

EFFECTOS DE RUTA SSP SOBRE LA ACTIVIDAD DEL MUSCULO LISO GASTROINTESTINAL AISLADO DE RATA.*EFFECTS OF RUTA SSP ON THE ACTIVITY OF THE SMOOTH GASTROINTESTINAL MUSCLE ISOLATED OF RAT.*

Carlota A Grigorjev y Nilda Y. Brizuela

Resumen

Ruta graveolens L. y Ruta chalepensis L. son plantas usadas en medicina folclórica, como antiespasmódico, digestivas y para los gases intestinales. Se usaron tiras del fundus del estómago y también de duodeno de ratas Wistar, hembras adultas, clínicamente sanas y con un peso de alrededor de 250 gramos. Cada uno de los segmentos fueron montados en un baño de órganos aislados con una solución de Ringer-lactato, a 37° C, pH: 7.3-7.4, y burbujeo 95% O₂, 5% CO₂. Uno de los extremos fue conectado verticalmente al baño de órganos y el otro a un transductor de tensión isométrico de 500 mg marca Beckman. Después de la estabilización, se fueron agregando a dosis crecientes, el extracto alcohólico de Ruta sp.

A 50 µl/ml el tono desciende un 23% en intestino delgado y un 27% en estómago. Mientras que cuando la dosis fue de 100 µl/ml el tono bajo un 32% y 35% respectivamente. En cuanto a la amplitud desciende un 50% en el estómago a dosis de 50 µl/ml mientras que en el intestino delgado fue del 60%. Con una dosis de 100 µl/ml la amplitud cambia en ambos órganos (96% en duodeno, y 75% en estómago). En cuando a la frecuencia de las contracciones solo se observaron cambios en ambos órganos a dosis de 100 µl/ml (32% en intestino delgado y 50% en estómago).

Por lo tanto la ruta muestra efectos de disminución de la actividad en estómago e intestino delgado, dosis dependiente; lo que quizás esté demostrando su efecto espasmolítico.

Palabras claves: plantas medicinales, rata. Ruta sp, etnofarmacología, músculo liso, órgano aislado.

Abstract

Ruta graveolens L. and Ruta chalepensis L. are plants used in folkloric medicine as antispasmodics, digestive and for intestinal gases. Animals used as experimental model were rates of the Wistar line, adult females, clinically healthy and with a weight average of 250 grams. We used strips of stomach and duodenum. Each one of the segments mounted on two stirrups in a bath of organ isolated with Ringer-lactate solution, at 37° C, pH: 7.3-7.4, and bubbled with 95% O₂, 5% CO₂. One of the stirrups was connected vertically to the bottom of the bath and the other to a transducer of tension connected to a Beckman polygraph. We applied 500 mgs of basal tension. After the stabilization, the ethanolic extract of Ruta ssp was added in increasing doses.

At 50 µl/ml the tone lower 23% in small intestine and lower 27% in stomach. However at 100 µl/ml the tone lower 32% and 35% respectively. In the other parameters the amplitude decrease 50% in the stomach at dose of 5 µl/ml while in the small intestine the amplitude lower 60%. With 10 µl/ml the amplitude change in both organs (96% in small intestine, and 75% in stomach).

The frequency changes in both organs (32% in small intestine, and 50% in stomach) at 10 µl/ml

Rue showed decreased effects on isolated small intestine and stomach were is dose dependent, maybe we were demonstrated the effects digestive of Ruta.

Key words: medicinal plants, rat, Ruta ssp, ethnopharmacology, smooth muscle, isolated organs.

Cátedra de Farmacología General
Escuela Práctica
Facultad de Ciencias Médicas
Universidad Nacional de Córdoba.
Santa Rosa 1085, 5000 Córdoba
cgrigorjev@gmail.com

Enviado: 16/05/2010

Aceptado: 28/11/2010

Introducción.

La ruda es un herbáceo perenne de 50-90 cm de altura, con tallos redondos y follaje verde azulado. Es frecuentemente usado por sus propiedades medicinales⁽¹⁾ El uso de la ruda data desde el siglo XVI. Las hojas y yemas jóvenes contienen alcaloides, flavonoides, fenoles, aminoácidos, fucomarinas y saponinas⁽²⁾. La ruda también es conocida por tener actividad como emenagogo, antihelmíntico, antirreumático^(3,4,5), antihipertensivo⁽⁶⁾, antiséptico para la piel y repelente^(7,8), fungicida e insecticida^(9,10). Ruda puede causar también sangrado uterino en mujeres embarazadas, con posible muerte fetal^(11,12). Reportes de etnobotánica indican que es consumida por gente indígena para promover la menstruación, la expulsión fetal y como abortivo^(13,14). Se dice, además, que se emplea para regular los cólicos menstruales⁽¹⁵⁾, ayudar en el parto y estimular la producción de leche. Para la mayoría de los casos se toma un té de las hojas 2 o 3 veces al día.

El creciente interés por la medicina natural hace necesaria la evaluación de las propiedades de las plantas, ya que se utilizan para una gran variedad de dolencias y es relativamente pequeño el conocimiento acerca de su mecanismo de acción.

En este trabajo observamos cuales son los efectos de la ruda sobre la contractilidad de diferentes tipos de músculos del sistema digestivo en órganos aislados de ratas (estómago e intestino delgado), y si se observan diferencias a concentraciones crecientes del compuesto.

Material y métodos.

A- Animales de experimentación

Se emplearon hembras vírgenes de la cepa Wistar con un peso entre 220-250 gramos que se mantuvieron bajo un régimen de 14 horas de luz y 10 hs de oscuridad en una habitación con temperatura controlada y acceso libre a alimento balanceado y agua.

Dos días antes de realizar el experimento se le quitó el alimento balanceado manteniéndolas en las mismas condiciones de luz, temperatura y agua.

B-Elaboración de los extractos.

Se pesaron 10 g de hojas de ruda (*R. graveolens* y *R. chapelensis*) para cada preparación de 100 mL, dejándose macerar en el disolvente (etanol absoluto), por un tiempo aproximado de 24 h, con agitación continua. Posteriormente los macerados se homogenizaron. Toda la fibra proveniente de la homogenización se separó del extracto por medio de filtración utilizando una bomba de vacío.

A estos extractos filtrados se les agregó 1g de carbón activado y mediante un agitador magnético se mezclaron, para después volverlas a filtrar por vacío, con el fin de separar los pigmentos del extracto, obteniendo un líquido cristalino café claro. El mismo que se concentró al 50 % en un evaporador rotatorio continuo. Finalmente el extracto concentrado se guardó en refrigeración hasta su uso en los experimentos en tejidos.

C- Efecto de la ruda en músculo.

Obtención del material: Los animales se sacrificaron con éter y luego se procedió a extraer el fondo del estómago y el duodeno del intestino delgado, para luego inmediatamente realizar las mediciones.

Modelo experimental de órgano aislado. La solución que se utilizó para bañar constantemente el tejido, es la denominada solución de Ringer y además Gas de burbujeo, Carbógeno (95 % O₂ + 5% CO₂). La solución siempre se preparó en el día y se mantuvo a 32°C para el experimento.

Preparación del sistema de órgano aislado. Es un sistema en el que se busca simular las condiciones fisiológicas en las que se encuentra un tejido en el organismo. Para esto es necesario establecer una serie de condiciones experimentales, entre las que destacan el mantener la temperatura óptima (32° C) por medio de un baño de agua, la cual se hace circular mediante una bomba peristáltica, desde un baño y a través de las cámaras de órgano aislado (que son de "doble camisa"), por la camisa externa. El interior de la cámara contendrá solución de Ringer con burbujeo continuo. El tejido en experimentación se mantuvo fijo por sus dos extremos, de un lado hacia el surtidor de la solución y del otro lado hacia un transductor de tensión, mismo que se mantiene conectado a un polígrafo para el registro de la actividad contráctil.

Calibración de los registros. Para interpretar la magnitud de la contracción expresada por el tejido, se llevó a cabo una calibración que consiste en colgar pesas de diferente valor (100 a 500 mg) del transductor para obtener un desplazamiento expresado en unidades de longitud que sirvió para expresarlo en unidades de masa.

Medición de registros. Del registro se midió la amplitud, la frecuencia y el tono muscular de relajación, en presencia del extracto, comparado contra el control.

La frecuencia de la contracción es el número de contracciones (ondas) que ocurren en una unidad de tiempo, en este caso un minuto, y se cuantifica a partir de la base (valle) de una onda hasta la base de la siguiente, o de cima (cresta) a cima. La duración de la contracción se consideró como el tiempo que existe entre el inicio de ésta y el final de la relajación. Este parámetro se puede tomar en diferentes niveles de la amplitud de la onda; en este trabajo, las mediciones en segundos se llevaron a cabo al 90 % de amplitud de la contracción. El tono muscular de la relajación es el estado de tensión que presenta el músculo en condiciones basales. En este caso, cuando el músculo se encuentre relajado, antes y después de cada con-

tracción (inicio y final de la onda). Esta propiedad se mide en gramos, comparando contra el registro control.

Después de colocar los tejidos en las cámaras de órgano aislado se dejó 20 minutos para estabilización y se tomó el registro control de las contracciones espontáneas; posteriormente se utilizó el extracto de ruda en proporción de 50 mg/mL (planta:disolvente), administrándolo en cantidad de 50 μ g /cámara y 100 μ g/cámara. Después de cada aplicación de la ruda se procedió a lavar el tejido 3 veces en la cámara y comprobar si volvía a su estado basal para probar que los efectos observados eran debidos a la presencia de ruda en el medio. Las dosis de ruda utilizadas en este experimento, es la dosis mínima encontrada para obtener el efecto deseado.

Análisis estadístico: Se aplicó un análisis de test-t entre medias; siendo tomado como el valor de $p \leq 0,05$ como significativo.

Resultados.

A concentraciones de 5 μ l/ml el tono de duodeno disminuyó 23% y en estomago 27%. Sin embargo, a concentraciones de 10 μ l / ml de extracto de ruda el tono disminuyó aún más, 32% y 35% respectivamente. (Figura 1)

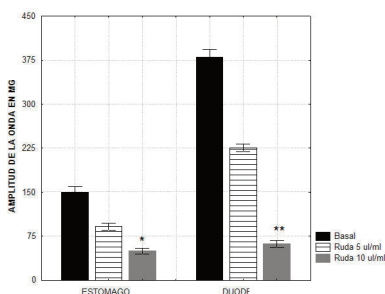


Fig 1: Actividad muscular (tono) de aparato digestivo en órgano aislado. Cada barra representa la media \pm ES de 4-5 ratas. ** $p < 0,001$ basal vs ruda 5 μ l/ml y ruda 10 μ l/ml; * $p < 0,05$ ruda 5 μ l/ml vs ruda 10 μ l/ml.

Con respecto a la amplitud, disminuyó 50% en el estómago a dosis de 5 μ l / ml, mientras que en el intestino delgado cayó un 60%. Con 10 μ l / ml los cambios se hicieron mas evidentes, ya que en intestino delgado el cambio fue de 96% y de 75% en estomago aislado. (Figura 2)

Los cambios en la frecuencia de contracciones fueron mas evidentes a dosis de 10 μ l / ml de extracto alcohólico ya que en estomago se pudo observar una dis-

minución del 50% mientras que en duodeno fue del 32%.

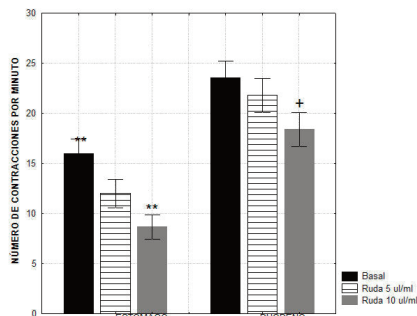


Fig 2: Actividad muscular (amplitud) de aparato digestivo en órgano aislado. Cada barra representa la media \pm ES de 4-5 ratas. * $p < 0,005$ ruda 10 μ l/ml vs basal y ruda 5 μ l/ml; ** $p < 0,001$ ruda 10 μ l/ml vs basal y ruda 5 μ l/ml.

A 5 μ l / ml solo pudimos observar disminuciones de 22% en estomago. (Figura 3).

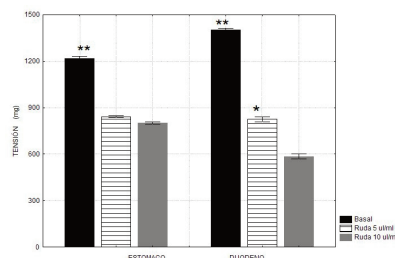


Fig 3: Actividad muscular (frecuencia) de aparato digestivo en órgano aislado. Cada barra representa la media \pm ES de 4-5 ratas. ** $p < 0,005$ basal vs ruda 5 μ l/ml y ruda 10 μ l/ml; ++ $p < 0,005$ ruda 5 μ l/ml vs ruda 10 μ l/ml.; + $p < 0,01$ ruda 10 μ l/ml vs ruda 5 μ l/ml y basal

Discusión.

Los estudios en órganos aislados son medios muy útiles para evaluar la actividad farmacológica de una gran variedad de extractos de origen vegetal. (16). En la bibliografía se cita a la ruda para múltiples usos, ya desde la antigüedad, por ejemplo en España es utilizado como digestivo y para diarreas (17), también es citada como espasmolítico en caso de dolores menstruales, o en inflamaciones intestinales (18). La decocción de sus hojas se ingiere por té como antidiarreico (19) y contra el "frío al estómago" (19, 20). Se han encontrado pocos datos en la bibliografía sobre la manera de actuar de ruda, solo se ha visto su efecto

como inotrópico y crono trópico positivo en aurícula de rata (21), y efectos en útero de rata (22).

En base a nuestras observaciones podemos concluir que el extracto de ruda tiene acciones directas sobre el músculo liso del aparato digestivo modificando los parámetros de tono, con una disminución a dosis de 5 µl/ml tanto en estómago como en duodeno, mientras que a dosis mayores de 10 µl/ml se observa una disminución solo en el órgano con mayor tono basal (duodeno).

Asociado a esto, se observan modificación del parámetro de la amplitud de las ondas, aunque este se logra recién a dosis mayores. Por otro lado, la frecuencia de las contracciones muestra alteraciones graduales de acuerdo con la dosis.

Por lo tanto la ruda es un efectivo espasmolítico dosis dependientes, por lo que el uso popular tendría un fundamento fisiológico.

Agradecimientos

Al Med. Federico Matorra por sus aportes técnicos y bibliográficos y a la Fundación Mundo Mejor, Medicina biológica: ambiente y Salud por su apoyo económico.

Referencias

1. Arenas, P., Savitry, GP. :“La Ruda: *Ruta chalepensis* (L.) Rutaceae. *Doininguezia*; 1994, 11:7-25.
2. Hnatyszyn, O., Arenas, P, Moreno, A, Rondita, R; Cousio, JD: “Plantas reguladoras de la fecundidad según la medicina folklórica”. *Rev Soc Cien*.1974, 14:37 pp.
3. Chavez M., Franco, L, Gonzalez, M, Tlatenco, M. “Tradición Herbolaria y Remedios Caseros”. Mexico City: Ce-Acatl, A.C. 2003; 80-81 pp.
4. Di Stasi L.C., Hiruma, C, Guimaraes, C. “Medicinal plants used in Brazilian Amazon”. *Fitoterapia*. 1994, 65:529-540.
5. Fon Quer P. “Plantas Medicinales”. Labor, Buenos Aires, 1962; 426pp.
6. Berdonces JL.. “Gran Enciclopedia de Las Plantas Medicinales” Barcelona: Tikal. 1998
7. Gonzalez M. “Plantas Medicinales del Noreste de Mexico”. Monterrey, Mexico: IMSS-Vitro. 1998
8. Guarrera P.M.. “Traditional antihelmintic, antiparasitic and repellent uses of plants in Central Italy”. *Ethnopharmacol*. 1999;68(1-3):183-192.
9. Mancebo F., Hilje, L, Mora, G et al. “Biological activity of *Ruta chalepensis* (Rutaceae) and *Sechium pittieri* (Cucurbitaceae) extracts on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera :Pyralidae) larvae”. *Rev Biol Trop*. 2001, 49(2):501-508.
10. Ojala T., Rentes, S, Haansuu, P et al. “Antimicrobial activity of some coumarin containing herbal plants growing in Finland”. *J Ethnopharmacol*. 2000. 73(1-2):299-305.
11. Gonzales, J; Benavides, V; Rojas, Ruth y Pino, J “Efecto embriotóxico y teratogénico de *Ruta chapensis* L “Ruda” en ratón (*Mus musculus*)”. *Rev. Peru. Biol* 2007;13(3): 223-225.
12. Melito A.L., Bernardi MM, Florio, JC. “Avaliação da embriofetotoxicidade do extrato bruto de *Ruta graveolens* L. Admionistrado a camundongos em diferentes periodos de gestacao”. *Rev Brasil Toxicol*. 2003, 16:63-70.
13. Conway GA., Slocumb, JC. “Plants used as abortifacients and emmenagoges by Spanish New Mexicans”. *J Ethnopharmacol*. 1979;1:241-61.
14. Stanley F.J., Bower. C «Teratogenic drugs in pregnancy». *Med J Australia*. 1986, 145:596-599.
15. Atta, AH, Alkofahi A. “Anti-nociceptive and anti-inflammatory effects of some Jordanian medicinal plant extracts” . *J Ethnopharmacol* 1998;60:2 117-24.
16. - Ramírez JH, Palacios M, Gutiérrez O. Implementación de la técnica en órgano aislado vascular como herramienta para la validación de plantas medicinales. *Colomb Med*. 2007; 38:28-33.
17. - Pollio A, De Natale A, Appetiti E, Aliotta G, Touwaide A. Continuity and change in the Mediterranean medical tradition: *Ruta* spp. (rutaceae) in Hippocratic medicine and present practices. *Journal of Ethnopharmacology* 2008; 116: 469–482.
18. -Conway GA, Slocumb JC. Plants used as abortifacients and emmenagoges by Spanish New Mexicans. *J Ethnopharmacol*. 1979 1: 241-261.
19. - Di Lullo, O. La medicina popular de Santiago del Estero. *El Liberal, Santiago del Estero*. 1929 171 pp.
20. Ávila, M.T. Flora y Fauna en el folklore de Santiago del Estero. M. Violetto, San Miguel de Tucumán. 1960 25 pp.
21. - CHIU, K.W., FUNG, A.Y. : The cardiovascular effects of green beans (*Phaseolus aureus*), common rue (*Ruta graveolens*) and kelp (*Laminaria japonica*) in rats. *Gen. Pharmacol*.1997: 29(5): 859-862.
22. - MUÑOZ-COBOS A, COVARRUBIAS-CORNELIO S, DELENA-GARCÍA J, PACHECO-DELGADO U, SÁNCHEZ-BERNAL C, ALVARADO-ACOSTA J, YAHUACA-MENDOZA P. Efecto de extractos de *Ruta Graveolens* (RUDA) sobre la contractilidad de Utero de Rata y Perro, Ex Vivo. 5 tas Jornadas de Investigación Universidad Autónoma de Zacatecas 25 al 29 de Junio del 2001.