

Evaluación del efecto farmacológico del extracto de *Jatropha macranta* Muell. Arg “huanarpo macho” en pene aislado de conejo.

Evaluation of the pharmacological effect of *Jatropha macranta* Muell. Arg “huanarpo macho” on isolated rabbit penis

Castañeda C, Benjamín*; Castro de la Mata, Ramiro †; Gamarra C, Fabricio*
Universidad de San Martín de Porres

Fecha de recepción: 13/10/09

Fecha de aceptación: 26/10/09

RESUMEN

Introducción. La disfunción eréctil es una patología frecuente en varones mayores de 40 años de edad, por lo que existe gran interés por el conocimiento de su fisiopatología y tratamiento.

Objetivo: Evaluar el efecto del huanarpo macho sobre la fibra muscular lisa del pene de conejo.

Material y Método. Utilizamos los extractos (acuoso, etanólico, clorofórmico y etéreo) de la *Jatropha macranta* Muell. Arg «huanarpo macho», procedente la sierra central del Perú y evaluamos sus efectos en la musculatura lisa del pene de conejo, de raza nueva zelandia. La actividad muscular de cada tira aislada, se midió usando el sistema del Equipo de Baño de órganos aislados Power Lab y Bridge Amp, con el software chart v 4.2.3 A.D.

Resultados. Encontramos que el huanarpo macho, presenta efecto bifásico sobre la musculatura lisa peneanaa, es estimulante a dosis bajas, y relajante a mayores dosis.

Discusión. El efecto relajante del huanarpo macho, podría explicar el efecto afrodisíaca que se le atribuye dentro de la medicina tradicional. Requerimos mayores estudios para determinar los principios activos de la planta, responsables de tales efectos.

Conclusión. El huanarpo macho ejerce actividad sobre la musculatura lisa del pene de conejo, siendo mayor el efecto relajante y dosis dependiente.

Palabras clave: *Jatropha macranta* Muell. Arg, «huanarpo macho», disfunción eréctil, acción relajante

ABSTRACT

Introduction. The erectil disfunction is a frequent alteration in men over forty years, that is why many people interested in knowing the physiopathology and treatment of this pathology.

Objetive. To evaluate the effect of «huanarpo macho» extracts on the smooth muscle of the rabbit penis.

Material and Method. We used total extracts of «Huanarpo macho» collected from the central Peruvian Andes and evaluated its effects on the smooth muscle of the New Zealand lineage rabbit penis. The activity of the penis muscle was registered in an isolated organs bath apparatus Power Lab y Bridge Amp.

Results. We found that the «huanarpo macho» had a biphasic effect on the smooth muscles of the rabbit penis being the relaxing effect the most important. At lower doses it is stimulant whereas at higher doses is relaxing.

Discussion. The relaxing effect of «huanarpo macho» could be the explanation of the aphrodisiac effect attributed to this plant. We need other studies in order to set the principles responsible of such effects.

Conclusion. «huanarpo macho» is active on the smooth muscle of rabbit penis.

Key words: *Jatropha macranta* Muell. Arg, «huanarpo macho», erectil disfunction, relaxing action

INTRODUCCIÓN

Existen diferentes modelos experimentales¹, desarrollados en los últimos años, intentando definir la actividad sobre la función eréctil, en ratas u otros animales, con el objeto de comprobar la presunta actividad afrodisíaca de una variedad de extractos de plantas medicinales, o sustancias usadas en el mercado con estos propósitos.

Está bien establecido que la conducta sexual depende de las hormonas gonadales y que la castración, reduce y, a menudo, elimina el comportamiento sexual, en la mayoría de las especies (Robbins et al, 1996)²

La disfunción eréctil (DE), es el trastorno de la erección en el varón, caracterizada por la incapacidad persistente de conseguir y mantener una erección suficiente que permita una relación sexual satisfactoria (DSM-4) (APA, 1995)³. Se trata de un problema benigno, relacionado con los aspectos físicos y psicológicos de la salud, que tiene un impacto significativo en la calidad de vida de las personas afectadas y de su familia.

La impotencia sexual presenta grados de división, que son:

Impotencia coeundi: Imposibilidad para el coito.

Impotencia erigendi: Incapacidad para la erección del pene.

Impotencia generandi: Incapacidad de procrear, aunque la penetración sea posible. Es sinónimo de esterilidad.

Impotencia psíquica: Es la impotencia que depende de procesos mentales y no de causas físicas.

La DE se puede presentar por alteración de uno o varios de los tres mecanismos responsables de la erección: bloqueo de las arterias; incapacidad de los vasos sanguíneos dentro del pene para almacenar la sangre, o daño en los nervios del pene o del área pelviana. También pueden ser responsables, otras disfunciones fisiológicas, como bajos niveles de hormona masculina (testosterona).

Cuando no hay estimulación sexual, el flujo de sangre dentro del pene es muy bajo, lo que lo mantiene en estado flácido o no erecto. Cuando un hombre es estimulado sexualmente, las arterias del pene se relajan y dilatan, y el flujo sanguíneo hacia el pene aumenta considerablemente. A medida que el pene se expande, las venas del pene -que tendrían que devolver la sangre del pene hacia la circulación de retorno- se comprimen, y la sangre no puede salir. Con más flujo sanguíneo entrando y muy poco saliendo, el pene se vuelve cada vez mayor y más duro.

La prevalencia de la DE, ha sido investigada con diferentes metodologías; el estudio M MAS⁴ informa de la insidencia de DE entre un 44% y 52%, en varones de 40 a 70 años, de ellos el 17.2% presentan DE de grado mínimo, el 25.2% de grado moderado y 9.6%, una DE completa. En el estudio EDEM⁵, realizado en España, se ha visto que el 12% de los hombres de 25 a 70 años de edad, presentan disfunción eréctil.

La disponibilidad de nuevos fármacos, seguros y cómodos, para el tratamiento de la DE, y el interés por el problema, ha generado un aumento de consultas por este motivo

Hay numerosas factores que pueden alterar los mecanismos fisiológicos implicados en la erección. El 55 al 75 % de los casos de DE son debidos a causa orgánica y el 25 al 45 % restante, son por causa psicológica (Arrondo, 1994)⁵, existen muchos casos de etiología mixta: orgánica y psicógena. En los varones mayores de 50 años la causa mas frecuente es la enfermedad vascular (60-80%), otras causas de DE de origen orgánico están relacionadas con problemas neurológicos (10-20%), hormonales (5-10%), alteraciones del pene o por el consumo de

fármacos (25%)

Un factor importante a destacar, en relación con la DE, es la edad; principalmente, a partir de los 50 años, debido a que no son asumidos, por desconocimiento, del varón y su pareja, de los cambios fisiológicos que experimenta la función eréctil en relación a la edad. Se conoce que a partir de los 50 años de edad, se tarda más en conseguir la erección, la capacidad de excitabilidad es menor y el intervalo entre coito y coito es cada vez mayor. A todo ello habría que agregar los factores de riesgo, propios de la edad como: arterioesclerosis, diabetes, vasculopatías, enfermedades sistémicas, tratamientos farmacológicos, etc., disminución de los niveles plasmáticos de testosterona a partir de los 60 años. ((Kaiser y Korenman, 1988^a; Christ et al, 1990)^{5, 6}

Neurotransmisores centrales implicados en la erección

Existen varios sistemas de neurotransmisores relacionados con las funciones sexuales masculinas; uno de ellos lo constituye la serotonina (5-HT), a la que se la ha encontrado tanto en áreas espinales como supraespinales, relacionadas con la sexualidad. Su efecto puede variar, dependiendo del subtipo de receptor de la serotonina presente, de la localización de los mismos y de la especie animal estudiada; pudiendo tener una respuesta inhibitoria o facilitadora de la conducta sexual (de Groat, 1970)⁷.

Otro de los neurotransmisores involucrados en la respuesta sexual masculina, incluyendo la erección peniana, es la dopamina. En humanos, el tratamiento con L-Dopa incrementa la libido y estimula la erección en pacientes con la enfermedad de parkinson (Barbeau, 1969; Vogel y Schiffter, 1983).⁸ Así mismo, en hombres con disfunción eréctil, mejora el grado y frecuencia de erección (Benkert et al., 1972)⁹. Además, se ha observado que la estimulación de los receptores dopaminérgicos, a través de la apomorfina, es capaz de producir erección peniana (Schlatter y Lal, 1972, Segraves et al., 1991)^{10, 11}. En todos estos casos la respuesta eréctil es parcial y no va acompañada de excitación sexual (Julien y Over, 1984; Danjou et al., 1988)^{12, 13}. Sin embargo, dosis altas de apomorfina, inhiben la erección favoreciendo la emisión seminal (Pehek et al., 1988)¹⁴. Todos los efectos descritos, de la apomorfina, sobre la erección peniana, pueden ser bloqueados por antagonistas de los receptores dopaminérgicos como el haloperidol; pero únicamente cuando estos antagonistas son administrados a nivel del sistema nervioso central (Andersson y Wagner, 1995).¹⁵

Otros fármacos relacionados con la conducta sexual, los constituyen los opioides, cuya administración crónica, disminuye la actividad sexual provocando una pérdida de deseo sexual, impotencia y anorgasmia (Crowley y Simpson, 1978; Greenberg, 1984)^{16,17}. Sin embargo, los antagonistas opiodes tienen efectos contradictorios sobre la conducta sexual. Por ejemplo, se ha descrito que la naloxona, en algunos estudios, facilita la conducta sexual (Gessa et al., 1979; McIntosh et al., 1980)^{18,19}, en tanto que en otros, no la modifica o incluso la inhibe (Lieblich et al., 1985; Miller y Baum, 1986).^{20,21}

Las neuronas noradrenérgicas cerebrales, parecen desempeñar un papel importante en la actividad sexual masculina. Se ha comprobado que la administración de agonistas alfa-2 adrenérgicos disminuye la actividad sexual, tal el caso de la clonidina, utilizada como anti-hipertensivo; mientras que los antagonistas alfa-2 adrenérgicos, mejoran la actividad sexual (Clark et al 1985).²²

Además, se conoce que tanto el GABA como la oxitocina, son neuromediadores que intervienen en la regulación de la actividad sexual.

Neurotransmisores periféricos implicados en la erección

El último eslabón de la erección y de la detumescencia del pene, está, también, constituido por mensajeros intercelulares. Unos por producir contracción del músculo liso del cuerpo cavernoso (noradrenalina (NA), serotonina (5-HT), histamina (H), endotelina-1, etc., y otros, por producir relajación del músculo liso (óxido nítrico (NO), péptido intestinal vasoactivo (VIP), prostaglandinas (PG), etc. Stief et al., 1997; Moncada, 1997).^{23,24}

La noradrenalina interviene, fundamentalmente, en la detumescencia del pene y, probablemente la adrenalina circulante produzca los mismos efectos. Conocemos que, tanto la adrenalina como la noradrenalina, actúan sobre receptores alfa adrenérgicos del pene (Saenz de Tejada et al., 1988a)²⁵. El estímulo adrenérgico provoca una vasoconstricción de las arterias del pene y una contracción del músculo trabecular. La acetilcolina es uno de los neurotransmisores involucrados en la erección, aunque existe una gran controversia en el papel que desempeña sobre la misma.

Este neurotransmisor, contrarresta el efecto constrictor de la adrenalina y la noradrenalina (Stief et al., 1989)²³ y aumenta la relajación no adrenérgica no colinérgica (NANC), en particular, la respuesta de la musculatura del pene al óxido nítrico (Simonsen et al., 1997)⁵.

Además de los neurotransmisores adrenérgicos y colinérgicos, hay numerosos estudios que sugieren la participación de otros neurotransmisores tanto en la erección como en la detumescencia (Benson, 1983; Klinge y Sjostrand, 1974)^{26,27}. Uno de los neurotransmisores NANC implicados en la erección es el NO, neurotransmisor que desempeña un rol clave en todos los mecanismos implicados en la erección. Sin embargo, existen muchos otros neurotransmisores NANC involucrados en la erección, tales como los neuropéptidos y los prostanoides. Se ha descrito la presencia de péptidos en nervios del músculo liso de los cuerpos cavernosos y esponjoso, al igual que en nervios de vasos penianos (Andersson y Persson, 1993; Dail et al., 1993)^{5,28}. Uno de ellos es la endotelina-1, un potente vasoconstrictor sintetizado por el endotelio lacunar y, posiblemente, por el propio músculo trabecular (Saenz et al., 1991)⁵. Este hecho sugiere que esta sustancia participa en el mantenimiento del tono del músculo trabecular y por consiguiente en el mantenimiento de la flaccidez del pene. Otro es el neuropéptido Y (NPY), el cual se localiza junto con la NE en neuronas post-ganglionares adrenérgicas y participa, conjuntamente, en la respuesta vasoconstrictora de algunos vasos sanguíneos (Grundemar y Hakanson, 1993)²⁹, incluyendo el sistema vascular del tejido del pene (Carrillo et al., 1991; Crowe et al., 1991)^{30,31}, y con el VIP en tejido cavernoso y arterias helicoidales (Schmalbruch y Wagner, 1989)⁵. El neuropéptido Y (NPY), parece estar involucrado en la detumescencia mas que en la propia erección (Wespes et al., 1988)⁵. La arginina-vasopresina (AVP), se encuentra en el sistema nervioso simpático tanto en neuronas ganglionares como en las fibras nerviosas que inervan los tejidos periféricos (Hanley et al., 1984)⁵. En el cuerpo cavernoso, la AVP, se encuentra en concentraciones más altas que en plasma, lo cual sugiere que este péptido se almacena y/o se sintetiza localmente en el pene (Andersson, 1986). Casi todos los experimentos realizados con la arginina-vasopresina demuestran que este neurotransmisor no se libera en cantidades suficientes para modificar la respuesta eréctil (Andersson, 1986)⁵. Por ello, el papel de este neurotransmisor en la erección es todavía una incógnita.

El péptido intestinal vasoactivo (VIP), se encuentra en los nervios autónomos que inervan los vasos sanguíneos del pene, la albugínea y los cuerpos cavernosos y esponjosos. Está asociado a la acetilcolina, en las vías parasimpáticos del pene (Dail et al, 1983)^{5,32} y está considerado como uno de los principales mediadores de la vía relajante neurogénica de musculatura lisa de los cuerpos cavernosos (Carati et al, 1985). Entre otros mediadores de la relajación de la musculatura lisa, podemos considera a la sustancia P, al péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP)

y la PGE1 como la prostaglandina más importante en la erección peneana (Stief et al, 1993)^{5,31,32}

La *Jatropha macrantha* Mull. Arg. (huanarpo macho), motivo del presente estudio, es una planta monoica de 1_2 m, inflorescencia dicasio, de flores heteroclamídeas pentaméricas, corola rojo claro o anaranjado, fruto en cápsula.

La distribución de la especie, según el estudio realizado, corresponde a los departamentos de Arequipa, Lima, Ancash. Blanca León 2006, afirma que la especie es endémica de Perú y se encuentra en los departamentos de Ancash, Arequipa, Cajamarca, Huánuco, Lima, La Libertad. El tipo de *Jatropha macrantha* Müll. Arg. Se encuentra ubicado en el Missouri Botanical Garden, fue colectado en Huánuco por Ruiz & Pavon s.n, en 1788.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales de Experimentación.

Para la realización del presente estudio, se utilizaron conejos machos de 4 Kg de peso, de la raza nueva zelandia, los que fueron mantenidos en grupos de tres, en jaulas de polipropileno de 25x50x15 cm, con un ciclo constante de luz-oscuridad de 12 horas, teniendo lugar los cambios de luz a la 1 a.m. y a la 1 p.m; a una temperatura de 20 °C y con libre acceso a comida y agua.

En la manipulación y tratamiento de los animales se cumplió, en todo momento, la normativa del Uso y Manipuleo de Animales menores del Instiuto Nacional de Salud Lima Perú.

Los animales fueron anestesiados con pentobarbital (Halatal 30 mg/Kg), administrado por vía intraperitoneal.

Material Biológico.

Jatropha macrantha Müll. Arg.

(*Huanarpo Macho*)

La planta estudiada fue colectada en la carretera central, camino a Santa Eulalia y la calificación botánica fue realizada por la Dra. Berta Loja Herrera (bióloga del Instituto):

Preparación de Extracto:

El extracto acuoso, etanólico, clorofòrmico y de éter etílico se preparó según Técnica de Ciulei.

Preparación y montaje del tejido del músculo o cuerpo cavernoso en conejos.

Siguiendo a Cartledge y Col 2000, utilizamos los cuerpos cavernosos, en todos los experimentos. Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical y el pene fue, rápidamente, disecado y colocado en una solución de Krebs a 4 °C.

Para la extirpación del pene, colocamos a los animales en posición supina e incidimos la piel sobre la superficie dorsal del pene.

La piel del pene es separada y la incisión prolongada hacia el abdomen y al ano. La piel del pene es levantada, lateralmente, para exponer la inserción de los músculos abdominales sobre la sínfisis del pubis. El tejido caudal de la sínfisis del pubis fue suprimido para exponer los músculos complejos de la línea media y las colaterales venosas dorsales del pene. La incisión de las inserciones de los músculos y de la uretra ventral permitió el retiro del pene intacto.

El pene intacto fue colocado en un petri con solución de Krebs a 4°C y burbujeando con una mezcla de O₂ al 95% y CO₂ al 5% a un pH 7,4. Con la ayuda de un microscopio de disección, binocular, se retiró el tejido conectivo y se extrajo la adventicia. Todo el músculo esquelético de la parte proximal del muslo fue retirado para exponer el cuerpo cavernoso que rodea la uretra.

El cuerpo esponjoso fue separado de la túnica albugínea subyacente, próxima a la dirección distal, al nivel de la división en la base de las glándulas penéneas. Luego, el pene fue volteado para exponer el complejo venoso dorsal, que también fue suprimido. La incisión de la gruesa túnica albugínea del pene, permite la exposición de los cuerpos cavernosos. Una tira del cuerpo cavernoso fue disecada, separándola, de la línea media, de la túnica albugínea, dejando una fina túnica lateral intacta, adherida al cuerpo. Este proceso fue repetido en el lado contra lateral para producir dos tiras idénticas, aproximadamente 3.63mm. Un extremo del cuerpo cavernoso fue atado a una cuerda floja de seda de 4 ± 0 cm de longitud; el otro extremo va unido a una barra de cristal, para formar un gancho en cada extremo, usando seda de las mismas características.

La contractilidad de cada tira aislada, se midió usando el sistema del Equipo de Baño de órganos aislados Power Lab y Bridge Amp, con el software chart v 4.2.3 A.D. Instruments for Windows

Las respuestas de las tiras de los cuerpos cavernosos del pene, bajo todas las condiciones experimentales, fueron calculadas de la siguiente manera:

$$\text{Respuesta de Relajación} = \frac{(\text{Máxima contracción} - \text{Relajación a dosis aplicada})}{\text{Máxima Concentración}}$$

Respecto a la preparación de la Sol. Nutricia se utilizó las soluciones de Tyrode, Krebs y Krebs modificada, para proceder a realizar la standarización del Equipo de Baño de órganos aislados con un pH de 6-7 a una temperatura de 37^o Celsius, de la siguiente forma.

Tyrode:

Canal 1: con pH 6 y Temperatura 37 °C

Canal 2: con pH 7 y Temperatura 37 °C

Krebs: Canal 1: con pH 6 y Temperatura 37 °C

Canal 2: con pH 7 y Temperatura 37 °C

Krebs modificada:

Canal 1: con pH 6 y Temperatura 37 °C

Canal 2: con pH 7 y Temperatura 37 °C

Una vez finalizadas las pruebas, se procedió a comparar los resultados con la finalidad de estandarizar la Técnica de Investigación en músculo cavernoso.

Se procedió a observar la contracción, aplicando, al órgano aislado, las siguientes concentraciones de Acetilcolina.

- Acetilcolina 5 x 10⁻⁶ M (o 1 ug acetylcholine chloride / ml.)
- Acetilcolina 5 x 10⁻⁵ M (o 10 ug acetylcholine chloride / ml.)
- Acetilcolina 5 x 10⁻⁴ M (o 100 ug acetylcholine chloride / ml.)
- Acetilcolina 5 x 10⁻³ M (o 1000 ug acetylcholine chloride / ml.)
- Acetilcolina 5 x 10⁻⁶ M (o 10000 ug acetylcholine chloride / ml. o 10 mg/mL)

PREPARACIÓN IN VITRO

Para todos los experimentos in vitro, las tiras del cuerpo cavernoso fueron fijadas, entre un punto fijo, por la sutura de seda floja, y un transductor isométrico por una barra de cristal enganchada. La tira fue suspendida en un baño de órgano entre los electrodos de platino paralelos que permitieron que fuera sumergido en la solución de Krebs con O₂ al 95% y CO₂ al 5%; temperatura constante de 37^o centígrados y pH 7.4. La temperatura fue mantenida en el baño de órganos aislados, por el agua circulante a través de una chaqueta circundante. El agua también fue circulada en un sistema cerrado para asegurarse de que la solución común de Krebs fuera calentada a 37 C. La oxigenación de la solución de Krebs, se mantuvo mediante la circulación de una mezcla de O₂ y CO₂ al 95 y 5 %, respectivamente. La solución de Krebs fue renovada totalmente cada 15 minutos, durante períodos del equilibrio. La señal del transductor de fuerza fue pasada por el puente canal a un amplificador (Fylde 492BBs, laboratorios electrónicos Ltd, Preston, Reino Unido de Fylde) y un @lter de 50 hertzios a un registrador depluma Ltd (de electromed MX216, de Lectromed (Reino Unido), Letchworth, Reino Unido). Al principio de cada experimento, el amplificador del puente era equilibrado y el registrador de pluma fue calibrado de modo que la tensión activa, entre 0 y 500mg, se pudiera registrar después del uso de la tensión de reclinación óptima.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La comparación de la respuesta de los tejidos del músculo cavernoso a diferentes rangos de dosis de Acetilcolina, adrenalina y extractos de plantas se ejecutaron calculando las Medias, t de student, Análisis de varianza (ANOVA) en la base de datos SPSS, aplicando a su vez nivel de significancia.

RESULTADOS

Los resultados son presentados en las gráficas que acompañamos a continuación:

En la gráfica N^o 1, apreciamos los registros del efecto relajante del huanarpo macho en los diferentes canales de registro, pudiendo apreciar que presenta diferencias en todos ellos. Haciendo un consolidado de los efectos, en los diferentes canales de registro, obtenemos la representación consignada en la gráfica 2, en la que vemos que el efecto relajante es dosis dependiente y que una vez alcanzada la máxima respuesta, ésta no se

incrementa con el aumento de la dosis.

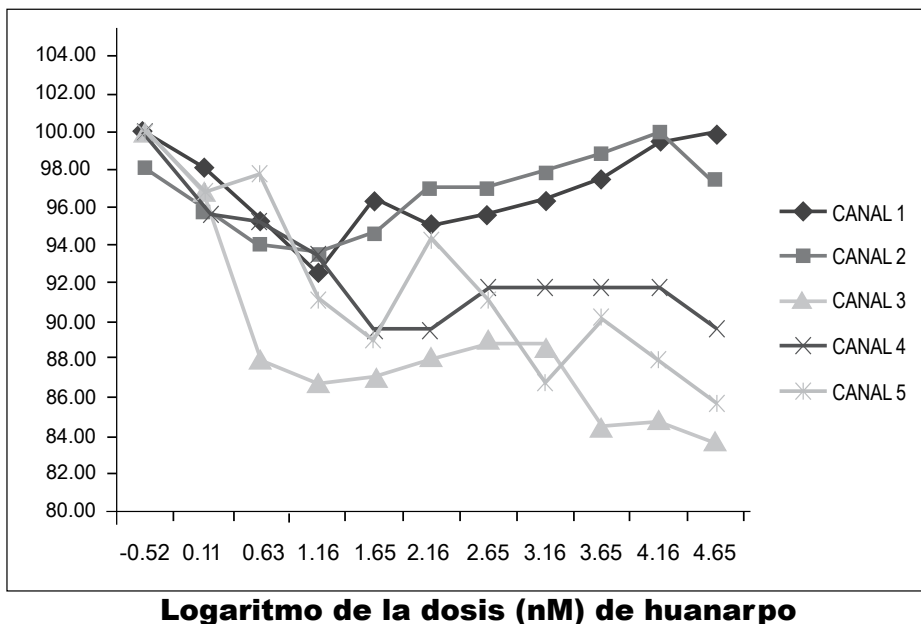
La misma consideración podemos hacer en relación al efecto estimulante (contráctil) de la fibra lisa del pene, representado en las gráficas 3 y 4.

En la gráfica N° 5, podemos apreciar que el efecto relajante del huanarpo macho, se presenta a partir de una dosis equivalente al logaritmo de concentración 2.78; dosis menores a las correspondientes al logaritmo 3.00, ejerce un efecto constrictor de la musculatura peneana del conejo (gráfica N° 6). En la gráfica N° 7, apreciamos el efecto de la adrenalina sobre la actividad motora del pene de conejo; apreciamos, claramente, que aumenta el tono de la contracción, elevando la línea de base.

En la gráfica N° 8, representamos el efecto relajante del extracto del huanarpo macho, pudiendo apreciar que la acción relajante se mantiene entre un marco amplio de dosis; diferente a la actividad contráctil, representada en la gráfica N° 9, donde apreciamos que la acción contráctil del huanarpo, sobre la musculatura peneana del conejo, sólo se presenta con dosis baja y es menos consistente.

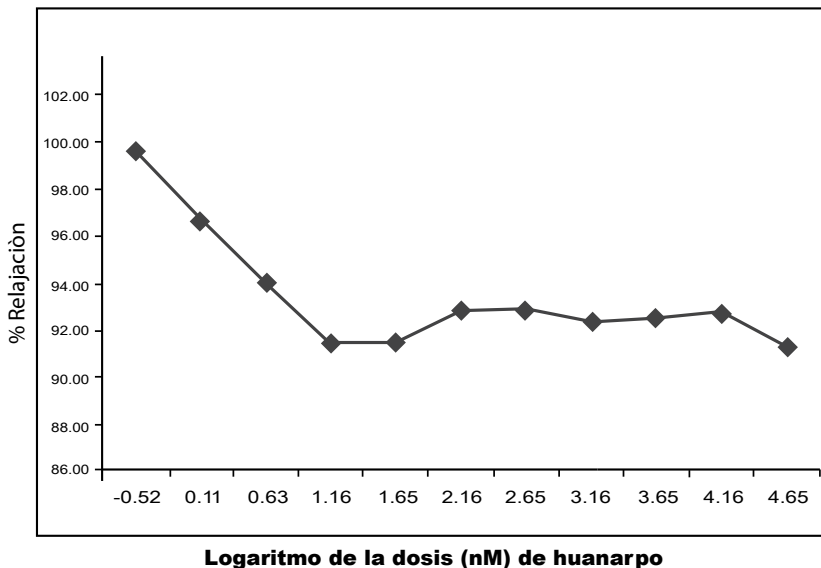
Grafica 1

Efecto relajante del *Jatropha macranta* (huanarpo macho) sobre la musculatura lisa peneana ex vivo de conejo. FMH USMP 2008



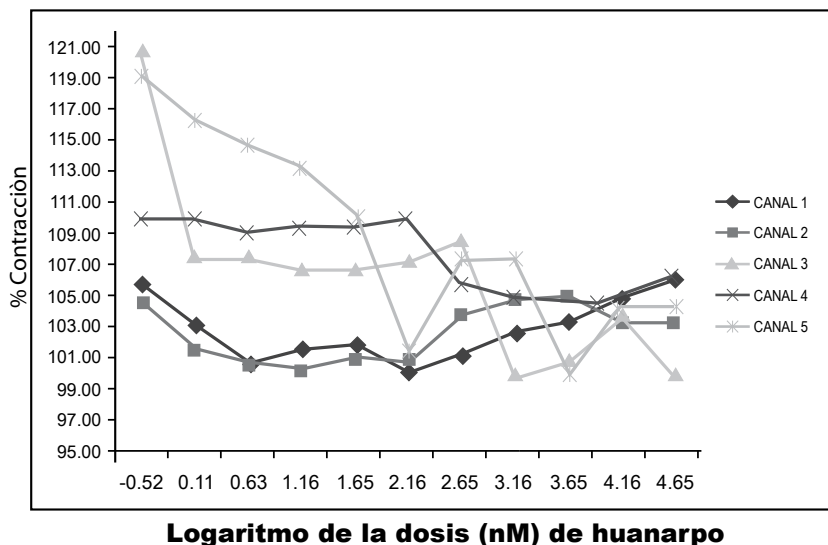
Grafica 2

Evaluación del efecto relajante del *Jatropha macranta* "Huanarpo macho" en la musculatura lisa peneana ex vivo de conejo. Julio 2008



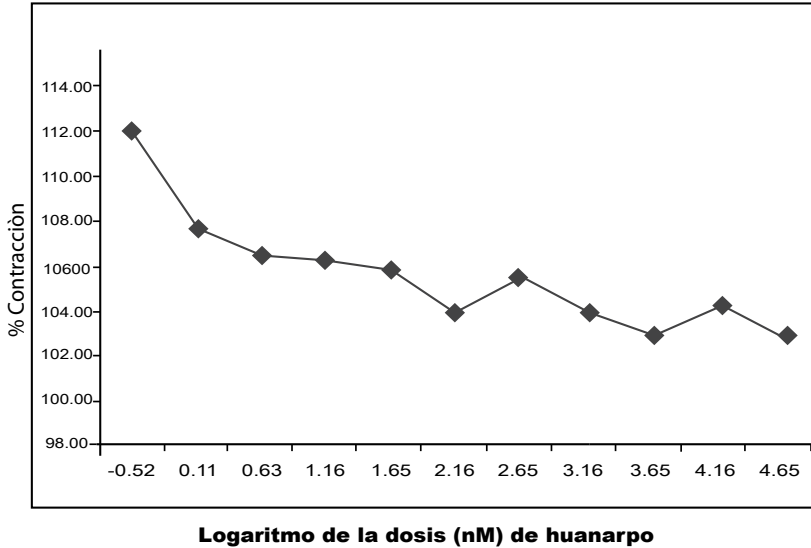
Grafica 3

Efecto contractil de la *Jatropha macranta* (huanarpo macho) en la musculatura lisa peneana ex vivo de conejo. FMH USMP 2008



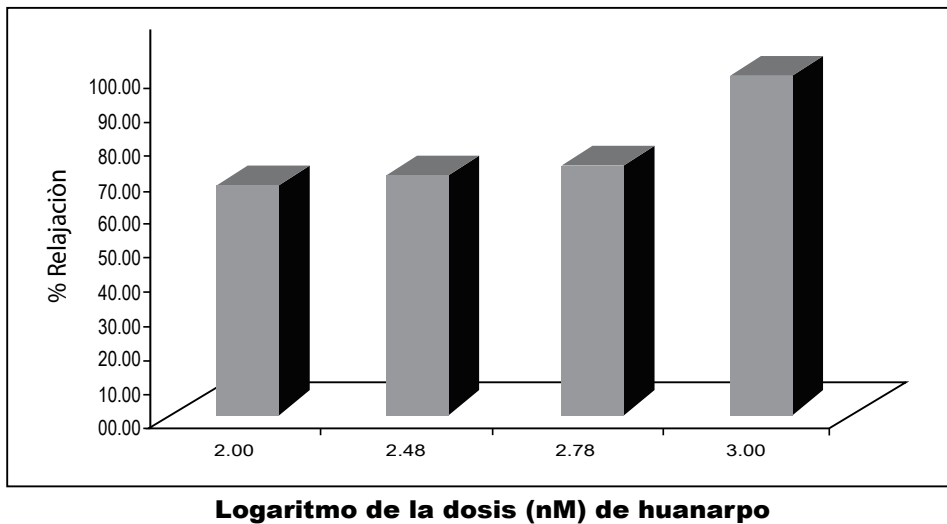
Grafica 4

Evaluación del efecto contráctil del *Jatropha macranta* "Huanarpo" sobre la musculatura peneana ex vivo de conejos. Julio 2008



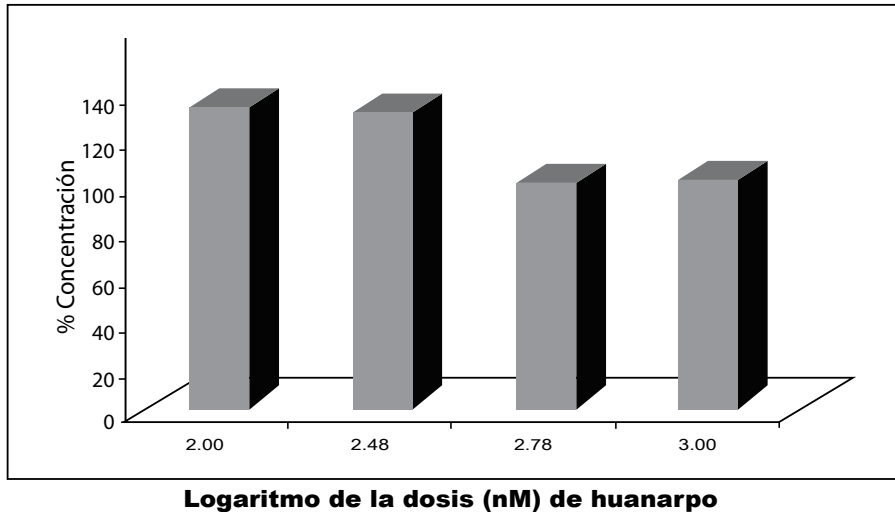
Grafica 5

Evaluación del efecto relajante de la musculatura lisa peneana de conejo mediante órganos aislados FMH USMP 2009



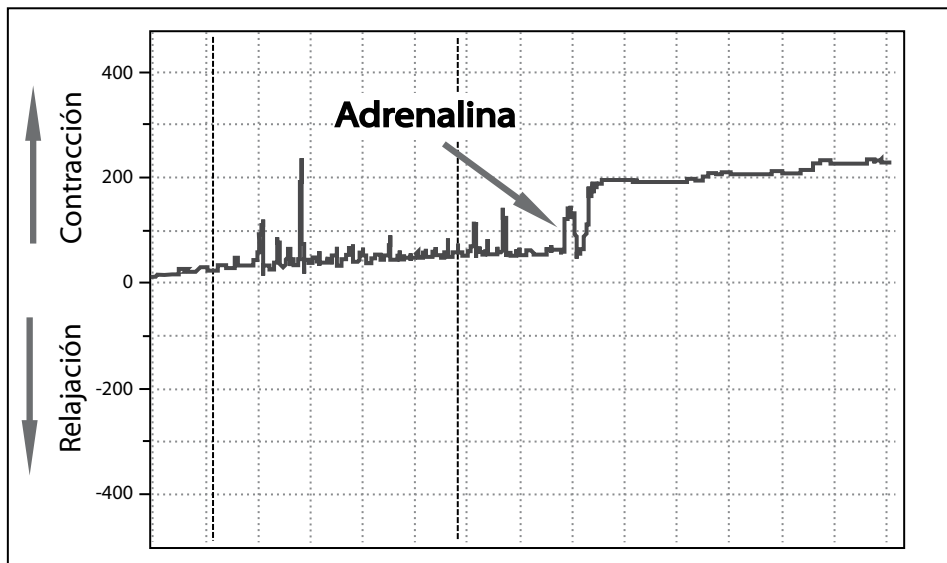
Grafica 6

Evaluación de la concentración muscular peneana en conejo del *Jatropha macranta*. FMH USMP 2009



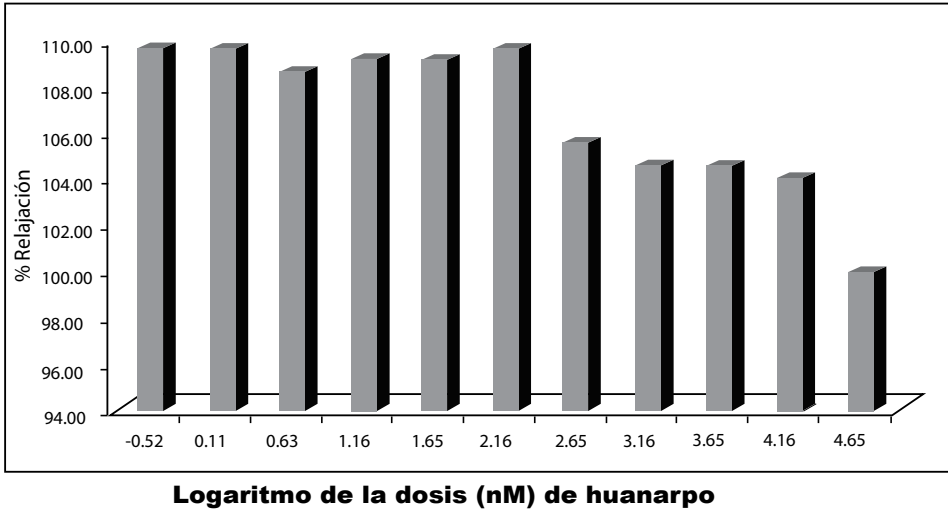
Grafica 7

Efecto de la adrenalina 1 ug/ml (0,4 ml) en musculo peneano



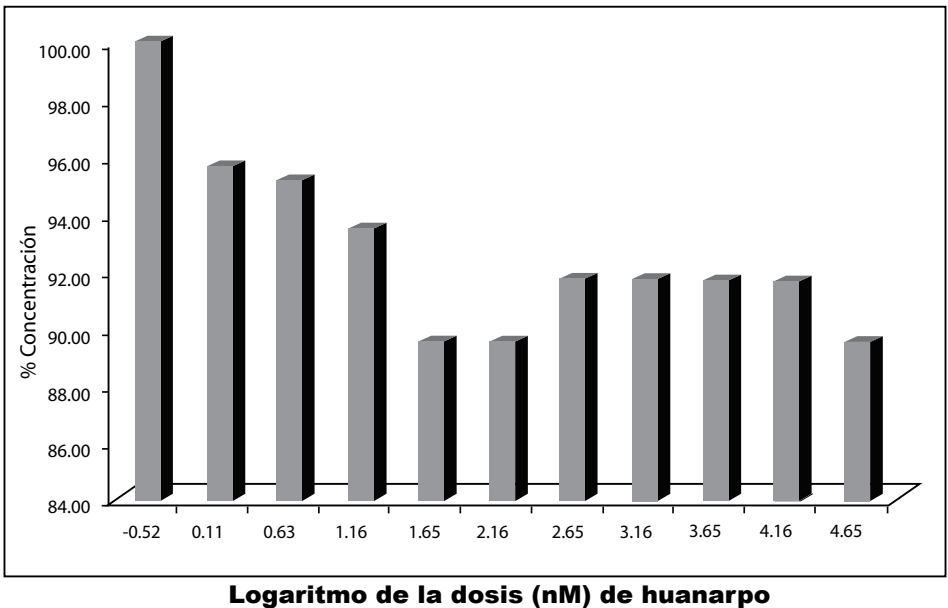
Grafica 8

Evaluación del efecto relajante del *Jatropha macranta* "Huanarpo macho" en la musculatura lisa peneana ex vivo de conejos. Julio 2008



Grafica 9

Evaluación del efecto contractil del *Jatropha macranta* "Huanarpo" sobre la musculatura lisa peneana ex vivo de conejos. Julio 2008



DISCUSIÓN

La disfunción eréctil o impotencia erigendi (a veces llamada, incorrectamente, sólo impotencia) es la incapacidad repetida de lograr o mantener una erección, lo suficientemente firme, como para tener una relación sexual satisfactoria. La disfunción eréctil (DE) puede ser una incapacidad total para lograr una erección, una capacidad inconsistente para hacerlo, o una tendencia a tener solamente erecciones breves. Estas variaciones hacen difícil definir la DE y calcular su incidencia real; sin embargo, las estadísticas consignan entre 20 y 30 millones de casos totales. En los Estados Unidos se incrementaron las consultas médicas de los varones, por esta patología, de 7.7 a 22.3 por mil varones, entre 1985 y 1999

La erección peneana, requiere una secuencia precisa de eventos, por lo que la disfunción puede presentarse, al interrumpirse cualquiera de ellos. La secuencia completa incluye los impulsos de los nervios en el cerebro, en la columna vertebral y en el área alrededor del pene, así como las respuestas de los músculos, los tejidos fibrosos, las venas y las arterias, en y cerca de los cuerpos cavernosos.

Dada la alta frecuencia con que se presenta la DE en los varones, a nivel mundial, y las variadas causas que la originan, no es de sorprender, el interés que han demostrado, diversos investigadores, en reconocer sus causas y la manera de prevenir o tratar esta patología^{31,32,33}. La Medicina Tradicional, no es ajena a esta preocupación y desde antaño se han utilizado una gran variedad de plantas y otros productos naturales para combatirla.^{34,35,36,37,38,39,40,41,42}

Entre estas plantas, destaca el huanarpo macho, motivo del presente estudio.

Definitivamente, encontramos que los extractos totales del huanarpo, modifican la actividad de la musculatura lisa del pene en la especie animal estudiada (conejo), tal como podemos apreciar en las gráficas N° 2,4, 5, 6, 8 y 9.

El efecto del huanarpo sobre la musculatura peneana del conejo es bifásico, dependiendo de las dosis empleadas; a dosis menores predomina el efecto constrictor, mientras que a mayores dosis el efecto predominante es el relajante. Tal como podemos apreciar en la gráfica N° 8, el efecto relajante del huanarpo macho, sobre la musculatura peneana del conejo, se presenta en un margen de variación importante de las dosis, a diferencia de la actividad contráctil, que se presentó a una determinada dosis, para desaparecer al incrementar la concentración de la misma; todo lo cual nos lleva a afirmar que el efecto del huanarpo macho, sobre la musculatura

peneana es, fundamentalmente, relajante. Al relajar la musculatura lisa peniana (y probablemente vascular), favorecería el llenado de los cuerpos cavernosos con la consecuente erección peneana, lo que explicaría su efecto beneficioso. Obviamente, requerimos mayores estudios para dilucidar los mecanismos de acción y los principios activos responsables del mencionado efecto. Sócrates decía "Dios da la enfermedad y la planta que la cura", nos corresponde a los investigadores, encontrar esa planta.

CONCLUSIONES

Del estudio realizado sobre la *Jatropha macranta* Muell. Arg "huanarpo macho", en el laboratorio de la Facultad de Medicina de la USMP, podemos concluir que:

1. Se puede implementar métodos sencillos para estudio, en animales, de diferentes productos naturales
2. La *Jatropha macranta* Muell. Arg "huanarpo macho" modifica la actividad contráctil de la musculatura lisa del pene de conejo
3. La *Jatropha macranta* Muell. Arg "huanarpo macho", presenta un efecto bifásico sobre la musculatura lisa peneana, siendo excitomotora a menores dosis y relajante a dosis mayores.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Alberto Salazar Granara, por su colaboración en la presentación del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Hedlund Setter, Matsumoto Kenshi, Anderson Karl-Erik. Basic Protocol I. Current protocols in Pharmacology (2005) 5.41.1-5. 41.22
- Robbins, RA; Floreani, AA; Von Esen, SG; Sison, JH; Hill, GE; Rubinstein, I; & Townley, RG (1996). Measurement of exhaled nitric oxide by three different techniques. Am. J. Respir. Critic Care Med. 153. 1631-1635
- APA (1995). DSM-IV. Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales. Masson s.a.
- Mas M., Gonzalez- Mora JL., Louilot A., Solé C., Guadalupe T (1990). Increased dopamine release in the nucleus accumbens of copulating

male rats as evidenced by in vivo voltammetry. *Neuroscience Letters* 110: 303-308.

Escrig Monferrer, Ana Ester. (1999)- Papel del óxido nítrico en la erección del pene: implicancias fisiopatológicas. Tesis doctoral. Universidad de la Laguna. Facultad de Medicina

Kaiser, FE & Korenman, SG (1988^a). Impotente in diabetic men. *Am J Med.* ; 85, 147-152

de Groat, WC (1970). The actions of gamma-aminobutyric acid and related amino acids on mammalian autonomic ganglia. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 172, 384-396

Barbeau, A (1969). L-DOPA therapy in Parkinson's disease: a critical review of nine years experience. *Can. Med. Assoc. J.* ; 101, 791-800

Benkert O; Crombach, G; & Kockott, G (1972). Effect of L-dopa on sexually impotent patients. *Psychopharmacologia.*, 23, 91-95

Schlatter, EKE & Lal, S (1972). Treatment of alcoholism using Dent's oral apomorphine method. *Q. J. Stud. Alcohol.*, 33, 430-436

Segraves RT; Bari, M; Segraves, K; & Spirnac, P (1991). Effect of apomorphine on penile tumescence in men with psychogenic impotence. *J. Urol.*, 145, 1174-1175

Julien, E & Over, R (1984). Male sexual arousal with repeated exposure to erotic stimuli. *Arch. Sex. Behav.* , 13, 211-221

Danjou, P; Alexander, L; Tarot, D; Lacomblez, L, & Puech, AJ (1988) assessment of erectogenic properties of apomorphine and yohimbine in man. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 26, 733-739

Pehek, EA; Thompson, JT; Eaton, RC; Bazzett, TJ & Hull, EM (1988). Apomorphine and haloperidol but not Domperidone, affect penile reflexes in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* , 31, 201-208

Anderson, KE & Wagner, G (1995). Physiology and penile erection. *Physiol. Rev.* , 75, 191-238

Crowley, TJ & Simpson, A (1978). Methadone doses and human sexual behavior. *Int. J. Addict.*, 13, 285-295

Greenberg, A (1984). Effects of opiates on male orgasm. *Med. Human aspects Hum. Sex.*, 18, 207-210

Gessa, GL; Paglietti, E, & Pellegrini-Quarantotti, B (1979). Induction of copulatory behavior in sexually inactive rats by naloxone. *Science Wash DC*, 204, 203-205

- Mcintosh, TK; Vallano, ML & Barfield, LJ (1980). Effects of morphine, betaendorfin and naloxone on catecholamine levels and sexual behavior in the male rat. *Pharmacol. Biochem. Beba.*, 13, 435-441
- Lieblich, I; Baun, MJ; Diamond, P; Goldblum, N; Iser, C & dic, CG (1985). Inhibition of mating by naloxone or morphine in recent castrated, but not intact male rats. *Pharmacol. Biochem Behav.*, 22, 381- 364
- Miller, RL & Baum, MJ (1986). Naloxone inhibits mating and conditioned place preference for and aversive female in male rats. *Pharmacol. Biochem. Beba.*, 28, 781- 789
- Clark, JT; Kaira, PS; & Kaira, SP (1985). Neuropeptide Y stimulates feeding but inhibits sexual behavior in rats. *Endocrinology.*, 117, 2435-2442
- Stieff, CG; Noack, T & Andersson, KE (1997). Signal transduction in cavernous smooth muscle. *World J. Urol.*, 15, 27-31
- Moncada, S (1997). Nitric oxide in the vasculature: Physiology and pathophysiology. *Ann. N. Y. Acad. of Sci.*, 811, 60-67
- Saenz de Tejada, I; Blanco, R; Goldstein, I; Azadsoi, K; de las, M; Krane, RJ & Cohen, RA (1988a). Cholinergic neurotransmission in human corpus cavernosum. I. Responses of isolated tissue. *Am. J Physiol.*, 254, H459-H467
- Benson, GS (1983). Penile erection. In search for a neurotransmitter. *World J. Urol.*, 1, 209-212
- Klinge, E & Sjostrand, NO (1974). Contraction and relaxation of the retractor penis muscle and the penile artery of the bulb. *Acta Physiol. Scand. Suppl.*, 420, 1-88
- Andersson, KE & Persson (1993). The L-arginine/nitric oxide pathway and non-adrenergic non-cholinergic relaxation of the lower urinary tract. *Gen. Pharmacol.*, 24, 833-839
- Grundemar, L & Hakanson, R (1993). Multiple neuropeptide Y receptors are involved in cardiovascular regulation. Peripheral and central mechanisms. *Gen. Pharmacol.*, 24-785.796.
- Carrillo, I; Fernandez, E; Dail, WG & Walton, G (1991). Distribution and origin of neuropeptide Y-immunoreactive fibers in the penis of the rat. *Cell. Tissue Res.*, 264, 127-132
- Crowe, R; Burnstock, G; Dickinso, LK & Prior, JP (1991). The human penis: an unusual penetration of NPY-immunoreactive nerves within the medial muscle coat of the deep dorsal vein. *J. Urol.*, 145, 1292-1296.

- Escrig A., Marín R, Abreu P, Gonzalez-Mora JL, Mas M.(2002) Changes in mating behavior, erectile function, and nitric oxide levels in penile corpora cavernosa in streptozotocin-diabetic rats. *Biology of Reproduction* 66: 185-189
- Chainarong T, Yuthana S, Rattima J.(2006). *Butea superba* Roxb. Enhances Penile Erection in Rats. *Phytotherapy Research* 20: 484-489
- Sophon Roengsumran, Amorn Petsom, Nattaya Ngamrojana.(2000). Flavonoid and Flavonoid glycoside from *Butea superba* Roxb. and their cAMP Phosphodiesterase Inhibitory Activity. *J. Sci Res. Chula. Univ.* 25(1):169-176
- Siegfried E Drewes, Marion M Horn, Orde Q Munro.(2002). Pyranoisoflavones with erectile-dysfunction activity from *Eriosema Kraussianum*. *Phytochemistry* 59: 739-747
- M.T Yakubu, M.A, Akanji, A.T, Oladiji.(2005). Aphrodisiac potentials of the aqueous extract of *Fadogia agrestis* (Schweinf. Ex Hiern) stem in male albino rats. *Asian J Andrology* 7 (4): 399-404
- Enrico de Andrade, Alexandre A de Mesquita, Joaquim de Almeida Claro.(2007). Study of the efficacy of Korean Red Ginseng in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J Andrology* 9 (2): 241-244
- Angelyne Benavides, Paola Montoro, Carla Bassarello, Sonia Piacente, Cosimo Pizza.(2006). Catechin derivatives in *Jatropha macrantha* stems: Characterization and LC/ESI/MS/MS quali-quantitative analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 40: 639-647
- Masami Oshima, Yeunhwa GU and Sekihito T (2003).. Effects of *Lepidium meyenii* Walp and *jatropha macrantha* on blood levels of estradiol-17, progesterone, testosterone and the rate of embryo implantation in mice *Theriogenology* 1145-1146.
- Yufeng Huang, Lianjun Pan, Xinyi Xia (2008). Long-Term effects of phytoestrogen daidzein on penile cavernosal structures in adult rats. *Urology* 72 (1):220-224
- Shoeb Qureshi, S.S, Al-Rejaie.(2006). Search of Non-Toxic Therapeutic Solution to erectile dysfunction and/or impotence in men. *Pharmacognosy Magazine* 1-15
- E, Antunes, W.M.Gordo, J.F. de Oliveira, C.E Teixeira, S (2001). The relaxation of isolated rabbit corpus cavernosum by the herbal medicine catuama and its constituents *Pharmacognosy Magazine* 15: 416-421

ANEXOS

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Las tiras fueron equilibradas en Krebs por 1 h (en 37°C en todas las etapas del experimento) antes de proceder con el experimento. Kp alto Krebs (Kp 109 NaCl substituidos mmol=l) substituyó el Krebs normal en los compartimientos y la contracción isotónica fue registrado hasta alcanzar un estado constante, generalmente, en 15 - 20 minutos.

Las tiras fueron lavadas con Krebs normal, por lo menos, dos veces y los músculos fueron permitidos de volver a la relajación completa (en cerca de 30 minutos). El músculo fue contraído, substituyendo el Krebs normal por contenido de fenilefrina (2.5 mililitros).

Después de alcanzar el pico de la fuerza de la contracción (aproximadamente 5 - 10 milímetros), la solución fue substituida por Krebs que contenía fenilefrina (los 250mM) y nitroprusiato del sodio (SNP), solo (300 nM) o ambos SNP (300 nM) y una de las drogas, (el sildenafil o JPM8, 100 - 400 nM). El efecto sobre la relajación fue registrado durante 30 minutos (n¹/₄10 para JPM8, n¹/₈ para el sildenafil). La disminución registrada de la fuerza de la contracción (contracción residual) fue calculada como porcentaje (%) de la contracción máxima obtenida con fenilefrina, inmediatamente antes de agregar la droga. Las medidas fueron hechas en 1, 2, 5, 10, 15, 20, 25 y 30 minutos. Un expediente representativo del protocolo experimental se demuestra en el cuadro 2.

PREPARACIÓN DEL TEJIDO FINO

Según **Matthias E, Werner y col 2005**. Los ratones fueron preparados según lo descrito previamente (Meredith et al. 2004). Todos los procedimientos realizados en el curso de este estudio fueron aprobados por la oficina de la gerencia del cuidado animal en la universidad de Vermont. Ratones adultos machos (10-20 semanas de edad; y 30 g de peso corporal) fueron matados con la inyección intraperitoneal del pentobarbital sódico (150 mg kgS¹) seguido de una toracotomía. Para los estudios in vitro y la immuno-histoquímica, el pene fue quitado y colocado inmediatamente en la solución helada de la disección (DS; (milímetro): 80 glutamatos monosódicos, 55 NaCl, 6 KCl, 10 glucosa, ácido 10N-2-hydroxyethylpiperazine-N-2 ethanesulphonic (Hepes), 2 mgCl₂, pH 7.3 ajustado con el NaOH).

Tratamiento del órgano aislado con diferentes extractos y medicamentos.

Una vez aislado el órgano se procedió al tratamiento con diferentes extractos y medicamentos que actúan a este nivel, como el sildenafil (Viagra).

- Colocamos la Línea Base y esperamos unos minutos para estabilizar el equipo.
- Las respuestas contráctiles de las tiras fueron analizadas, agregando al baño, acetilcolina, en concentraciones que van desde 5×10^{-2} M a 5×10^{-6} M (1 ug/mL), Adrenalina a una concentración de 5×10^{-5} M (20 ug/mL) y los cambios de la fuerza fueron registrados en respuesta al uso de la sustancia y al estímulo del campo eléctrico. El estímulo del campo eléctrico para este ensayo se encuentra en el rango de 10 mV el paso alto «High Pass» en DC y el paso bajo «Low Pass» a 200 Hz.
- Posteriormente aplicamos los extractos de la planta medicinal peruana, con actividad sobre la función eréctil: el extracto acuoso 10 mg/ mL, extracto etanólico al 15 y 30 % igualmente con los otros extractos del huanarpo macho.
- Como patrón comparativo usamos la solución de una tableta de 50 mg de sildenafil.
- Todas estas sustancias, son administradas en un volumen de 0.2 mL de la solución, cada 2 minutos, empezando con la de menor concentración, lavando siempre el órgano aislado, en el equipo, con solución de Tyrode.

RELAJACIÓN DEL MÚSCULO LISO DEL CUERPO CAVERNOSO DEL CONEJO.

El pene del conejo maduro de Nueva Zelandia (3.0 - 4.0 kilogramos) fue disecado y separado de todo el tejido fino circundante.

El cuerpo cavernoso fue cortado longitudinalmente y luego diagonalmente en tiras. Cada tira, tenía cerca de 2mm de grosor y 7 - 8mm de largo. Las tiras fueron mantenidas en una solución de Krebs bien oxigenada (solución de Krebs contenía, mmol/l, NaCl 125, NaHCO₃ 20, KCl, NaH₂PO₄ 1.8, MgSO₄ 1.8, CaCl₂ 1.8, glucosa 10 y HEPES BUFFER 10, pH 7.2 - 7.4). La solución fue oxigenada con una mezcla de O₂ al 95% y el CO₂ al 5% por 30 minutos y guardada a 4^o C hasta utilizarla.

El tejido fino fue montado en una cámara de tejido water-jacketed de 25ml y oxigenado, continuamente, durante 1 h antes de comenzar el experimento.

El músculo contrajo contra un peso de cerca de 2 g. El transductor isotónico de Harvard registró la contracción = relajación del músculo que fue conectado con el oscilógrafo universal de Harvard.

Antes de cada experimento, el transductor fue calibrado tres veces con 0.5 g de peso.

CANAL 1

uL		VOLTAJE	TIEMPO	%	log conc
100	Mín	-1,9406	17 25 525	67,45	2,00
	Máx	-0,7913	6 25 319	133,49	
300	Mín	-2,0428	27 23 016	71,00	2,48
	Máx	-0,7728	31 20 759	130,36	
600	Mín	-2,1197	2 56 47	73,67	2,78
	Máx	-0,5928	15 15 42	100,00	
1000	Mín	-2,8772	45 44 864	100,00	3,00
	Máx	-0,5994	23 17 24	101,11	

CANAL 2

uL		VOLTAJE	TIEMPO	%	log conc
100	Mín	-2,6716	17 52 035	67,24	2,00
	Máx	-1,7253	21 12 958	115,69	
300	Mín	-3,6913	31 20 576	92,90	2,48
	Máx	-1,7828	21 19 653	119,55	
600	Mín	-3,4872	3 05 806	87,76	2,78
	Máx	-1,6759	18 42 303	112,38	
1000	Mín	-3,9734	20 37 512	100,00	3,00
	Máx	-1,4913	9 04 429	100,00	

TABLA 1

Evaluación del extracto alcohólico de *Jatropha macrantha*, en musculatura lisa peneana de conejos, mediante órgano aislado. Laboratorio de Farmacología. Facultad de medicina Humana; Universidad de La Laguna-Tenerife, España. Julio 2008.

Dosificación (uL)	RELAJACIÓN %	Concentración log conc (nM)
0,30	100,00	-0,52
1,30	98,08	0,11
4,30	95,33	0,63
14,30	92,58	1,16
44,30	96,43	1,65
144,30	95,05	2,16
444,30	95,60	2,65
1444,30	96,43	3,16
4444,30	97,53	3,65
14444,30	99,45	4,16
44444,30	100,00	4,65

* CANAL 1, Power Lab for Windows

TABLA 2

Evaluación del extracto alcohólico de *Jatropha macrantha*, en musculatura lisa peneana de conejos, mediante órgano aislado. Laboratorio de Farmacología. Facultad de medicina Humana; Universidad de La Laguna-Tenerife, España. Julio 2008.

Dosificación (uL)	RELAJACIÓN %	Concentración log conc (nM)
0,30	98,06	-0,52
1,30	96,13	0,11
4,30	93,95	0,63
14,30	93,46	1,16
44,30	94,67	1,65
144,30	96,85	2,16
444,30	96,85	2,65
1444,30	97,82	3,16
4444,30	98,79	3,65
14444,30	100,00	4,16
44444,30	97,34	4,65

*** CANAL 2, Power Lab for Windows**

TABLA 3

Evaluación del extracto alcohólico de *Jatropha macrantha*, en musculatura lisa peneana de conejos, mediante órgano aislado. Laboratorio de Farmacología. Facultad de medicina Humana; Universidad de La Laguna-Tenerife, España. Julio 2008.

Dosificación (uL)	RELAJACIÓN %	Concentración log conc (nM)
0,30	100,00	-0,52
1,30	96,77	0,11
4,30	87,98	0,63
14,30	86,80	1,16
44,30	87,10	1,65
144,30	87,98	2,16
444,30	88,86	2,65
1444,30	88,86	3,16
4444,30	84,46	3,65
14444,30	84,75	4,16
44444,30	83,58	4,65

* CANAL 3, Power Lab for Windows

TABLA 4

Evaluación del extracto alcohólico de *Jatropha macrantha*, en musculatura lisa peneana de conejos, mediante órgano aislado. Laboratorio de Farmacología. Facultad de medicina Humana; Universidad de La Laguna-Tenerife, España. Julio 2008.

Dosificación (uL)	RELAJACIÓN %	Concentración (log conc)
0,30	100,00	-0,52
1,30	95,65	0,11
4,30	95,22	0,63
14,30	93,48	1,16
44,30	89,57	1,65
144,30	89,57	2,16
444,30	91,74	2,65
1444,30	91,74	3,16
4444,30	91,74	3,65
14444,30	91,74	4,16
44444,30	89,57	4,65

* CANAL 4, Power Lab for Windows

TABLA 5

Evaluación del extracto alcohólico de *Jatropha macrantha*, en musculatura lisa peneana de conejos, mediante órgano aislado. Laboratorio de Farmacología. Facultad de medicina Humana; Universidad de La Laguna-Tenerife, España. Julio 2008.

Dosificación (μL)	RELAJACIÓN %	Concentración (log conc)
0,30	100,00	-0,52
1,30	96,70	0,11
4,30	97,80	0,63
14,30	91,21	1,16
44,30	89,01	1,65
144,30	94,51	2,16
444,30	91,21	2,65
1444,30	86,81	3,16
4444,30	90,11	3,65
14444,30	87,91	4,16
44444,30	85,71	4,65

* CANAL 5, Power Lab for Windows



Fotografía de la planta de
Huanarpo macho

