & Kellum, J. A. (2018). Clinical decision support for in-hospital AKI. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 29(2), 654.

Alvarez, R., Carvalho, C.P., Sierra, J., Lara, O., Cardona, D., & Londoño-Londoño, J. (2012). Citrus juice extraction systems: effect on chemical composition and antioxidant activity of clementine juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 60(3), 774-81. <http://doi.org/10.1021/jf203353h>

Alvarez-Perez, O. B., Ventura-Sobrevilla, J. M., Ascacio-Valdés, J. A., Rojas, R., Verma, D. K., & Aguilar, C. N. (2020). Valorization of *Flourensia cernua* DC as source of antioxidants and antifungal bioactives. *Industrial Crops and Products*, 152, 112422.

ALVIDREZ, M. P. L. (2022). EFECTO INHIBITORIO DE LOS EXTRACTOS DE HOJASÉN (*FLOURENSIA CERNUA*) SOBRE HONGOS DE INTERÉS CLÍNICO POR.

Araujo, M.; Welch, W.J. Oxidative stress and nitric oxide in kidney function. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2006, 15, 72–77.

Azevedo JCS, Borges KC, Genovese MI, Correia RTP, Vatted DA. Neuroprotective effects of dried camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) residue in *C. elegans*. *Food Research International*. 2015; 73: 135-141.

Baradaran A, Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Protection of renal tubular cells by antioxidants: current knowledge and new trends. *Cell J.* 2015; 16: 568-571.

Batista, P. B. P., & Passos, R. D. H. (2012). The new frontiers of acute kidney injury. *Revista Brasileira de terapia intensiva*, 24(3), 213-215.

Becerra B, Katherine, García D, Josh, Becerra B, Melissa, Ruiz R, Eliberto, & Chávez R, Lesly. (2019). Efecto nefroprotector del Camu Camu (*Myrciaria dubia*) en un modelo de nefrotoxicidad inducida por gentamicina en ratas. *Revista chilena de nutrición*, 46(3), 303-307. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000300303>.

Becker, L. B. (2004). New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovascular research*, 61(3), 461-470.

Beierlein, W., Scheule, A. M., Dietrich, W., & Ziemer, G. (2005). Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124 hypersensitivity reactions. *The Annals of thoracic surgery*, 79(2), 741-748.

Benveniste, R., & Davies, J. (1973). Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. In *Annual Review of Biochemistry: Vol. Vol.42*. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.42.070173.002351>

Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 13, Issue 1). <https://doi.org/10.1038/nrmicro3380>

Blanc, D. S., Petignat, C., Janin, B., Bille, J., & Francioli, P. (1998). Frequency and molecular diversity of *Pseudomonas aeruginosa* upon admission and during hospitalization: A prospective epidemiologic study. *Clinical Microbiology and Infection*, 4(5). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00051.x>

Bou, G., Cervero, G., Dominguez, M. A., Quereda, C., & Martinez-Beltran, J. (2000). Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter baumannii* strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: High-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of β -lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(9). <https://doi.org/10.1128/jcm.38.9.3299-3305.2000>

Bou, G., Cerveró, G., Domínguez, M. A., Quereda, C., & Martínez-Beltrán, J. (2000). PCR-based DNA fingerprinting (REP-PCR, AP-PCR) and pulsed-field gel electrophoresis characterization of a nosocomial outbreak caused by imipenem- and meropenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Clinical Microbiology and Infection*, 6(12). <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2000.00181.x>

Boyd, D. A., Du, T., Hizon, R., Kaplen, B., Murphy, T., Tyler, S., ... & Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program. (2006). VanG-type vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* strains isolated in Canada. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(6), 2217-2221.

Brook, I., Frazier, E. H., & Gher, M. E. (1991). Aerobic and anaerobic microbiology of periapical abscess. *Oral Microbiology and Immunology*, 6(2). <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1991.tb00464.x>

Calbo, E., & Garau, J. (2015). The changing epidemiology of hospital outbreaks due to ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae*: The CTX-M-15 type consolidation. In *Future Microbiology* (Vol. 10, Issue 6). <https://doi.org/10.2217/fmb.15.22>

CARACTERÍSTICAS DE LAS DEFUNCIONES REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE 20201, PRELIMINAR. (2021). En INEGI (Comunicado de prensa Núm 402/21). INEGI. Recuperado 31 de agosto de 2023, de https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2021/EstSociodemo/DefuncionesRegistradas2020_Pre_07.pdf

Cervera, C., Agustí, C., Marcos, M. A., Pumarola, T., Cofán, F., Navasa, M., ... & Moreno, A. (2006). Microbiologic features and outcome of pneumonia in transplanted patients. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 55(1), 47-54.

Chatterjee, P.K. Novel pharmacological approaches to the treatment of renal ischemia-reperfusion injury: A comprehensive review. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2007, 376, 1–43.

Chavez-Santoscoy, R. A., Gutierrez-Uribe, J. A., & Serna-Saldívar, S. O. (2009). Phenolic composition, antioxidant capacity and in vitro cancer cell cytotoxicity of nine prickly pear (*Opuntia* spp.) juices. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(2), 146-152.

Coca, S. G., Singanamala, S., & Parikh, C. R. (2012). Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney international*, 81(5), 442-448.

Coila Colquehuanca, R. O., & Palacios Rosales, M. C. (2023). Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de semillas de *Opuntia Soehrensii* Britton & Rose (Ayrampo) frente A cepas de *Streptococcus Mutans* Atcc 25175.

Colegate, S. M., & Molyneux, R.J. (2007). *Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*, Second Edition. CRC Press.

Cordiés, L. (1998). Machado I, Hamilton ML. Principios generales de la terapéutica antimicrobiana *Acta Médica*, 8(1), 13-27.

Costa, S. F., Woodcock, J., Gill, M., Wise, R., Barone, A. A., Caiaffa, H., & Levin, A. S. S. (2000). Outer-membrane proteins pattern and detection of β -lactamases in clinical isolates of imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Brazil. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 13(3). [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(99\)00123-5](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(99)00123-5).

Cowled, P. A., Khanna, A., Laws, P. E., Field, J. B., Varelias, A., & Fitridge, R. A. (2007). Statins inhibit neutrophil infiltration in skeletal muscle reperfusion injury. *Journal of Surgical Research*, 141(2), 267-276.

de Jesús Salas-Méndez, E., Vicente, A., Pinheiro, A. C., Ballesteros, L. F., Silva, P., Rodríguez-García, R., ... & de Rodríguez, D. J. (2019). Application of edible nanolaminate coatings with antimicrobial extract of *Flourensia cernua* to extend the shelf-life of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest biology and technology*, 150, 19-27.

de Rodríguez, D. J., Puente-Romero, G. N., Díaz-Jiménez, L., Rodríguez-García, R., Ramírez-Rodríguez, H., Villarreal-Quintanilla, J. A., ... & Genisheva, Z. A. (2019). In vitro gastrointestinal digestion of microencapsulated extracts of *Flourensia cernua*, *F. microphylla*, and *F. retinophylla*. *Industrial Crops and Products*, 138, 111444.

de Rodríguez, D. J., Salas-Méndez, E. D. J., Rodríguez-García, R., Hernández-Castillo, F. D., Díaz-Jiménez, M. L. V., Sáenz-Galindo, A., ... & Carrillo-Lomelí, D. A. (2017).

Antifungal activity in vitro of ethanol and aqueous extracts of leaves and branches of *Flourensia* spp. against postharvest fungi. *Industrial Crops and Products*, 107, 499-508.

Domitrović, R., Cvijanović, O., Pugel, E. P., Zagorac, G. B., Mahmutefendić, H., & Škoda, M. (2013). Luteolin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in mice through inhibition of platinum accumulation, inflammation and apoptosis in the kidney. *Toxicology*, 310, 115-123.

Dorweiler, B., Pruefer, D., Andradi, T. B., Maksan, S. M., Schmiedt, W., Neufang, A., & Vahl, C. F. (2007). Ischemia-reperfusion injury. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*, 33(6), 600-612.

Duru, B y Turker, N. Changes in physical properties and chemical composition of cactus pear (*Opuntia ficus indica*) during maturation. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*. 7:22-33. 2005.

Fernández-Cuenca, F., Martínez-Martínez, L., Conejo, M. C., Ayala, J. A., Perea, E. J., & Pascual, A. (2003). Relationship between β -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(3), 565-574.

Funes, J. A. P., Bonilla, A. G., & Arango, W. A. H. (2012). Efecto nefroprotector del ácido ascórbico en un modelo de daño renal inducido por gentamicina en conejos. *Ciencia e Investigación Medico Estudiantil Latinoamericana*, 17(2).

Garcia-Hernandez, D. G. (2016). Actividad biológica, separación, aislamiento e identificación de metabolitos activos de plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana. *Universidad Autónoma de Nuevo León*.

Gecit I, Aslan M, Gunes M, et al. Serum prolidase activity, oxidative stress, and nitric oxide levels in patients with bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012;138(5):739-743. doi:10.1007/s00432-011-1136-4

Gheissari, A., Mehrasa, P., Merrikhi, A., & Madihi, Y. (2012). Acute kidney injury: A pediatric experience over 10 years at a tertiary care center. *Journal of nephropathology*, 1(2), 101.

Glew, R. H., Moellering, R. C., & Kunz, L. J. (1977). Infections with acinetobacter calcoaceticus (herellea vaginicola): Clinical and laboratory studies. *Medicine (United States)*, 56(2). <https://doi.org/10.1097/00005792-197703000-00001>

Gu, J., Chen, J., Xia, P., Tao, G., Zhao, H., & Ma, D. (2011). Dexmedetomidine attenuates remote lung injury induced by renal ischemia-reperfusion in mice. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, 55(10), 1272-1278.

Héritier, C., Poirel, L., Fournier, P. E., Claverie, J. M., Raoult, D., & Nordmann, P. (2005). Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(10). <https://doi.org/10.1128/AAC.49.10.4174-4179.2005>

Himmelfarb, J.; McMonagle, E.; Freedman, S.; Klenzak, J.; McMenamin, E.; Le, P.; Pupim, L.B.; Ikizler, T.A.;The, P.G. Oxidative stress is increased in critically ill patients with acute renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 2449–2456.

Hopkins, K. L., Davies, R. H., & Threlfall, E. J. (2005). Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 25, Issue 5). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.02.006>

Humphreys, H. (2012). *Staphylococcus aureus*: The enduring pathogen in surgery. In *Surgeon* (Vol. 10, Issue 6). <https://doi.org/10.1016/j.surge.2012.05.003>

Jovanovic, S. V., & Simic, M. G. (2000). Antioxidants in nutrition. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899(1), 326-334.

Kellum JA. Acute kidney injury. *Crit. Care Med.* 2008 Apr;36(4 Suppl):S141–145.

Kenan Kinaci, M., Erkasap, N., Kucuk, A., Koken, T., & Tosun, M. (2012). Effects of quercetin on apoptosis, NF- κ B and NOS gene expression in renal ischemia/reperfusion

injury. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 3, 249-254.
<https://doi.org/10.3892/etm.2011.382>

Khoshnood, S., Heidary, M., Asadi, A., Soleimani, S., Motahar, M., Savari, M., Saki, M., & Abdi, M. (2019). A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. In *Biomedicine and Pharmacotherapy* (Vol. 109). <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.131>

Koning OHJ, Ploeg RJ, van Bockel JH et al. RISK FACTORS FOR DELAYED GRAFT FUNCTION IN CADAVERIC KIDNEY TRANSPLANTATION: A Prospective Study of Renal Function and Graft Survival after Preservation with University of Wisconsin Solution in Multi-Organ Donors. 1997.

Koyner, J.L.; Sher Ali, R.; Murray, P.T. Antioxidants. Do they have a place in the prevention or therapy of acute kidney injury? *Nephron Exp. Nephrol.* 2008, 109, e109–e117.

Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). Aminoglycosides: An overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(6). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029>

Li, N., Luo, M., Fu, Y. J., Zu, Y. G., Wang, W., Zhang, L., Yao, L. P., Zhao, C. J., & Sun, Y. (2013). Effect of corilagin on membrane permeability of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Phytotherapy Research*, 27(10). <https://doi.org/10.1002/ptr.4891>

Linares, L., Cervera, C., Cofán, F., Ricart, M. J., Esforzado, N., Torregrosa, V., ... & Moreno, A. (2007, September). Epidemiology and outcomes of multiple antibiotic-resistant bacterial infection in renal transplantation. In *Transplantation proceedings* (Vol. 39, No. 7, pp. 2222-2224). Elsevier.

Livermore, D. M. (2001). Of *Pseudomonas*, porins, pumps and carbapenems. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 47(3). <https://doi.org/10.1093/jac/47.3.247>

López-Lázaro, M. Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Rev. Med. Chem.* 9, 31–59. 2009.

Mangano, D. T., Tudor, I. C., & Dietzel, C. (2006). The risk associated with aprotinin in cardiac surgery. *New England Journal of Medicine*, 354(4), 353-365.

Mard, S. A., Azad, S. M., & Ahangarpour, A. (2016). Protective Effect of Crocin on Gastric Mucosal Lesions Induced by Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 15(Suppl), 93–99.

McGowan, J. E. (2006). Resistance in nonfermenting gram-negative bacteria: Multidrug resistance to the maximum. *American Journal of Infection Control*, 34(5 SUPPL.). <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.05.226>

Mesaros, N., Nordmann, P., Plésiat, P., Roussel-Delvallez, M., van Eldere, J., Glupczynski, Y., van Laethem, Y., Jacobs, F., Lebecque, P., Malfroot, A., Tulkens, P. M., & van Bambeke, F. (2007). *Pseudomonas aeruginosa*: Resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 13, Issue 6). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01681.x>

Michel-Briand, Y., & Baysse, C. (2002). The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. In *Biochimie* (Vol. 84, Issues 5–6). [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01422-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01422-0)

Mingeot-Leclercq M-P, Tulkens PM. Aminoglycosides: Nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999 May; 43: 1003-1012.

Molina-Salinas, G. M., Ramos-Guerra, M. C., Vargas-Villarreal, J., Mata-Cárdenas, B. D., Becerril-Montes, P., & Said-Fernández, S. (2006). Bactericidal activity of organic extracts from *Flourensia cernua* DC against strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *Archives of medical Research*, 37(1), 45-49.

Navon-Venezia, S., Kondratyeva, K., & Carattoli, A. (2017). *Klebsiella pneumoniae*: A major worldwide source and shuttle for antibiotic resistance. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 41, Issue 3). <https://doi.org/10.1093/femsre/fux013>

Navon-Venezia, S., Leavitt, A., Schwaber, M. J., Rasheed, J. K., Srinivasan, A., Patel, J. B., Carmeli, Y., Rubinovitch, B., Muskovitch, I., Schwartz-Harari, O., Dan, M., Zimhony, O., Bardenstein, R., Lazarovitch, T., Schwartz, D., Keness, Y., Raz, R., Shimoni, Z., & Paikin, S. (2009). First report on a hyperepidemic clone of KPC-3-producing *Klebsiella*

- pneumoniae in Israel genetically related to a strain causing outbreaks in the United States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2). <https://doi.org/10.1128/AAC.00987-08>
- Neves, L. C., da Silva, V. X., Pontis, J. A., Flach, A., & Roberto, S. R. (2015). Bioactive compounds and antioxidant activity in pre-harvest camu-camu [*Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh] fruits. *Scientia Horticulturae*, 186, 223-229.
- NORDMANN, P.; GUIBERT, M. Extended-spectrum β -lactamases in *Pseudomonas*
- Osorio-Esquivel, O., Ortiz-Moreno, A., Álvarez, V., Dorantes-Álvarez, L., & Giusti, M. (2011). Phenolics, betacyanins and antioxidant activity in *Opuntia joconostle* fruits. *Food Research International*, 44, 2160–2168.
- Padayatty, S. J., Katz, A., Wang, Y., Eck, P., Kwon, O., Lee, J. H., ... & Levine, M. (2003). Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its role in disease prevention. *Journal of the American college of Nutrition*, 22(1), 18-35.
- Paiz, R. C., Juárez-Flores, B. I., Aguirre, R. J. R., Cárdenas, O. C., Reyes, A. J. A., García, Ch.E., et al. (2010). Glucose-lowering effect of xoconostle (*Opuntia joconostle* A. Web., Cactaceae) in diabetic rats. *Journal of Medicine Plants Research*, 4, 2326–2333.
- Paller, M.S.; Hoidal, J.R.; Ferris, T.F. Oxygen free radicals in ischemic acute renal failure in the rat. *J. Clin. Investig.* 1984, 74, 1156–1164.
- Pechère, J. C., & Köhler, T. (1999). Patterns and modes of β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Microbiology and Infection*, 5(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1999.tb00719.x>
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 21, Issue 3). <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
- Pickering JW, Endre ZH. The Metamorphosis of Acute Renal Failure to Acute Kidney Injury. In: Sahay M, editor. *Basic Nephrology and Acute Kidney Injury* (Internet). Rijeka: InTech; 2012. pp. 125–49.

Pimienta-Barrios, E., Méndez-Morán, L., Ramírez-Hernández, B., García, A., & DomínguezArias, R. (2008). Efecto de la ingestión del fruto de xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) sobre la glucosa y lípidos séricos. *Agrociencia*, 42, 645–653.

Plazas-Gonzalez, E.A. (2015). Tamizaje fitoquímico preliminar, evaluación de la actividad antioxidante in vitro y toxicidad de seis especies de *Ericaceas* colombianas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 182-199.

Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). *Klebsiella* spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 11, Issue 4). <https://doi.org/10.1128/cmr.11.4.589>

Poirel, L., Madec, J.-Y., Lupo, A., Schink, A.-K., Kieffer, N., Nordmann, P., & Schwarz, S. (2018). Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.arba-0026-2017>

Ponticelli C. Ischaemia-reperfusion injury: A major protagonist in kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(6):1134-1140. doi:10.1093/ndt/gft488

Qiao, X., Li, R. S., Li, H., Zhu, G. Z., Huang, X. G., Shao, S., & Bai, B. (2013). Intermedin protects against renal ischemia-reperfusion injury by inhibition of oxidative stress. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 304(1), F112-F119.

Quiñones, D. (2017). Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque “Una salud.” *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 69(3).

Raffan Sanabria F, Carlos J, Gómez K. Síndrome de reperfusión Fisiopatología, prevención y manejo. 2000.

Rams, T. E., Feik, D., Young, V., Hammond, B. F., & Slots, J. (1992). Enterococci in human periodontitis. *Oral Microbiology and Immunology*, 7(4). <https://doi.org/10.1111/j.1399-302X.1992.tb00034.x>

Ratliff B.B., Abdulmahdi W., Pawar R., Wolin M.S. Oxidant mechanisms in renal injury and disease. *Antioxid. Redox Signal*. 2016;25:119–146. doi: 10.1089/ars.2016.6665.

- Reyes-Agüero, J. A., & Valiente-Banuet, A. (2006). Reproductive biology of *Opuntia*: A review. *Journal of arid environments*, 64(4), 549-585.
- Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, M. A., & Verde-Star, M. J. (2016). Investigación en plantas de importancia médica. *OmniaScience*.
- Rivera, S. E. V., Escobar-Saucedo, M. A., Morales, D., Aguilar, C. N., & Rodríguez-Herrera, R. (2014). Synergistic effects of ethanolic plant extract mixtures against food-borne pathogen bacteria. *African Journal of Biotechnology*, 13(5).
- Rodríguez, D.J., de, Angulo-Sánchez, J.L., Hernández-Castillo, F.D., 2006. Chapter 14 an overview of the antimicrobial properties of Mexican medicinal plants. *Adv. Phytomed.* 3, 325–377. H
- Salazar, R., Pozos, M.E., Cordero, P., Pérez, J., Salinas, M.C & Waksman, N. (2008). Determination of the Antioxidant Activity of Plants from Northeast Mexico. *Pharmaceutical Biology*, Vol.46, No. 3: 166-170, ISSN: 1388-0209.
- Schleifer, K. H., & Kilpper-Balz, R. (1984). Transfer of *Streptococcus faecalis* and *Streptococcus faecium* to the genus *Enterococcus* nom. rev. as *Enterococcus faecalis* comb. nov. and *Enterococcus faecium* comb. nov. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 34(1). <https://doi.org/10.1099/00207713-34-1-31>.
- Seok, Y. M., Kim, J., Park, M. J., Boo, Y. C., Park, Y. K., & Park, K. M. (2008). Wen-pi-tang-Hab-Wu-ling-san attenuates kidney fibrosis induced by ischemia/reperfusion in mice. *Phytotherapy Research*, 22(8), 1057-1063.
- Spandou, E., Tsouchnikas, I., Karkavelas, G., Dounousi, E., Simeonidou, C., Guiba-Tziampiri, O., & Tsakiris, D. (2006). Erythropoietin attenuates renal injury in experimental acute renal failure ischaemic/reperfusion model. *Nephrology dialysis transplantation*, 21(2), 330-336.
- Spellberg, B., Blaser, M., Guidos, R. J., Boucher, H. W., Bradley, J. S., Eisenstein, B. I., Gerding, D., Lynfield, R., Reller, L. B., Rex, J., Schwartz, D., Septimus, E., Tenover, F. C., & Gilbert, D. N. (2011). Combating antimicrobial resistance: Policy recommendations

to save lives. *Clinical Infectious Diseases*, 52(SUPPL. 5).
<https://doi.org/10.1093/cid/cir153>

Srisawat, N., Sileanu, F. E., Murugan, R., Bellomo, R., Calzavacca, P., Cartin-Ceba, R., & Acute Kidney Injury-6 Study Group. (2015). Variation in risk and mortality of acute kidney injury in critically ill patients: a multicenter study. *American journal of nephrology*, 41(1), 81-88.

Strateva, T., & Yordanov, D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* - A phenomenon of bacterial resistance. In *Journal of Medical Microbiology* (Vol. 58, Issue 9).
<https://doi.org/10.1099/jmm.0.009142-0>

Sykes, R. B., & Matthew, M. (1976). The β -lactamases of gram-negative bacteria and their rôle in resistance to β -lactam antibiotics. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (Vol. 2, Issue 2). <https://doi.org/10.1093/jac/2.2.115>

Tamadon, M. R., Baradaran, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2013). Antioxidant and kidney protection; differential impacts of single and whole natural antioxidants. *Journal of renal injury prevention*, 3(2), 41-42.

Tellez, M., Estell, R., Fredrickson, E., Powell, J., Wedge, D., Schrader, K., Kobaisy, M., 2001. Extracts of *Flourensia cernua* (L): volatile constituents and antifungal, antialgal, and antitermite bioactives. *Journal of Chemical Ecology* 27, 2263–2285.

Tilahun, Y., & Welegerima, G. (2018). Pharmacological potential of cactus pear (*Opuntia ficus Indica*): A review. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 7(3), 1360-1363.

Torres-Toledano, M., Granados-García, V., & López-Ocañac, L. R. (2017). Carga de la enfermedad renal crónica en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 55(2), 118-123.

Uzun, I. Fruit and cladodes isosymes in cactus pear. *Acta Hort.* 438: 53-55, 2008.

Valdes, S. I. (1988). Efecto de la densidad de *Flourensia cernua* en la producción de forraje de pastizal mediano abierto. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*.

Valera, B., Gentil, M. A., Cabello, V., Fijo, J., Cordero, E., & Cisneros, J. M. (2006, October). Epidemiology of urinary infections in renal transplant recipients. In *Transplantation proceedings* (Vol. 38, No. 8, pp. 2414-2415). Elsevier.

Villanueva Huallpa, J. A. (2017). Efecto nefroprotector del zumo del fruto de *Opuntia ficus indica* "tuna" variedad morada en ratas inducidas a daño renal por gentamicina.

Wei, J., Wu, H., Zhang, H., Li, F., Chen, S., Hou, B., ... & Duan, H. (2018). Anthocyanins inhibit high glucose-induced renal tubular cell apoptosis caused by oxidative stress in db/db mice. *International Journal of Molecular Medicine*, 41(3), 1608-1618.

Wei, R., Ding, R., Tang, L., & Wang, Y. (2012). Grape seed proanthocyanidin extract reduces renal ischemia/reperfusion injuries in rats. *The American journal of the medical sciences*, 343(6), 452-457.

Westaby, S. (1993). Aprotinin in perspective. *The Annals of thoracic surgery*, 55(4), 1033-1041.

Williams, J. J., & Hergenrother, P. J. (2008). Exposing plasmids as the Achilles' heel of drug-resistant bacteria. *Current opinion in chemical biology*, 12(4), 389-399.

Wu, L., Tian, X., Zuo, H., Zheng, W., Li, X., Yuan, M., ... & Song, H. (2022). miR-124-3p delivered by exosomes from heme oxygenase-1 modified bone marrow mesenchymal stem cells inhibits ferroptosis to attenuate ischemia–reperfusion injury in steatotic grafts. *Journal of nanobiotechnology*, 20(1), 1-20.

Yilmaz, M.I.; Saglam, M.; Caglar, K.; Cakir, E.; Sonmez, A.; Ozgurtas, T.; Aydin, A.; Eyiletten, T.; Ozcan, O.; Acikel, C.; et al. The determinants of endothelial dysfunction in CKD: Oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *Am. J. Kidney Dis.* 2006, 47, 42–50.

Zárate, S. G., Morales, P., Swiderek, K., Bolanos-Garcia, V. M., & Bastida, A. (2019). A molecular modeling approach to identify novel inhibitors of the major facilitator superfamily of efflux pump transporters. *Antibiotics*, 8(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics8010025>