

JATROPHA MACRANTHA MÜLL. ARG COMO AGENTE HEMOSTÁTICO

Ms. C. Alvaro David Rodríguez-Salvatierra¹

Dr. Orlando Enrique Pretel-Sevillano²

Dr. Abhel Arthur Calderón-Peña²

Dr. Juan Carlos Rodríguez-Soto²

Dra. Luz Marina Guerrero-Espino³

Mg. Marisol Contreras Quiñones²

¹ Escuela de Medicina. Universidad César Vallejo. Trujillo-Perú.

² Laboratorio de Endocrinología y Termorregulación. Laboratorio de Citometría. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú.

³ Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo-Perú.

Correspondencia:

Ms. C. Alvaro David Rodríguez-Salvatierra

Av. Larco 1770. Trujillo. La Libertad-Perú.

Teléfono: 0051-964689751

Email: arodriguezsa02@ucvvirtual.edu.pe

Recibido: 07/03/2023

Aceptado: 01/09/2023

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto de *Jatropha macrantha* sobre los tiempos de coagulación y de sangría en ratas. Se utilizaron 20 individuos divididos en cuatro tratamientos: un control negativo y tres experimentales. Se midieron los tiempos de coagulación y de sangría con un cronómetro digital 1/100 segundos. La dosis del extracto de 300 mg/Kg de peso presentó el menor tiempo de coagulación ($p < 0.05$), y con la dosis 100 mg/Kg de peso se disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el tiempo de sangría en comparación al grupo control.

Palabras clave: Huanarpo macho, tiempo de coagulación, tiempo de sangría, hemostasia

JATROPHA MACRANTHA MÜLL. ARG AS HEMOSTATIC AGENT

ABSTRACT

This research aimed to determine the effect of *Jatropha macrantha* on coagulation and bleeding times in rats. 20 individuals divided into four treatments were used: a negative control and three experimental ones. Coagulation and bleeding times were measured with a 1/100 second digital stopwatch. The dose of the extract of 300 mg/Kg of weight presented the shortest clotting time ($p < 0.05$), and with the dose of 100 mg/Kg of weight the bleeding time was significantly reduced ($p < 0.05$) compared to the control group.

Keywords: Male huanarpo, clotting time, bleeding time, hemostasis

INTRODUCCIÓN

Las plantas a nivel mundial son fuentes valiosas de productos medicinales. Alrededor del 80% de las personas en los países en desarrollo dependen totalmente de los medicamentos a base de hierbas para su atención primaria de salud, y más del 25% de los medicamentos recetados en los países desarrollados se derivan de especies de plantas silvestres (1). La medicina tradicional desempeña un rol importante en la mejora y el mantenimiento de la salud en los países en desarrollo, generalmente se considera altamente disponible y accesible para las personas en los países en desarrollo (2). Existe una significativa información de plantas que poseen diferentes propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antimicrobianas (3), pero no se reportan mayores estudios asociados a plantas con propiedades hemostáticas.

En la actualidad se define a la hemostasia como un mecanismo de defensa, que protege al organismo de las pérdidas sanguíneas que se producen tras una lesión vascular (4), este proceso consiste de dos fases, la primera que refiere la agregación plaquetaria mediada por receptores superficiales y ligandos solubles; y segunda, que comprende una serie de factores bioquímicos que determinan la cascada de coagulación para formar finalmente una red de fibrina similar a una malla (5). Frente a ello, es de suma importancia determinar los tiempos de coagulación y de sangría, ya que el primero nos permite conocer la respuesta plaquetaria a la lesión vascular y el segundo la integridad de los vasos y plaquetas.

En la diversidad peruana encontramos dentro del género *Jatropha* (Euphorbiaceae) a la especie *Jatropha macrantha* conocida ampliamente en el folclor popular como una afrodisiaca, pero de la cual se intuye por sus componentes moleculares que pueda poseer actividad hemostática. El género *Jatropha*, se distribuye en zona tropical y subtropical (6), la mayor cantidad de especies se reportan en Sudamérica (7,8). Las especies de este género se han empleado ampliamente en la medicina natural (9).

J. macrantha "huanarpo macho" es considerada mundialmente como una planta nativa y autóctona del Perú, comúnmente se desarrolla en laderas pedregosas de valles, entre los 1000 a 1400 m s.n.m. (10). Estudios reportan que la infusión de hojas secas de *Jatropha curcas* se consume para tratar el sangrado vaginal (11), e incluso en algunos lugares asiáticos se usan como hemostático (12,13).

Estudios fitoquímicos de esta especie peruana, *Jatropha macrantha*, han determinado que es fuente importante de metabolitos secundarios con un amplio espectro de funciones biológicas, como flavonoides, esteroides, taninos, terpenos y alcaloides, de estos últimos los más abundantes son el jatrophano y los tropánicos (14,15).

Los reportes actuales de la Organización Mundial de la

Salud, señalan la ocurrencia creciente de accidentes de diferente índole alrededor del mundo, algunos de mayor alcance y relevancia que otros, lo cual amerita que se pueda contar con diferente arsenal terapéutico que permita estabilizar la salud del herido (16). Dentro del sector salud, en diferentes países del mundo, se viene implementando las Unidades de Medicina Complementaria o medicina natural. Perú es uno de dichos países, por lo que la medicina tradicional está tomando un sitio de importancia.

Frente a ello, el objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto de *Jatropha macrantha* sobre dos variables de importancia en los procesos de lesiones vasculares como el tiempo de coagulación y el tiempo de sangría, empleando como modelo biológico *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman.

MÉTODO

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Endocrinología y Termorregulación del Departamento de Química Biológica y Fisiología Animal y en el Laboratorio de Citometría de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo.

Diseño

Para la evaluación de la actividad hemostática de la planta *Jatropha macrantha* "huanarpo macho" se organizó un diseño experimental en bloques completamente al azar en esquema factorial empleando ratas albinas de laboratorio, donde las concentraciones de *J. macrantha* constituyeron los tratamientos y los tiempos de evaluación de los bloques. Los animales se distribuyeron al azar en 4 grupos de 5 individuos y a cada grupo se le administró un tratamiento diferente. El primer grupo constituyó el control negativo administrándose únicamente solución salina fisiológica (SSF), mientras que a los grupos se les administró mediante canulación orogástrica el extracto etanólico de *J. macrantha* en dosis de 100, 200 y 300 mg/Kg respectivamente (17).

Aspectos éticos

Para realizar esta investigación se cumplió con la guía de cuidado y uso de animales de laboratorio del National Institutes of Health (18). Asimismo, se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Trujillo.

Material vegetal

La planta estudiada fue colectada en la zona denominada quebrada "Los Molles" (07°25'32" S, 78°55'37" W), camino al Distrito San Benito de la Provincia de Contumazá,

ubicada en el Departamento de Cajamarca - Perú a 1250 m s.n.m. (16,17). La identificación botánica como *Jatropha macrantha* Müll. Arg "huanarpo macho" fue realizada por el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo.

Animales de experimentación

Se utilizaron 20 individuos machos de la especie *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman, de 250 ± 25 g de peso, se formaron grupos de cinco individuos y se mantuvieron en jaulas de polipropileno de 35x50x20 cm, con un ciclo constante de luz y oscuridad de 12 horas, a temperatura ambiente y con libre acceso a comida y agua (17).

Preparación del extracto

El extracto etanólico se preparó según la técnica descrita por Rodríguez-Salvatierra (17); las hojas y los tallos de *Jatropha macrantha* se secaron, molieron y tamizaron. Al resultante se maceró durante dos semanas con 400mL de etanol al 70%. El macerado se filtró utilizando papel Whatman N°5 dentro de un embudo de porcelana y mediante un sistema de vacío. Finalmente, el solvente fue evaporado a temperatura ambiente.

Evaluación

Antes de iniciar la medición, se realizó una asepsia con alcohol al 70% y algodón, luego se hizo una punción a nivel de la cola. Para determinar el tiempo de coagulación se siguió el Método de Lee White (19); se colocó una gota de sangre en una lámina portaobjeto y con la ayuda de un palillo se verificó la formación del coágulo. En el tiempo de sangría se empleó el Método de Duke (20), permitiendo que la sangre fluya sin ejercer presión y luego se limpió la herida con papel filtro hasta evidenciar que no haya mancha de sangre. Primero se midió la respuesta basal y después de la administración del tratamiento se repitió la punción y se midió la respuesta en diferentes tiempos (0, 15, 30, 45 y 60 minutos).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a la prueba de normalidad de Lilliefors y homogeneidad de Hartley. Los datos fueron transformados con logaritmo en base 10 para que la presuposición de normalidad sea atendida. Se realizó un Análisis de Varianza (ANAVA) comparando los tiempos de coagulación y de sangría. Al factor dosis (cuantitativo) se le aplicó análisis de regresión lineal. Todas las pruebas se ejecutaron con un 95% de confianza. El ANAVA se representa en tablas y el análisis de regresión lineal en gráfico de dispersión indicando su línea de tendencia. Los programas estadísticos empleados fueron BioEstat y Sisvar.



Figura 1. Recolección de muestra botánica de *Jatropha macrantha*

RESULTADOS

En la Tabla I se observa la presencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las dosis del extracto de *Jatropha macrantha* (tratamientos) y diferencias significativas entre los intervalos de prueba (bloques) sobre el tiempo de coagulación (en segundos) empleando el modelo biológico *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman. Los resultados indican que la coagulación fue inversamente

Tabla I. Análisis de varianza para el tiempo de coagulación (s) por efecto de cuatro diferentes dosis del extracto de *Jatropha macrantha* durante cinco tiempos diferentes en *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman.

FV	GL	SC	CM	Fc
Entre las dosis <i>J. macrantha</i>	3	11303.16	3767.72	10.785*
Entre los tiempos	4	20878.64	5219.66	14.942*
Interacción	12	3001.44	250.12	0.716
Residuo	80	27946.8	349.335	
Total	99	63130.04		

*diferencias significativas ($p < 0.05$)

*asociación significativa ($p < 0.05$)

proporcional a la dosis, a mayor dosis del extracto menor tiempo de coagulación (Figura 2).

En la Tabla II se evidencia la presencia de diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las dosis del extracto de *Jatropha macrantha* (tratamientos) y diferencias significativas entre los intervalos de prueba (bloques) sobre el tiempo de sangría (en segundos) empleando el modelo biológico *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman. Asimismo, la dosis de mayor efecto son 100 y 300 mg/Kg de peso corporal (Figura 3).

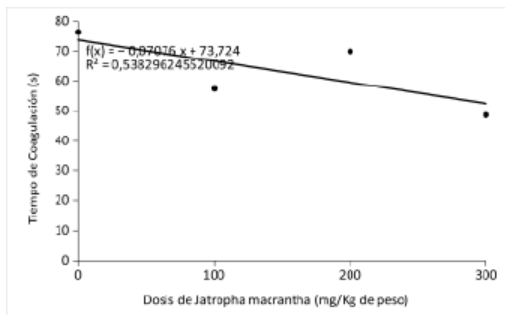


Figura 2. Línea de regresión entre el tiempo de coagulación (en segundos) y las dosis de *Jatropha macrantha* *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman.

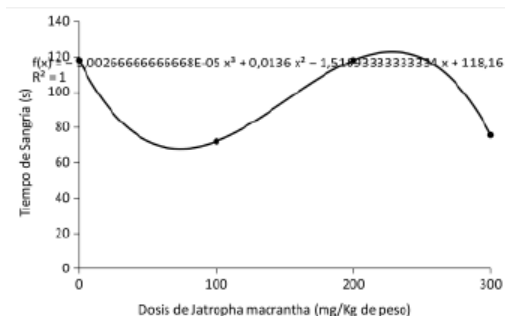


Figura 3. Línea de regresión entre el tiempo de sangría (en segundos) y las dosis de *Jatropha macrantha* *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman.

DISCUSIÓN

En referencia al tiempo de coagulación, la dosis de 300 mg del extracto de *Jatropha macrantha* por kilogramo de peso corporal produjo una disminución significativa del tiempo de coagulación (48.64s) frente al tiempo del tratamiento control de 0 mg del extracto (76,4s), lo cual equivale a una disminución por encima del 35%, mostrándose así la significancia del uso de esta planta medicinal en los procesos de lesiones vasculares.

Por otro lado, con respecto al tiempo de sangría, a la dosis de 100 mg del extracto de *J. macrantha* por kilogramo de peso corporal se obtuvo el valor mínimo de sangría de 72.24s, esto significó una disminución de 45.92s en relación a 0 mg del extracto de *Jatropha macrantha*.

Resultados acordes a los encontrados fueron reportados en relación al extracto de hojas frescas de *Jatropha curcas* Linn., a una concentración del 50%, donde se presentó actividad hemostática (21). Asimismo, se ha investigado que el látex completo de *J. curcas* disminuyó significativamente ($p < 0.01$) el tiempo de coagulación de la sangre humana. Sin embargo, el látex diluido incrementó el tiempo de coagulación; a altas diluciones, la sangre no coagulaba en absoluto. Las pruebas de tiempo de protrombina (PT) y tiempo de tromboplastina parcial activada (aPTT) en plasma confirman estas observaciones. Esto indica que el látex *Jatropha curcas* posee actividades tanto procoagulantes como anticoagulantes. Además, la división en solvente del látex con acetato de etilo y butanol permitió obtener la separación parcial de dos actividades opuestas: la fracción de acetato de etilo, a bajas concentraciones, tuvo un efecto procoagulante, mientras que la fracción de butanol provocó la mayor actividad anticoagulante (22). Por lo tanto, no se aconseja su consumo del látex de *J. curcas* a pacientes con tratamiento anticoagulante (23). Por otro lado, estudios han demostrado que en humanos *Jatropha gossypifolia* posee efectos coagulante y anticoagulante (24,25) pero se carecía de estudios en la especie *Jatropha macrantha*. Asimismo, se encontró que el mecanismo de acción como agente hemostático se debe a la

Tabla II. Análisis de varianza para el tiempo de sangría (s) por efecto de cuatro diferentes dosis del extracto de *Jatropha macrantha* durante cinco tiempos diferentes en *Rattus norvegicus* variedad *albinus* cepa Holtzman.

FV	GL	SC	CM	Fc
Entre las dosis <i>J. macrantha</i>	3	1.042451	0.347484	0.00*
Entre los tiempos	4	0.671063	0.167766	0.00*
Interacción	12	0.311433	0.025953	0.2141
Residuo	80	1.551417	0.019393	
Total	99	3.576365		

*diferencias significativas ($p < 0.05$)

*asociación significativa ($p < 0.05$)

precipitación de factores coagulantes debido a que estos son proteínas a excepción del factor IV (calcio). El látex del tallo de *J. gossypifolia* redujo significativamente el tiempo de coagulación de la sangre total in vitro de 6 min 25 s a 5 s, mientras que el tiempo de sangría de disminuyó 2 min 20 s a 2 s (26).

De igual manera, el extracto acuoso (sin purificar) de la hoja de *J. gossypifolia* mostró una actividad anticoagulante significativa en la prueba de aPTT, mientras que no se observó acción en la prueba de PT. Esto sugiere una acción relacionada a la vía intrínseca y/o común de la coagulación. No se observó ningún efecto en el sistema fibrinolítico. Usando la prueba aPTT, se demostró que la fracción acuosa residual era la más activa, siendo dos veces más activa que la de extracto crudo (26). Además, se ha demostrado que la administración de *J. gossypifolia*, como agente hemostático, es segura ya que no muestra efectos adversos en las funciones del hígado, riñón y médula ósea (27) y ausencia de efecto citotóxico in vitro (26). La explicación de los tiempos de coagulación y sangrado disminuidos al administrar el extracto de *Jatropha macrantha*, se debería a los particulares metabolitos secundarios que posee, y que permiten estimular los factores asociados a la coagulación, lo que activaría la cascada de coagulación, generación de trombina y la formación de un coágulo de fibrina.

CONCLUSIÓN

Los resultados permitieron evidenciar el accionar hemostático de la especie autóctona peruana "huanarpo macho". *Jatropha macrantha* Müll. Arg en la dosis de 300 mg/Kg de peso generó el menor tiempo de coagulación alcanzando en promedio 48.64 segundos ($p < 0.05$), y con la dosis 100 y 300 mg/Kg de peso disminuyó significativamente ($p < 0.05$) el tiempo de sangría de 72.24 y 75.76 segundos respectivamente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Chen SL, Yu H, Luo HM, Wu Q, Li CF & Steinmetz A. Conservation and sustainable use of medicinal plants: problems, progress, and prospects. *Chin Med*. 2016;11:37. doi: 10.1186/s13020-016-0108-7
2. Thorsen RS & Pouliot M. Traditional medicine for the rich and knowledgeable: challenging assumptions about treatment-seeking behavior in rural and peri-urban Nepal. *Health Policy and Planning*. 2016;31(3):314-324. doi: 10.1093/heapol/czv060
3. Marume A, Matope G, Katsande S, Khoza S, Mutingwende I, Mduluzi T, Munodawafa-Taderera T & Ndhala AR. Wound Healing Properties of Selected Plants Used in Ethnoveterinary Medicine. *Front Pharmacol*. 2017;8:544.

doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00544>

4. Furie B & Furie BC. Mechanisms of Thrombus Formation. *N Engl J Med*. 2008;359:938-949. doi:10.1056/NEJMra0801082
5. Tran R, Myers D, Ciciliano J, Trybus EL, Sakurai Y, Ahn B, Qiu Y, Mannono RG, Fay ME, Lam WA. Biomechanics of haemostasis and thrombosis in health and disease: from the macro- to molecular scale. *J Cell Mol*. 2013;17(5):579-596. doi:10.1111/jcmm.12041
6. Cavalcante NB, da Conceição Santos AD, Guedes da Silva Almeida JR. The genus *Jatropha* (Euphorbiaceae): A review on secondary chemical metabolites and biological aspects, *Chemico-Biological Interactions*. 2020. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108976>
7. McVaugh R. The genus *Jatropha* in America: Principal intrageneric groups. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 1945;72(3):271-294. doi:10.2307/2481288
8. Murthy GVS, Chamundeswari E, Goverdhen S, Bahadur B. Chapter 7: Fruit, Seed and Seedling Characters in *Jatropha* L. En: Bahadur B et al., eds. *Jatropha, Challenges for a New Energy Crop*. New York. Springer Science. 2013. Vol. 2, Genetic Improvement and Biotechnology. doi:10.1007/978-1-4614-4915-7_7
9. Sabandar C, Ahmat N, Jaafar FM, Sahidin I. Medical property, phytochemistry and pharmacology of several *Jatropha* species (Euphorbiaceae): A review. *Phytochemistry*. 2012. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>
10. López-Zavaleta A, López-Medina S, Mostacero-León J, Gil-rivero A, De La Cruz-Castillo A & L. Villena-Zapata. Influencia de la luz en el sinergismo entre la 6-BAP y el 2, 4-D para la inducción de callos de *Jatropha macrantha* Mull. Arg. "huanarpo macho". *Manglar* 18(2):175-180, 2021 DOI: <http://dx.doi.org/10.17268/manglar.2021.023>
11. Singh TN, Ikahihifo T, Panuve M & Slatter C. Folk medicine in Tonga, A study of the use of herbal medicines for obstetric and gynaecological contions and disorders. *J Ethnopharmacol*. 1984;12(3):305-329
12. Singh YN. Traditional medicine in Fiji: some herbal folk cures used by Fiji Indians. *J Ethnopharmacol*. 1986;15(1):57-58. doi:[https://doi.org/10.1016/0378-8741\(86\)90104-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(86)90104-2)
13. Ross IA. *Medicinal Plants of the World*. 2nd ed. Totowa (NJ) Humana Press Inc. 2003. Vol. 1: Chemical Constituents, Traditional and Modern Medicinal Uses. Chapter 14: *Jatropha curcas*: 277-288. doi:10.1007/978-1-59259-365-1_14
14. Angulo L y Jara I. Determinación del efecto de los extractos de la corteza de *Jatropha macrantha* (huanarpo) sobre la conducta sexual en animales de experimentación, Arequipa-2015. [Tesis de Título Profesional] Universidad Católica de Santa María, Arequipa; 2016.
15. Heredia I, Burga J, Lara E. Extracción de alcaloides del huanarpo macho (*Jatropha macrantha* Muell. Arg)

en un equipo Soxhlet con mezcla de solvente ciclohexano-etanol. [Tesis de Título Profesional]. Universidad Nacional de Callao, Callao; 2016

16. Organización Mundial de la Salud. Heridas en el mundo. 2020. www.who.int

17. Rodríguez-Salvatierra A. Efecto del extracto etanólico de *Jatropha macrantha* sobre la presión arterial en *Rattus rattus* va. *albinus*. [Tesis de Título Profesional] Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo; 2017.

18. National Research Council. Institute of Laboratory Animal Resources. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washinton, D.C.: National Academy Press; 2011.

19. Zamora-González Y. Pruebas de coagulograma y componentes de la hemostasia. Utilidad para diagnosticar las diátesis hemorrágicas. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2012;28(2):141-150.

20. Gutiérrez J. Guía de Laboratorio de Hematología Especial. Colombia: Corporación Universitaria Rafael Núñez; 2018.

21. Kone-Bamba D, Pelissier Y, Ozoukou ZF, Kouao D. Hemostatic activity of 216 plants used in traditional medicine in the Ivory Coast. *Plant Med Phytother*. 1987;21(2):122-130.

22. Osoniyi O & Onajobi F. Coagulant and anticoagulant activities in *Jatropha curcas* latex. *Journal of Ethnophar-*

macology. 2003;89(1):101-105. doi:10.1016/S0378-8741(03)00263-0

23. Sharma S & Singh H. A Review on Pharmacological Significance of Genus *Jatropha* (Euphorbiaceae). *Chin J Integr Med*. 2012;18(11):868-880. doi:10.1007/s11655-012-1267-8

24. Oduola T, Awaworo OG, Ayanniyi TB. Suitability of leaf extract of *Jatropha gossypifolia* as an anticoagulant for biochemical and haematological analyses. *African Journal of Biotechnology*. 2005;4(7):679-681. doi:10.5897/AJB2005.000-3125

25. Oduola T, Adeosun GO, Oduola TA, Awaworo GO, Oyeniya MA. Mechanism of action of *Jatropha gossypifolia* stem latex as a haemostatic agent. *Eur J Gen Med*. 2005;2(4):140-143.

26. Félix-Silva J, Souza T, Gomes R, Cabral B, Silva-Júnior A, Moretti I, Zucolotto S, Oliveira H, Fernandes-Pedrosa M. In vitro anticoagulant and antioxidant activities of *Jatropha gossypifolia* L. (Euphorbiaceae) leaves aiming therapeutical applications. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2014;14:405. doi:10.1186/1472-6882-14-405

27. Oduola T, Popoola GB, Awaworo OG, Oduola TA, Adeosun AA, Lawal MO. Use of *Jatropha gossypifolia* stem latex as a haemostatic agent: how safe is it? *Journal of Medicinal Plants Research*. 2007;1(1):014-017