Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado
Facultad de Medicina
Unidad de Posgrado

Efecto erectógeno del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* ("Viagra macho") más selenio en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasas saturadas en ratas machos

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias de la Salud

AUTOR

Fidel Ernesto ACARO CHUQUICAÑA

ASESOR

Dr. Jorge Luis ARROYO ACEVEDO

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Acaro, F. Efecto erectógeno del extracto etanólico de las raíces de Corynaea crassa ("Viagra macho") más selenio en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasas saturadas en ratas machos [Tesis de doctorado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2021.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

Código ORCID del autor	https://orcid.org/0000-0003-1257-299X
DNI o pasaporte del autor	07459338
Código ORCID del asesor	https://orcid.org/0000-0002-7695-1908
DNI o pasaporte del asesor	06785241
Grupo de investigación	Farmacología sexual y reproductiva
Agencia financiadora	Autofinanciado
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Laboratorio de Farmacología Experimental, Facultad de Medicina Humana-UNMSM, Lima,Perú. 12°03′28″S 77°01′23″O
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2015-2020 (5 años)
Disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR

En la ciudad de Lima, a los veinticuatro días del mes de marzo del año dos mil veintiuno, siendo las 12:00 m, ante el Jurado de Sustentación, bajo la Presidencia de la **Dra**. **AURORA VILLAR CHAMORRO**, y los Miembros del mismo:

- Dra. Aurora Villar Chamorro — Presidente
- Dra. María Mercedes Soberon Lozano — Miembro
- Dra. Silvia Suárez Cunza — Miembro
- Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo — Asesor

la postulante al grado de Doctor, es MAGÍSTER EN FARMACOLOGÍA, don: **FIDEL ERNESTO ACARO CHUQUICAÑA,** procedió a hacer la exposición y defensa pública de su Tesis titulada" Efecto ***erectògeno del extracto etanòlico de las raíces de Corynaea crassa ("Viagra macho") más selenio en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasas saturadas en ratas machos***", para optar el grado Académico de Doctor en Ciencias de la Salud.

Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, la cual obtuvo la siguiente calificación: **"B" MUY BUENO 17 (DIECISIETE)** a continuación la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad de Medicina, proponga que se le otorgue al Magíster: **FIDEL ERNESTO ACARO CHUQUICAÑA**, el Grado Académico de **DOCTOR EN CIENCIAS DE LA SALUD.**

Se expide la presente acta digital siendo las 1:30 pm. se da por concluido el acto académico de sustentación.

DRA. AURORA VILLAR CHAMORRO
PRESIDENTE DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

DRA. MARÍA MERCEDES SOBERON LOZANO
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACIÓN

DRA. SILVIA SUÁREZ CUNZA
MIEMBRO DEL JURADO DE SUSTENTACION

DR. JORGE LUIS ARROYO ACEVEDO
ASESOR DE LA TESIS

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a Dios Todopoderoso, mi creador, mi bastión, mi fuente de inspiración, sabiduría, conocimiento y comprensión. Dios Gracias por darme la fuerza y el estímulo, especialmente durante todos los momentos difíciles para completar esta tesis. Él ha sido la fuente de mi fuerza a lo largo de este estudio.

A mis padres, por darme la vida en este mundo complejo de la ciencia su apoyo infinito y comprensión constante. Mi admiración por ustedes nunca puede ser cuantificado. Dios los bendiga.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a mi asesor, el Dr. Jorge Luis Arroyo Acevedo, por su apoyo y orientación constante durante toda la investigación, asesoramiento en la presentación y el análisis de mis datos. Él creyó en mí. Sin su ayuda este estudio no hubiera sido posible. Reconozco calurosamente su paciencia para entrenarme con los procedimientos de laboratorio.

A mis maestros del Doctorado, por nuestra enseñanza, entusiasmo y disposición para proporcionar comentarios que hicieron para la finalización de esta investigación fue una experiencia agradable.

Así mismo, aprecio la ayuda y el apoyo que me brindó el personal del laboratorio en el Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, mi Alma Mater del posgrado.

La ciencia, que se basa en la observación y la razón es la ciencia que va a ganar, ya que funciona.

El mayor enemigo del conocimiento no es la ignorancia, es la ilusión del conocimiento. (Stephen William Hawking, 1942-2018).

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA II

AGRADECIMIENTOS III

ÍNDICE GENERAL IV

ÍNDICE DE FIGURAS VI

ÍNDICE DE TABLAS IX

ÍNDICE DE ANEXOS XI

RESUMEN XIII

ABSTRACT XIV

RESUMO XV

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS XVI

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN 1

1.1. Situación problemática 1
1.2. Formulación del problema 5
1.3. Justificación teórica 5
1.4. Justificación práctica 6
1.5. Objetivos 7
1.5.1. Objetivo general 7
1.5.2. Objetivos específicos 7

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO 9

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación 9
2.2. Antecedentes de investigación 12
2.3. Bases teóricas 19
2.3.1. Disfunción sexual masculina 19
2.3.2. Disfunción eréctil 21
2.3.3. Disfunción eréctil y obesidad 30
2.3.4. Selenio y reproducción sexual masculina 34
2.3.5. *Corynaea crassa* 39
2.3.6. Hipótesis 42

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA **43**

3.1. Tipo y diseño de investigación 43
3.2. Unidad de análisis 43
3.3. Población de estudio 44
3.4. Tamaño de muestra 44
3.5. Selección de muestra 44
3.5.1. Animal de experimentación 44
3.5.2. Muestra vegetal 44
3.6. Técnica de recolección de datos 44
3.6.1. Materiales para la administración 45
3.6.2. Equipos 45
3.7. Diseño metodológico 45
3.7.1. Prueba de solubilidad 45
3.7.2. Análisis fitoquímico 45
3.7.3. Diseño experimental:Efecto erectógeno 49
3.7.4. Evaluación de la toxicidad aguda: dosis letal media 53
3.8. Análisis e interpretación de la información 54
3.9. Consideraciones éticas 54

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN **56**

4.1. Análisis, interpretación y discusión de los resultados 56
4.1.1. Resultado de la prueba de solubilidad 56
4.1.2. Evaluación fitoquímica 57
4.1.3. Evaluación experimental farmacológico 60
4.1.4. Estudio de la toxicidad aguda 79
4.1.5. Discusión 82

CONCLUSIONES **94**

RECOMENDACIONES **96**

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS **97**

ANEXOS **117**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Razonamiento o lógica de investigación 11

Figura 2. Características clínicas del hipogonadismo y obesidad 20

Figura 3. Relajación del músculo liso peneano 26

Figura 4. Erección peneana por NO 27

Figura 5. Vías de contracción y relajación en células cavernosas del músculo liso 29

Figura 6. Desacoplación del NOs en la obesidad 31

Figura 7. Mecanismos por los cuales la obesidad causa disfunción eréctil 33

Figura 8. Mecanismos de fragmentación del ADN espermático en espermatozoides humanos 37

Figura 9. Selenio contra el daño de los radicales libres 38

Figura 10. *Corynaea crassa* 40

Figura 11. Ubicación de *Corynaea crassa* en la región de Cajamarca 41

Figura 12. Fitoquímica de *Corynaea crassa* 42

Figura 13. Fluxograma de la preparación de las raíces de *Corynaea crassa* 46

Figura 14. Líneas de tiempo experimentales 50

Figura 15. Comportamientos sexuales de ratas macho 52

Figura 16. Solubilidad con solventes orgánicos 57

Figura 17. Prueba cualitativa e identificación de los metabólitos secundarios 59

Figura 18. Promedio de frecuencia de montaje según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 62

Figura 19. Promedio de frecuencia de intromisión según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 63

Figura 20. Promedio de frecuencia de eyaculación según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 64

Figura 21. Promedio del intervalo post eyaculatorio según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 65

Figura 22. Promedio de latencia de montaje según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 66

Figura 23. Promedio de latencia de intromisión según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 67

Figura 24. Promedio de latencia de eyaculación según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce 68

Figura 25. Efecto del extracto etanólico de raíces de *Corynaea crassa* y selenio sobre los reflejos del pene en rata 69

Figura 26. Dosis letal media (DL_{50}) 80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Etiología de la disfunción eréctil 23

Tabla 2. Factores de riesgo de la disfunción eréctil 25

Tabla 3. Inducción de la disfunción sexual 49

Tabla 4. Prueba de solubilidad del extracto seco de *Corynaea crassa* 56

Tabla 5. Resultado del análisis cualitativo 58

Tabla 6. Evaluación del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio sobre las frecuencias de montaje, intromisión y eyaculación 60

Tabla 7. Evaluación del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio sobre las latencias de montaje, intromisión y eyaculación 61

Tabla 8. Distribución de las mediciones del peso (g) 71

Tabla 9. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de colesterol (mg/dL) 72

Tabla 10. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de triglicéridos (mg/dL) 73

Tabla 11. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (mg/dL) 74

Tabla 12. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (mg/dL) 75

Tabla 13. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL) 76

Tabla 14. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de glucosa (mg/dL) 77

Tabla 15. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de testosterona (ng/mL) 78

Tabla 16. Evaluación de la letalidad por la prueba de Probits 79

Tabla 17.Concentración del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* en relación con el número de muertes en ratones 81

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Recolección de *Coryneae crassa* 118

Anexo 2. Identificación taxonómica 119

Anexo 3. Evaluación de los parámetros del comportamiento sexual en el EECC 120

Anexo 4. Evaluación de los parámetros del comportamiento sexual en el EECC + selenio 120

Anexo 5. Peso de las unidades de análisis
Análisis ANOVA de un factor 121

Anexo 6. Efecto del EECC sobre el nivel de colesterol
Análisis ANOVA de un factor 121

Anexo 7. Efecto del EECC sobre el nivel de TGC
Análisis ANOVA de un factor 122

Anexo 8. Efecto del EECC sobre el nivel de LDL
Análisis ANOVA de un factor 122

Anexo 9. Efecto del EECC sobre el nivel de VLDL
Análisis ANOVA de un factor 123

Anexo 10. Efecto del EECC sobre el nivel de HDL
Análisis ANOVA de un factor 123

Anexo 11. Efecto del EECC sobre el nivel de glucosa
Análisis ANOVA de un factor 124

Anexo 12. Efecto del EECC sobre el nivel de testosterona
Análisis ANOVA de un factor 124

Anexo 13. Prueba de hipótesis 125

Anexo 14. Dosis efectiva media 126

Anexo 15. Posible mecanismo de acción erectogénica
de los metabolitos de *Coryneae crassa* 127

RESUMEN

Introducción: *Corynaea crassa*, planta hemiparásita, usado como afrodisíaco en la medicina tradicional. **Objetivo**: Evaluar el efecto erectògeno del extracto etanòlico de las raíces de *Corynaea crassa* (EECC) más selenio (Se) en la disfunción sexual en ratas macho. **Diseño**: Experimental, Pre-clínico, *In vivo*. **Lugar**: Laboratorio de Farmacología Experimental, Facultad de Medicina Humana-UNMSM, Lima, Perú. **Material biológico**: Raíces de "Viagra macho", ratas albinas de 2 meses y pesos entre 150 – 200 gramos. **Intervenciones**: La planta fue colectada en la región de Cajamarca, 42 animales divididos al azar en 7 grupos: 1) SSF 5 mL/kg; 2) sildenafilo 5 mg/kg; 3) EECC 100 mg/kg; 4) EECC 200 mg/kg; 5) EECC 400 mg/kg; 6) EECC 200 mg/kg + Se 1 µg/kg y 7) EECC 400 mg/kg + Se 1 µg/kg. **Principales medidas de resultados:** Se evaluó los parámetros del comportamiento sexual, reflejos del pene, perfil lipídico, glucosa y nivel de testosterona. **Resultados**: Por análisis cualitativo se identificó, alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides, terpenoides, flavonoides, lactonas, saponinas y taninos, DL_{50} 4033 mg/kg. El comportamiento sexual fue dosis dependiente; la administración de 400 mg/kg EECC + Se 1 µg/kg por vía oral incrementó la frecuencia de monta en tanto que la dosis de 100 mg/kg aumentó la frecuencia de intromisión ($p<0.01$). Los niveles de triglicéridos, colesterol total disminuyeron, asimismo aumento significativamente la lipoproteína de alta densidad y testosterona plasmática. **Conclusiones**: El EECC podría estimular la excitación sexual, debido al aumento de las concentraciones de testosterona en sangre y mejoría de los parámetros sexuales.

Palabras clave: Esteroides, medicina tradicional, selenio, sildenafilo, testosterona (DeCS BIREME).

ABSTRACT

Introduction: *Corynaea crassa,* hemiparasitic plant, used as an aphrodisiac in traditional medicine. **Objective:** To evaluate the erecthogenic effect of the ethanolic extract of the roots of *Corynaea crassa* (EECC) plus selenium (Se) on sexual dysfunction in male rats. **Design:** Experimental, Pre-clinic, *In vivo.* **Setting:** Laboratory of Experimental Pharmacology, Faculty of Medicine, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Biological material**: Roots of "Viagra macho", albino rats of 2 months and weights between 150 – 200 grams. **Interventions:** The plant was collected in the region of Cajamarca, 42 animals randomly divided into 7 groups: 1) SSF 5 mL/kg; 2) sildenafil 5 mg/kg; 3) EECC 100 mg/kg; 4) EECC 200 mg/kg; 5) EECC 400 mg/kg; 6) EECC 200 mg/kg + Se 1 µg/kg and 7) EECC 400 mg/kg + Se 1 µg/kg. **Main outcome measures:** The parameters of sexual behavior, penile reflexes, lipid profile, glucose and testosterone level in obese rats were evaluated. **Results**: By qualitative analysis, alkaloids, phenolic compounds, steroids, terpenoids, flavonoids, lactones, saponins and tannins were identified, LD_{50} 4033 mg/kg. Sexual behavior was dose-dependent; the administration of 400 mg/kg of EECC + Se 1 µg/kg was orally increased the riding frequency while the dose of 100 mg/kg increased the frequency of intrusion ($p<0.01$). The levels of triglycerides and total cholesterol decreased, as well as a significant increase in high-density lipoprotein and plasma testosterone. **Conclusions**: EECC may stimulate sexual arousal, due to increased blood testosterone concentrations and improved sexual parameters.

Keywords: Steroids, traditional medicine, selenium, sildenafil, testosterone (DeCS BIREME).

RESUMO

Introdução: *Corynaea crassa,* uma planta hemiparasita, usada como afrodisíaco na medicina tradicional. **Objetivos**: Avaliar o efeito erectogênico do extrato etanólico das raízes de *Corynaea crassa* (EECC) mais selênio (Se) na disfunção sexual em ratos machos. **Desenho:** Experimental, Pre-clínica, *In vivo*. **Lugar:** Laboratório de Farmacología Experimental, Faculdade de Medicina Humana, Universidade Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. **Material biológico:** Raízes de "Viagra macho", ratos albinos de 2 meses e pesos entre 150 - 200 gramas**. Intervenções:** A planta foi coletada na região de Cajamarca, 42 animais divididos aleatoriamente em 7 grupos: 1) SSF 5 mL/kg; 2) sildenafil 5 mg/kg; 3) EECC 100 mg/kg; 4) EECC 200 mg/kg; grupos 5) EECC 400 mg/kg; 6) EECC 200 mg/kg + Se 1 µg/kg e 7) EECC 400 mg/kg + Se 1 µg/kg. **Principais medidas de resultados:** Foram avaliados os parâmetros de comportamento sexual, reflexos penianos, perfil lipídico, nível de glicose e testosterona**. Resultados:** Por análise qualitativa foram identificados, alcalóides, compostos fenólicos, esteróides, terpenóides, flavonóides, lactonas, saponinas e taninos, LD_{50} 4033 mg/kg. O comportamento sexual era dependente da dose; a administração de 400 mg/kg de EECC + Se 1 µg/kg por via oral aumentou a freqüência de montagem, enquanto a dose de 100 mg/kg aumentou a frequência de intrusão ($p<0.01$). Os níveis de triglicerídeos e colesterol total diminuíram, bem como um aumento significativo na lipoproteína de alta densidade e testosterona plasmática. **Conclusões:** O EECC poderia estimular a excitação sexual, devido ao aumento das concentrações de testosterona no sangue e melhora dos parâmetros sexuais

Palavras-chave: Esteroides, medicina tradicional, selênio, sildenafila, testosterona (DeCS BIREME)

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ADMA	Dimetilarginina asimétrica
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
cGMP	Guanosín monofosfato cíclico
DAG	Dieta alta en grasa
EECC	Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa*
ERO	Especies reactiva de oxígeno
G6PD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
GMP	Guanosín monofosfato
GPCR	Receptores acoplados a proteína G
GPX	Glutatión peroxidasa
GTP	Guanosín trifosfato
HDL	Lipoproteína de alta densidad
LDL	Lipoproteína de baja densidad
MLCK	Cadena ligera de la miosina quinasa
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
nNOS	Óxido nítrico sintetasa neuronal
NO	Óxido nítrico
NOs	Óxido nítrico sintasa
RhoA-GDP	RhoA guanosina-difosfato
RhoA-GTP	RhoA guanosina- trifosfato
ROCK	Rho-cinasa
ROS	Sustancias reactiva de oxígeno
SePP	Selenoproteína P
sGC	Guanilato ciclasa soluble
SOD	Superóxido dismutasa
SSF	Solución de suero fisiològico
TGC	Triglicéridos
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación problemática

La disfunción sexual (DS) es un trastorno del comportamiento sexual y la sensación sexual que aparece como una anormalidad o ausencia de la psicología sexual y reacción fisiológica. Del mismo modo, los estudios han demostrado que la DS afecta negativamente la satisfacción sexual y conyugal (Chew et al., 2020).

La DS es un término general para muchos síntomas diferentes que incluye a la disfunción eréctil (DE), falla de las relaciones sexuales y pérdida de la libido/deseo. Según las estadísticas, el 52% de los hombres entre 40 y 70 años sufren diversos grados de DS (Chen et al., 2019).

La DE se describe como la incapacidad de lograr y mantener una erección que sea suficiente para un rendimiento sexual satisfactorio (Mostafa & Taymour, 2020). Los estudios epidemiológicos han demostrado que las tasas de prevalencia varían de 20% a 50% en los hombres de 40 a 70 años de edad (Kucukdurmaz, Acar, & Resim, 2018). En este sentido, la presentación clínica en varones jóvenes con DE ha estado aumentando, con el 25% de nuevos casos que ocurren en hombres menores de 40 años (Wiggins, Tsambarlis, Abdelsayed, & Levine, 2018). En general, los hombres tienen una baja calidad de vida y el riesgo más alto de mortalidad que aquellos que sostienen sus relaciones en el término más largo. La avería matrimonial que puede ser

la consecuencia de trastorno sexual masculino también puede tener un impacto en la próxima generación.

Dos estudios importantes han brindado resultados valiosos: el Estudio Masculino del Envejecimiento de Massachusetts (EMEM) y el Estudio Europeo del Envejecimiento Masculino (EEEM). El EMEM mostró una prevalencia de disfunción eréctil leve a moderada del 52% en hombres de 40-70 años. Por el contrario, el EEEM, el mayor estudio poblacional multicéntrico europeo de hombres que envejecen (40-79 años), informó una prevalencia de disfunción eréctil que varía entre 6% y 64% según los diferentes subgrupos de edad y aumenta con la edad, con una prevalencia promedio de 30% (Yafi et al., 2016).

Diversas investigaciones, han proyectado una población afectada por DE de 322 millones de hombres en todo el mundo para 2025, lo que representa un aumento del 111% desde 1995, demostrando una tendencia al alza en la prevalencia de la DE (Goldstein, Goren, Li, Tang, & Hassan, 2019). En el contexto latinoamericano y nacional no se reporta datos evidentes de esta situación, lo cual conlleva a menudo a un subdiagnóstico, a una infravaloración y a serias repercusiones en la salud y bienestar masculino.

La disfunción eréctil se ha asociado comúnmente con la obesidad (OB) que conduce a la infertilidad coital en los hombres. La OB puede causar DE orgánica debido al síndrome metabólico asociado, que es una combinación de al menos tres de cinco de los siguientes enfermedades: obesidad abdominal (central), hipertensión, diabetes, triglicéridos séricos altos y niveles bajos de lipoproteínas de alta densidad (El Salam, 2018).

La OB conduce a la DE en una medida considerablemente mayor que el envejecimiento. Los mecanismos responsables de la influencia independiente de la obesidad en la disfunción eréctil son: desequilibrio hormonal, disfunción endotelial, resistencia a la insulina, factores psicológicos e inactividad física (Skrypnik, Bogdanski, & Musialik, 2014).

Según los estudios de Xu, Wu, Zhang y Pei (2019), los mecanismos responsables de la influencia independiente de la obesidad en la DE pueden ser los bajos niveles de testosterona, la alta producción de radicales libres y la reducción de la capacidad antioxidante en pacientes obesos que conducen a una disfunción endotelial causando disfunción eréctil orgánica.

Los factores de riesgo como la aterosclerosis, hipertensión, diabetes mellitus, dislipidemia, el estilo de vida sedentario, la OB y el tabaquismo son comunes en hombres con disfunción eréctil orgánica. Se sabe que la gravedad de la DE se correlaciona con el número y la gravedad de los trastornos antes mencionados, mientras que la combinación de estos factores aumenta el riesgo de desarrollar DE (Fillo, Levcikova, Ondrusova, Breza, & Labas, 2017).

La hipertensión y la OB se han relacionado con dificultades de lubricación, orgasmo, DE y enfermedad vascular en los hombres (Alidu et al., 2018). Entre tanto, Di Vincenzo, Busetto, Vettor y Rossato (2018), resaltan que la OB, hipogonadismo, DE y la fertilidad reducida en varones, representan complicaciones que afectan seriamente la calidad de vida y la salud del paciente.

A pesar de estos problemas, el diagnóstico y el tratamiento de la DE en comparación con su prevalencia notificada por los hombres en estudios epidemiológicos es bajo (Donnelly et al., 2018). Lo confirman Abrahamian y Kautzky-Willer (2016), describiendo que la prevalencia de alteraciones de la función sexual en personas obesas son escasos y la mayoría de los estudios son mínimos. Sin embargo, existen evidencias donde la DE es común en pacientes con diabetes que afectan hasta al 50% de los hombres (Sarwer, Hanson, Voeller & Steffen, 2018).

Esfahani y Pal (2018), afirman que la OB puede afectar negativamente el funcionamiento sexual. Sin embargo, las complejas interrelaciones entre

el peso corporal excesivo, la salud mental y el funcionamiento sexual no están claras.

Pocos estudios han evaluado el verdadero impacto social y económico de la DE, los problemas comúnes son la desolación, el sentimiento de culpa que puede incluir ansiedad de la actuación, pérdida de la identidad masculina y distanciando emocional con su pareja (Minhas & Mulhall, 2017). Asimismo, en el contexto de la salud pública, es destacable iniciar el debate sobre la salud sexual (Donnelly et al., 2018).

En el contexto actual, los hombres obesos tienen un mayor riesgo de enfrentar la disfunción eréctil y la reducción de la libido. A pesar de ello, se ha demostrado que estas funciones se restauraron después de la pérdida de peso (Raad et al., 2017). Teniendo presente los riesgos que presentan las personas obesas con disfunción eréctil y los fármacos utilizados a la fecha; es necesario contar con productos naturales para estimular el deseo y mejorar el rendimiento sexual.

La creciente investigación en plantas medicinales pueden ser prometedoras como rutas para desarrollar opciones terapéuticas por el hecho de que muchas personas con disfunción sexual en los países en desarrollo no tienen acceso a instalaciones médicas y la necesidad de medicamentos que estén fácilmente disponibles, sean asequibles y tengan efectos secundarios menos nocivos.

Las plantas medicinales que tienen propiedades afrodisíacas y que mejoran la fertilidad (*Lepidium meyeniii, Moringa oleifera, Musa paradisiaca*) incluyen: *Corynaea crassa* de forma tradicional, que se usa para tratar trastornos sexuales en las zonas nororiental del territorio peruano. No obstante, se necesita una corroboración efectiva de la práctica de la medicina tradicional con un enfoque científico sobre la información basado en eficacia, seguridad y estandarización de algunas de las partes de la planta.

1.2. Formulación del Problema

¿La administración por vía oral del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* (“Viagra macho”) más selenio posee efecto erectógeno en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasas saturadas en ratas macho?.

1.3. Justificación teórica

En la medicina popular peruana contemporánea, un gran número de plantas medicinales se usan con propósitos afrodisiacos, algunas de ellas para modular la actividad sexual. Una de las plantas utilizadas en estas mezclas afrodisíacas se encuentra la *Corynaea crassa* bajo la designación común de "Viagra macho", se usa tradicionalmente como afrodisíaco masculino en la población de la zona rural del norte en el Perú (Malca, Henniga, Sieler, & Bussmann, 2015; Bussmann & Glen, 2010). Por lo tanto, la búsqueda de suplementos naturales a partir de plantas medicinales se está intensificando probablemente debido a su accesibilidad, asequibilidad y se percibe que tienen menos efectos secundarios.

La necesidad de contar con nuevas alternativas proveniente de los extractos vegetales, hace necesaria la investigación para generar evidencia científica de sus posibles efectos terapéuticos (Adhikari, Talukdar, & Borah, 2018). Aunque la medicina sexual basada en la evidencia ha crecido enormemente en las últimas dos décadas y las opciones de tratamiento efectivas para la DE están bien establecidas, aunque existe pacientes todavía insatisfechos con el tratamiento general. Aùn más, recurren a la medicina complementaria o alternativa, que a menudo es una terapia a base de hierbas.

La actividad afrodisíaca de las hierbas medicinales se atribuye a la presencia de uno o más fitoconstituyentes como esteroles, fenoles, alcaloides, aminoácidos y saponinas responsables de mejorar la función

sexual a través de la regulación de los neurotransmisores y la relajación del músculo liso de los cuerpos cavernosos peneanos (Nchegang et al., 2016). De igual manera, las hierbas medicinales han dado lugar a nuevos avances en el tratamiento de la disfunción sexual y se han convertido en todo el mundo como una terapia inmediata (Erhabor & Idu, 2017).

La mitigación del estrés oxidativo, que está involucrado en la infertilidad masculina y femenina, parecería constituir la vía principal por la cual el selenio podría afectar positivamente la fertilidad (Mintziori, Mousiolis, Duntas, & Goulis, 2019). Sería de particular interés las investigaciones sobre el selenio (Se), que funciona como una proteína (selenoproteína) de transporte y almacenamiento, pueden constituir un bioindicador confiable en la infertilidad (Qazi et al., 2019). En consecuencia, las investigaciones centradas en los roles del Se permite validar las evidencias disponibles y agregar nuevas dimensiones al tema de la fertilidad masculina y la suplementación con Se.

Por lo tanto la investigación de productos vegetales asociado a los oligoelementos, puede servir como base para la identificación de nuevas moléculas activas útiles en la disfunción sexual y eréctil. Es importante la búsqueda de nuevos fármacos utilizando como fuente biológica los extractos de plantas, esta área se encuentra en plena vigencia sobre todo teniendo en cuenta las riquezas naturales y biodiversidad de nuestro país.

1.4. Justificación práctica

Para una integración efectiva de la medicina herbal en las prácticas terapéuticas modernas, el nivel de investigación sobre la eficacia preclínica y clínica de estos productos y su complementación o interacción con los productos farmacéuticos modernos debe elevarse a niveles mucho más altos de lo que es actualmente el caso. Es decir nos permite garantizar la eficacia y la reproducibilidad de cualquier agente

medicinal, ya sea una sustancia química única, un extracto o una mezcla de hierbas complejas.

El respaldo de los estudios farmacológicos y los informes sobre eventos adversos e interacciones entre las plantas medicinales son fundamentales para la evaluación de la seguridad de la medicina herbal.

Por ello, los resultados del presente estudio contribuirán a validar las prácticas de la medicina tradicional y ampliar las opciones de prescripción médica y el fomento de la producción de medicamentos naturales debidamente regularizados.

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo general

Evaluar el efecto erectógeno del extracto etanòlico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasas saturadas en ratas macho.

1.5.2. Objetivos específicos

1. Determinar el efecto erectógeno del extracto de las raíces de *Coryneae crassa*, en la disfunción sexual inducida con dieta alta en grasas saturadas en ratas macho

2. Comparar el efecto erectógeno del extracto de las raíces de *Coryneae crassa* y selenio con el sildenafilo en la disfunción sexual con dieta alta en grasas saturadas en ratas macho

3. Identificar los principales metabolitos activos a partir de las raíces de *Corynaea crassa*.

4. Calcular la dosis letal 50 y la concentración mínima efectiva del efecto erectógeno en el extracto etanólico de raíces de *Corynaea crassa.*

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

La filosofía está inextricablemente relacionada con la evolución de las sociedades. Con el desarrollo de la civilización griega comenzó el establecimiento de un enfoque racional de la naturaleza del mundo, que gradualmente incluyó la medicina (Kleisiaris, Sfakianakis, & Papathanasiou, 2014).

Los antiguos médicos griegos, reconocieron que el sexo ayuda a mantener el equilibrio mental. Sin embargo, enfatizaron que el sexo solo es beneficioso cuando hay un aumento de la relación coital, por lo que creían que la abstinencia sexual o la actividad sexual excesiva afectan negativamente la salud mental y física del hombre, llegaron a esta conclusión por observación empírica. Creían que la pérdida y el intercambio de fluidos corporales durante el sexo ayudan a los humores corporales a mantener su equilibrio, que a su vez formará la base de la salud física y mental (Laios et al., 2015).

El punto focal de la cultura griega, es la creencia que la medicina debe practicarse como una disciplina científica basada en las ciencias naturales. La filosofía hipocrática contribuyó al declarar que la medicina moderna debería depender de la observación detallada, la razón y la experiencia para establecer el diagnóstico, pronóstico y tratamiento (Kleisiaris et al., 2014).

Las suposiciones filosóficas se relacionan con la epistemología, la naturaleza del conocimiento. La alineación de la cosmovisión del investigador (es decir, epistemología) con la metodología (enfoque de investigación) y los métodos (herramientas específicas de recopilación de datos, análisis e interpretación) es clave para el diseño de investigación de calidad. Esto explicará las diferencias filosóficas entre los diseños de investigación cuantitativos y cualitativos y cómo afectan las definiciones de investigación rigurosa (Wright, O'Brien, Nimmon, Law, & Mylopoulos, 2016).

Si enmarcamos al holismo como una corriente de pensamiento en la biología, ésta enfatiza que los organismos vivos son más que la suma de sus partes y deberían estudiarse como sistemas integrados o conjuntos. La medicina de sistemas, que en parte surge del proyecto del genoma humano y de la genómica, refleja esta realización: para entender, predecir y, por tanto, controlar, la complejidad de la salud y la enfermedad (Wang, Maron, & Loscalzo, 2015).

De igual forma, Vogt, Hofmann y Getz (2016), agregan el concepto de medicina de sistemas (o medicina P4: predictivo, preventivo, personalizado y participativo) impulsado por estrategias de nuevos avances tecnológicos para el diagnóstico de enfermedades y está a la vanguardia del movimiento post-genómico hacia la medicina de precisión. De particular interés, la medicina de sistemas P4 se promete actualmente como un nuevo enfoque biomédico revolucionario que es holístico en lugar de reduccionista.

En la Figura 1, la investigación basada en la teoría emplea el razonamiento deductivo como parte del método científico, es decir, a partir de la identificación de una teoría, a través de la formulación de una hipótesis y la recolección de datos, para confirmar un patrón o diseño con generalización.

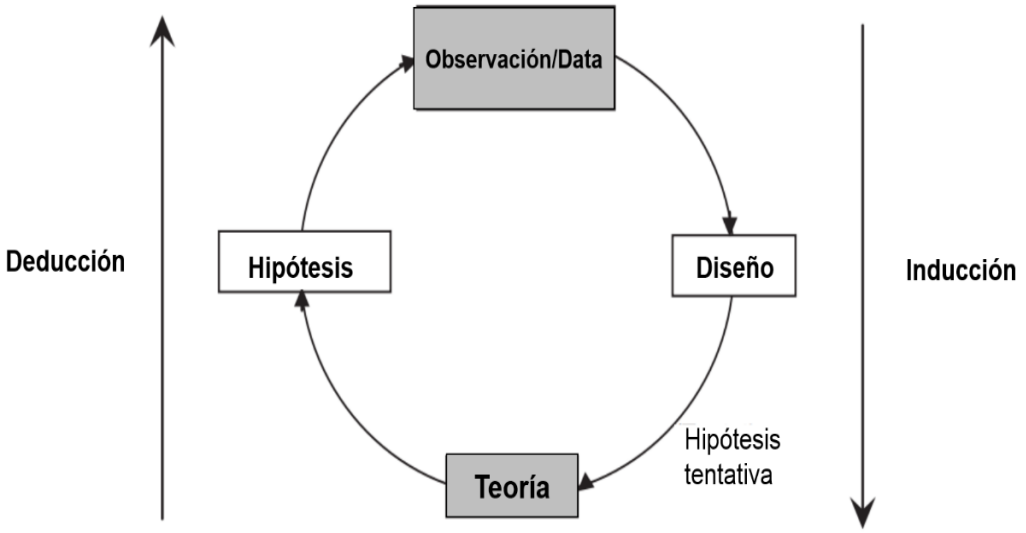


Figura 1. **Razonamiento o lógica de investigación.** Adaptado de "Research philosophy in pharmacy practice", por W. Winit-Watjana, 2016, International Journal of Pharmacy Practice, 24, p.3.

Sin embargo, algunos investigadores pudieron comenzar su estudio con la observación de datos por medio del inductivo razonamiento (Winit-Watjana, 2016). Por ello, una comprensión profunda de la filosofía permitirá a los investigadores pensar en las razones por qué y qué investigar, seleccionar la metodología más adecuada para el estudio y los métodos detallados.

La presente investigación se sustenta en las bases epistemológicas con enfoque positivista debido a que el mundo externo es ordenado, regular y que hay una realidad objetiva (o verdad) con patrones específicos, que pueden ser explicados a través de teorías o leyes.

Es necesaria la capacidad filosófica para permitir que el profesional de las ciencias de la salud reflexione clara y lógicamente sobre su teoría y práctica, logrando así un equilibrio entre la ciencia y el humanismo. También se sugieren razones por las que se debe asignar un papel al lenguaje no científico en la planificación de la atención de salud centrada en el individuo. La filosofía puede contribuir al progreso de la medicina a través del análisis conceptual y la clarificación epistemológica.

2.2. Antecedentes de investigación

Ademosun, Adebayo y Oboh (2019), evaluaron el efecto del extracto de *Anogeissus leiocarpus* en los índices del comportamiento sexual. El método de estudio fue experimental, con una muestra de cuarenta y dos ratas machos adultas divididos en siete grupos experimentales. Los resultados hallados fue que la paroxetina provocó un aumento significativo en las latencias de montaje e intromisión, con una disminución concomitante en los números de montaje e intromisión en ratas macho y aumentó las actividades de fosfodiesterasa-5, arginasa y acetilcolinesterasa con una disminución concomitante en el nivel del NO. Sin embargo, el tratamiento con extracto de corteza de tallo de *Anogeissus leiocarpus* revirtió el comportamiento sexual alterado en ratas macho y atenuó la actividad de fosfodiesterasa-5, arginasa y acetilcolinesterasa. Los investigadores concluyeron que *Anogeissus leiocarpus* podría considerarse un agente natural prometedor en el manejo de la disfunción eréctil.

Eser et al. (2019), determinaron si el extracto de raíz de *Ferula elaeochytris* (FE) podría afectar la DE en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina. En el estudio experimental, se obtuvieron los resultados con la administración de FE a ratas diabéticas, revirtiendo la disminución de las respuestas neurogénicas y restauró los niveles de espermatozoides y mejoró el peso de los testiculos. Los autores concluyeron que el extracto de FE mejora la respuesta de la DE en ratas inducidas por estreptozotocina.

Ojo et al. (2019), evaluaron los efectos inhibitorios del extracto acuoso de *Ocimum gratissimum* en las enzimas como fosfodiesterasa-5 (PDE-5), enzima convertidora de angiotensina-1 (ACE-1), acetilcolinesterasa (AChE) y arginasa) relevantes para la DE en homogeneizados de tejido peneano y testicular en ratas. Los resultados revelaron que los extractos de *O. gratissimum* exhibieron propiedades inhibitorias sobre las actividades enzimáticas involucradas especialmente la PDE-5 en la

función eréctil y mostraron capacidades de eliminación de radicales libres que podrían estar conectadas a sus componentes fenólicos y flavonoides. Los autores concluyeron que los extractos de *O. gratissimum* poseen actividad antioxidante y posiblemente podría explicar su uso en el manejo de la disfunción eréctil.

Besong, Ateufack, Babiaka y Kamanyi (2018), estudiaron los efectos del extracto metanólico foliar de *Pseudopanax arboreus* (EMFPA) sobre la disfunción sexual inducida por amitriptilina en ratas macho. Se dividieron al azar en 4 grupos de 8 ratas cada uno. En los resultados obtenidos, los grupos con EMFPA registraron una disminución significativa en la latencia de la monta (LM) y latencia de la intromisión (LI); aumento no significativo en la frecuencia de montaje (FM), la frecuencia de intromisión (IF) y el lamido del pene (LP); disminución significativa en el intervalo posterior a la eyaculación (IPE); efectos de contraste en la latencia de la eyaculación (LE); y el intervalo medio de intromisión (IMI). Los autores concluyeron que el EMFPA mejora la función sexual en ratas macho inducidas por amitriptilina y es no tóxico. Su mecanismo de acción no implica la secreción de andrógenos, pero podría ser a través de la acción que imita a la testosterona.

Gill et al. (2018), estudiaron el potencial afrodisíaco del extracto metanólico de la corteza de *Saraca asoca* (EMCSA) en ratas albinas macho. Se aplicó el método experimental, a las ratas macho se administró una dosis diaria durante 54 días a una dosis de 100 mg/kg vía oral. La prueba se realizó los días de estudio número 14, 28, 42 y 54. En los resultados se obtuvó mejora en el comportamiento sexual de las ratas, la misma que aumentó la frecuencia de montaje e intromisión, una disminución de la latencia de montaje y la latencia de intromisión en comparación con el grupo control. Se encontró que el EMCSA era seguro ya que no afectaba el recuento, la motilidad y la morfología de los espermatozoides. Los investigadores concluyeron que EMCSA (100 mg/kg) se redujeron significativamente la latencia de montaje e intromisión, aumentó significativamente la frecuencia de montaje, así

como de intromisión, indicando así su potencial efecto afrodisíaco, incremento del deseo y excitación sexual.

Kale, Awodele y Akindele (2018), evaluaron los potenciales reproductivos y sexual asociados del extracto hidroetanólico de las raíces de *Acridocarpus smeathmannii* (EHRAS) en ratas macho. La muestra fue de cincuenta y cuatro ratas albinas macho (180 ± 20 g) se dividieron en nueve grupos de seis ratas por grupo. En los resultados obtenidos se describe que la administración del EHRAS o con sildenafilo, mesterolona y doxazocina aumentó el esperma en 38.29%, 55.21%, 42.48% y 48.98%, respectivamente. El EHRAS con sildenafilo elevó los niveles de testosterona y hormona estimulante del folículo en 36.33% y 24.55%. Los investigadores concluyeron que el EHRAS puede ser relativamente seguro para el consumo y demostraron ser un potenciador reproductivo masculino, que en parte puede justificar sus aplicaciones folclóricas.

Olabiyi, Oboha, Ishola, Adeniyi y Boligonc (2018), investigaron al *Tetracarpidium conophorum* en el comportamiento sexual y los parámetros bioquímicos relevantes para la función sexual en ratas macho. El método de estudio fue experimental, la muestra estuvo conformada por cuarenta animales, se realizó la medición de los niveles de óxido nítrico (NO), adenosina desaminasa (ADA), arginasa y acetilcolinesterasa (AChE) en el cuerpo cavernoso. Entre los resultados, cuando se compararon con el control, se observaron reducciones marcadas en las actividades de ADA y arginasa, aumento en el nivel de NO, así como un aumento de las conductas sexuales en la nuez suplementada alimentada en ratas. Además, el análisis de la nuez mediante cromatografía líquida de alto rendimiento indicó la presencia de algunos polifenoles. Los investigadores concluyeron que *T. conophorum* mejora el comportamiento sexual y modula las actividades de enzimas clave relevantes para la erección en ratas, se pueden justificar su uso en la medicina tradicional.

Preedapirom, Changwichit, Srisawang, Ingkaninan y Taepavarapruk (2018), analizaron si el extracto etanólico de *Eulophia macrobulbon* (EEEM) podría mejorar la función eréctil en un modelo experimental en ratas con disfunción eréctil. El método aplicado fue experimental, este estudio se realizó en ratas adultas, el EEEM se aplicó a dosis de 15, 150 y 450 y citrato de sildenafilo a dosis de 5 mg/kg de peso corporal se administraron por vía oral a ratas macho una vez al día durante 21 días. Los parámetros de apareamiento y la presión intracavernosa (PIC) se midieron para evaluar sus funciones sexuales y de erección. Los resultados mostraron un aumento significativo de la motivación sexual, el rendimiento de la copulación y la PIC de ratas de edad tratadas con citrato de sildenafilo y todas las dosis de EEEM en comparación con las ratas de edad de control. Además, los niveles séricos de testosterona aumentaron ligeramente y se observó un aumento significativo en la concentración de cGMP en el pene en estas ratas de edad tratadas con citrato de sildenafilo y EEEM. Los autores concluyeron que el EEEM podría inhibir la actividad de la PDE5 en el tejido del pene, lo que resultaría aumento del nivel de cGMP y mejoraría la función eréctil y el rendimiento sexual.

Wattanathorn et al. (2018), determinaron el efecto del extracto de las hojas de *Anacardium occidentale* en las conductas sexuales masculinas de ratas expuestas al estrés. El método aplicado fue experimental, se les administró por vía oral *A. occidentale* a dosis de 25, 100 y 200 mg/kg de peso corporal. Entre los resultados resaltantes se obtuvó, aumento de la testosterona sérica, la expresión de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOs) en el pene y la disminución de la corticosterona sérica se observaron en algunas dosis. Los autores concluyen que el extracto de hojas *A. occidentale* es el agente protector potencial contra la disfunción sexual.

Yakubu y Atoyebi (2018), evaluaron la eficacia del extracto acuoso de las raíces de *Brysocarpus coccineus* (EABC) con una formulación herbal.

El método fue experimental, con una muestra de noventa ratas macho maduradas sexualmente (150.88 ± 5.53 g) se asignaron en dos grupos: A y B. La dosis fue de 50, 100 y 150 mg/kg peso del EABC, respectivamente, durante 7 días. Los resultados destacan que la frecuencia de eyaculación disminuyó ($p<0.05$), las frecuencias de monta e intromisión fueron altas, la eyaculación y el intervalo post-eyaculatorio, se redujeron. Los investigadores concluyeron que el EABC mejoró el rendimiento sexual y la función testicular en la disfunción sexual y testicular inducida por paroxetina en ratas macho con la mejor actividad a 150 mg/kg de peso corporal. El rendimiento sexual reinstaurado involucra el mecanismo de acción basado en la testosterona y el óxido nítrico.

Carro-Juárez, Rodríguez-Santiago, Franco y Hueletl (2017), determinaron las propiedades afrodisíacas de los extractos crudos acuosos de maíz morado en el comportamiento copulatorio de la rata macho. El método de estudio fue experimental, en la muestra se utilizaron ratas macho sexualmente vigorosos (300-350 g de peso corporal). El extracto vegetal provocó aumento significativo en el número de descargas de los patrones motores eyaculadores y en el número total de patrones motores genitales. Los investigadores concluyeron que el extracto acuoso crudo de maíz morado posee actividad afrodisíaca actuando en niveles principales del sistema nervioso central que controlan la eyaculación, el cerebro y la médula espinal.

De Souza et al. (2017), caracterizaron un modelo experimental de disfunción eréctil en ratas asociado a un consumo de dieta hipercalórica. El método utilizado fue experimental, los animales se dividieron al azar en un grupo de control (GC), que recibió una dieta estándar, y el grupo de obesos (GO), alimentados con una dieta hipercalórica durante 8 semanas, la función eréctil de la rata se evaluó *in vivo* e *in vitro.* En los resultados, el análisis de la función eréctil, tuvo una disminución en el número y la latencia de las erecciones del pene del grupo GO, además favoreciendo la detumescencia del pene y se relacionó con una

biodisponibilidad reducida del NO y un aumento en los niveles de prostaglandinas contráctiles como consecuencia del daño endotelial. Los autores establecieron el desarrollo de la DE en ratas provocada por un consumo de dieta hipercalórica caracterizada por una disfunción endotelial asociada a una menor biodisponibilidad de NO y el aumento de las prostaglandinas contráctiles.

Erhabor y Idu (2017), evaluaron el potencial afrodisíaco de la raíz de *Aloe barbadensis* en ratas macho Wistar. El método de estudio fue experimental, con una muestra de setenta y cinco (75) ratas machos y treinta 30 ratas hembras. Los resultados del estudio de comportamiento sexual indicaron que el extracto etanólico de *A. barbadensis* aumentó significativamente la frecuencia de montaje y la frecuencia de intromisión pero disminuyó significativamente las latencias de montaje e intromisión de una manera dependiente de la dosis. Las concentraciones de testosterona y colesterol también aumentaron a medida que aumentaba la dosis, particularmente los días 1 y 7. Los investigadores concluyeron que el aumento de las concentraciones de testosterona y colesterol en sangre por el extracto etanólico de *A. barbadensis* son los posibles mecanismos de acción de su propiedad afrodisíaca.

Tang, Olatunji, Zhou y Hou (2017), evaluaron las propiedades afrodisíacas y vasorrelajantes de *Allium tuberosum* en el músculo liso del cuerpo cavernoso. Aplicaron el método experimental. Los resultados de *A. tuberosum* relajó el músculo liso del cuerpo cavernoso (68.9%) a una concentración de 200 µg/mL. Así mismo aumentó significativamente los parámetros del comportamiento sexual en ratas machos. Además mejoró significativamente la viabilidad y el recuento de espermatozoides, también aumentó las concentraciones de testosterona. Los autores afirmaron que *A. tuberosum* podría estimular la excitación sexual y mejorar la actividada sexual en ratas macho.

Estrada, Ferreyra, Jiménez, Hernández y Martínez (2016), determinaron el efecto prosexual del extracto acuoso de *Chrysactinia mexicana* en

ratas con agotamiento sexual. El método de estudio de aplicación fue experimental, teniendo como muestra 69 ratas macho adulto de 300 gramos de peso corporal. Los resultados obtenidos fueron que *C. mexicana* (320 mg/kg), aumentaron significativamente la eyaculación en ratas con agotamiento sexual y reanudaron la cópula después de la eyaculación. En conclusión, los efectos prosexual de *C. mexicana*, actúan a nivel central, lo que apoya el uso tradicional de *C. mexicana* para estimular la actividad sexual.

Goswami et al. (2016), evaluaron el efecto erectógena y afrodisíaca de *Moringa oleifera*. El método fue experimental, con una muestra de 30 ratas macho, divididas en cinco grupos, cada uno con seis animales. Los resultados fueron que el extracto metanólico de las semillas de *Moringa oleífera*, relajó significativamente el músculo liso del cuerpo cavernoso de la rata aislado a 0.1-100 µg/mL *in vitro* y aumento significativamente ($p<0.05$) la actividad sexual, en ratas normales y diabéticas. Los investigadores concluyeron que el aumento en la función eréctil de las ratas por el extracto metanólico de las semillas de *M. oleífera* podría deberse a su actividad inhibidora de la enzima epóxido hidrolasa.

Fouche, Afolayan, Wintola, Khorombi y Senabe (2015), investigaron los efectos afrodisíacos del extracto de *Monsonia angustifolia* sobre el comportamiento sexual en ratas Wistar. El método de estudio era experimental. Los resultados obtenidos fueron que el extracto aumento significativamente ($p<0.05$) la frecuencia de montaje, frecuencia de intromisión, frecuencia de la eyaculación, latencia de la eyaculación y las concentraciones séricas de hormonas. Sin embargo, la latencia de montaje, latencia de intromisión y el intervalo de eyaculación posterior disminuyeron significativamente a lo largo del período experimental. La administración de 300 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso produjo los mejores efectos en todos los parámetros. Los autores concluyeron que los resultados validan el uso de la planta por aumentar la libido a nivel experimental.

Tinco (2010) determinó el efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de *Jatropha macrantha* Müll Arg. “huanarpo macho” en ratas con inducción de disfunción eréctil. El método de aplicación fue experimental. Los resultados destacan una mejor frecuencia de montaje a dosis dependiente comparado al grupo control y al sidenafilo ($p < 0.05$); que permitió determinar la dosis efectiva media (DEM) de 157.1 mg/kg, porcentaje de variación de 71.11; 95 % y 75; 100% de efecto para 200 y 300 mg/kg de huanarpo, constituyendo el parámetro más importante. El autor concluye que existe un marcado efecto modulador de la erección del pene por influencia del extracto metanólico de *Jatropha macrantha*.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Disfunción sexual masculina

La disfunción sexual masculina (DSM) se define como una condición física o psicológica que impide al hombre alcanzar la satisfacción sexual, abarca la DE, la eyaculación precoz, la pérdida de la libido y el hipogonadismo (La, Roberts, & Yafi, 2018).

La DSM incluye la disfunción eréctil, la disfunción eyaculatoria, el hipogonadismo, el bajo deseo sexual otras alteraciones morfológicas del pene (Minhas & Mulhall, 2017).

El hipogonadismo es un trastorno que afecta a los hombres que envejece, con casi la mitad de los hombres de al menos 60 años de edad (Figura 2). Además, están asociado a la testosterona baja tal como obesidad, síndrome metabólico y enfermedades cardiovasculares (La et al., 2018). Del mismo modo, el hipogonadismo y la DE son características clínicas muy comunes de los pacientes que padecen diabetes mellitus de larga evolución. Si se identifican temprano, estas afecciones pueden tratarse con éxito, lo que lleva a una mejor calidad de vida en los pacientes diabéticos (Mushtaq, Khan, Abid, Umer, & Raza, 2018).



Figura 2. **Características clínicas del hipogonadismo y obesidad.** Un hombre de 32 años con deficiencia severa del andrógeno (hipogonadismo y anosmia hipogonadotróficos) que presenta DSM. Adaptado de “Endocrinology of male sexual dysfunction” por S. Minhas, & J. Mulhall, 2017, Male Sexual Dysfunction A Clinical Guide, p.37.

Alidu et al. (2018), han informado que los pacientes hipertensos tienen un mayor riesgo de desarrollar diabetes y disfunción sexual. Agrega que la hipertensión se ha relacionado con dificultades lubricantes y orgásmicas en la disfunción eréctil y la enfermedad vascular en los hombres. La obesidad también se ha relacionado con la disfunción eréctil en hombres diabéticos. La hipertensión y

la obesidad están estrechamente relacionadas, cada una de las cuales se produce con mayor frecuencia, es lógico pensar que las comorbilidades de la obesidad y la hipertensión podrían aumentar el riesgo de enfermedad cardiovascular y disfunción sexual.

Los cambios en el estilo de vida, incluidas las dietas saludables y el aumento de la actividad física, han sido el pilar en la prevención y el manejo de la obesidad y el síndrome metabólico. Debido a que existe pruebas crecientes que apoyan la asociación de la obesidad y el metabolismo síndrome con la función sexual masculina tal como la disfunción eréctil. (Mushtaq et al., 2018)

2.3.2. Disfunción eréctil

La disfunción eréctil (DE) es un problema común y difícil para los hombres, sus parejas y sus familias. El campo del estudio de la función eréctil se han incrementado en las últimas dos décadas. Si bien el progreso ha sido significativo, la disfunción eréctil fue descrita y tratada durante siglos con escritos sobre "impotencia" y remedios caseros para curas descritos por escritores y médicos desde la antigüedad (Köhler & McVary, 2016).

a) Etiología

Aunque los problemas de erección han sido una preocupación para los hombres durante siglos en la cultura occidental, siempre se ha entendido como una experiencia incómoda, un comportamiento problemático o un trastorno personal.

Cuando ocurre la disfunción eréctil tiene un fuerte sesgo biomédico que sobreestima los aspectos biológicos y las enfermedades asociadas (hipercolesterolemia, diabetes mellitus e hipertensión) y refuerza la idea de una sexualidad masculina definida por la capacidad de tener una erección y penetrar.

Los fármacos pueden afectar la función sexual a través de sus efectos sobre el sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico (autónomo) o por efectos hormonales. Como la mayoría de los pacientes no expresan espontáneamente sobre su vida sexual, es importante evaluar a los pacientes con medicamentos críticos para detectar una posible disfunción sexual (Taegtmeyer & Krähenbühl, 2015).

Los medicamentos críticos en relación con la función sexual incluyen medicamentos sedantes, medicamentos que afectan las vías de señalización central de serotonina, dopamina y/o prolactina, así como ciertos antihipertensivos. Los fármacos antihipertensivos se han relacionado más comúnmente con la DE incluyen clofibrato , cimetidina, digoxina, antineoplásicos y diversos agentes hormonales (Chen et al., 2019).

Si una situación esta presente y surge la disfunción sexual, el tratamiento con el fármaco sospechoso debe suspenderse y posiblemente cambiarse a uno con menos efectos adversos. Se puede considerar el uso de inhibidores de la fosfodiesterasa 5, que son en gran medida eficaces y seguros tanto para pacientes con afecciones psiquiátricas como para pacientes con hipertensión (Taegtmeyer & Krähenbühl, 2015).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que las indicaciones como la esquizofrenia, la depresión y el síndrome metabólico, están asociadas con la disfunción sexual (Taegtmeyer & Krähenbühl, 2015). Además, no se debe descuidar el impacto adverso de los agentes ambientales naturales o sintéticos en la salud sexual masculina (Chen et al., 2019).

La DE se clasifica según su origen (Tabla 1): psicógena y orgánico (neurológico; vasculogénico, debido a otras trastornos médicos o urológicos y factores del pene; endocrinológico; y drogas inducidas)

Tabla 1. **Etiología de la disfunción eréctil**

Psicógeno	
Problemas psicológicos y mental	
Problemas de relación /Insatisfacción de la pareja	
Depresión	
Orgánico	
- Neurológico	
	Lesión del sistema nervioso central
	Esclerosis, apoplejía
	Neuropatía periférico
- Enfermedades	
	Insuficiencia hepática y renal
	Dislipidemia
	Apnea del sueño.
- Factores peneanos	
	Fibrosis cavernoso
	Enfermedad de Peyronie's
	Fractura peneana
- Endocrino	
	Hipogonadismo, diabetes mellitus,
	Enfermedades urológicas
	Hipertrofia prostática benigna
	Infecciones urinarias
- Indución por fármacos	
	Antihipertensivos
	Antidepresivos
	Antiandrógenos
	Opioides
	Iatrogénico
	Efectos adversos por fármacos
- Posoperatorio	
- Posradiación	

Fuente. Adaptado de "Contemporary Treatment of Erectile Dysfunction: A Clinical Guide"por Köhler, T. & McVary K, 2016, p. 59, Springfield, EEUU: Humana Press.

Las causas psicógenas pueden contribuir a la DE, esta relacionados con el rendimiento o asociados con angustia psicológica. Un factor psicógeno clave es la ansiedad de rendimiento, con el temor a la falla durante las relaciones sexuales que conducen a una función eréctil deficiente.

Corona et al. (2017), en una revisión sistemática y metanálisis de ensayos controlados aleatorios (ECA), evaluaron la tasa de efectos secundarios sexuales en varones tratados con inhibidores de la 5α-reductasa (I5AR), destacando un aumento significativamente del riesgo de la disfunción eréctil y deseo sexual hipoactivo en sujetos con hiperplasia prostática benigna, particularmente cuando hay síntomas obstructivos.

Con frecuencia, se puede formular un plan de tratamiento luego de que se lleva a cabo una historia enfocada, un examen físico y un trabajo de laboratorio básico (Papagiannopoulos, Khare, & Nehra, 2015).

b) Factores de riesgo

Los factores de riesgo para DE son numerosos (Tabla 2), aunque la edad es el principal factor de riesgo para DE. La prevalencia y la gravedad de la disfunción eréctil aumentan con la edad, con un 39% de hombres de 50 años con algún tipo de disfunción eréctil, y la tasa aumenta al 67% en los hombres a los 70 años en el Estudio Masculino del Envejecimiento de Massachusetts (EMEM). Estos datos son corroborados por otros dos grandes estudios independientes que incluyen 2476 españoles y 1464 hombres de Medio Oriente (Köhler & McVary, 2016). En efecto, la literatura sugiere que el dejar de fumar, el tratamiento de la hiperlipidemia y el aumento de la actividad física mejorarán la función eréctil en muchos pacientes (De Lay, Haney, & Hellstrom, 2016).

Tabla 2. **Factores de riesgo de la disfunción eréctil**

Edad
Enfermedad arterial coronaria y periférica
Hipertensión
Obesidad, sedentarismo
Diabetes mellitus
Hipertrofia prostática benigna
Hipogonadismo
Tabaquismo
Depresión
Estrés emocional
Alcohol y abuso de fármacos

Fuente. Adaptado de "Contemporary Treatment of Erectile Dysfunction: A Clinical Guide" *por* Köhler T. & McVary K, 2016, p.61 , Springfield, EEUU: Humana Press.

c) Mecanismo fisiológico y bioquímico de la disfunción eréctil:
La comprensión molecular y fisiológica de la función eréctil continúa ganando terreno a un ritmo particularmente rápido. Los avances en el descubrimiento de genes han ayudado en el conocimiento práctico de las vías de relajación/contracción del músculo liso. La comprensión de la vía del óxido nítrico ha ayudado no solo en la comprensión molecular de la tumescencia, sino también en la terapia de la disfunción eréctil.

El pene permanece en estado flácido cuando se contrae el músculo liso. La contracción del músculo liso está regulada por una combinación de control adrenérgicos (noradrenalina), control miogénico y factores de contracción derivados del endotelio (prostaglandina y endotelinas). Tras la estimulación sexual, se produce la erección después de que se libera óxido nítrico (NO) a partir de fibras nerviosas no adrenérgicas no colinérgicas (NANC) y se libera acetilcolina de las fibras nerviosas colinérgicas parasimpáticas (Figura 3).

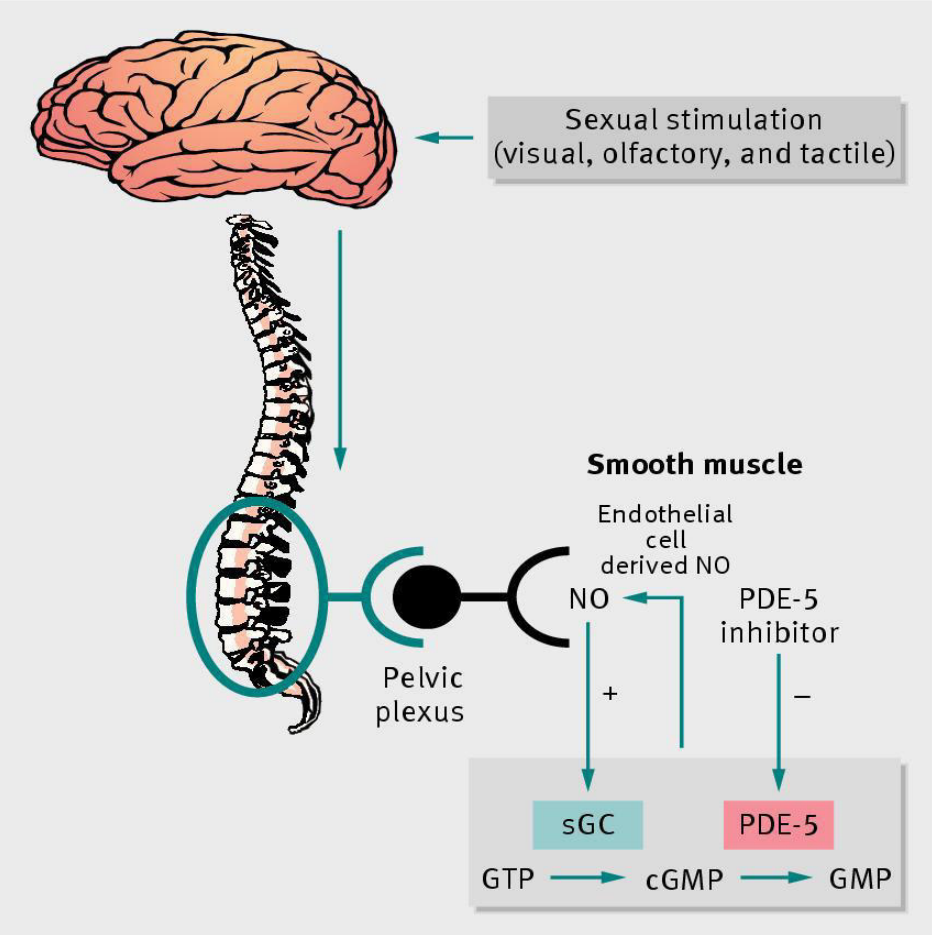


Figura 3. **Relajación del músculo liso peneano.** Vía de la disfunción eréctil que ilustra la vía bioquímica intracelular y el sitio de acción de los inhibidores de PDE-5 (fosfodiesterasa-5). cGMP = monofosfato de guanosina cíclico; GTP = guanosina-5'-trifosfato; NO = óxido nítrico; PDE-5 = fosfodiesterasa tipo 5; sGC = guanilato ciclasa soluble. Adaptado de "Erectile dysfunction", por Muneer A, Kalsi J & Arya M, 2014, BMJ, 348, pp.1-9.

Las vías de señalización resultantes son el aumento de las concentraciones de GMP cíclico (cGMP), la disminución de Ca^{2+} intracelular y la relajación de las células musculares lisas. A medida que el músculo liso se relaja, la sangre puede llenar los espacios en los cuerpos cavernosos, lo que lleva a la compresión de las vénulas subtunicales, bloqueando así el flujo venoso (veno oclusión). El proceso se invierte ya que la cGMP es inhibido mediante la enzima fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5) (Figura 4). La disfunción eréctil puede ocurrir cuando cualquiera de estos procesos se interrumpe (Yafi et al., 2016).

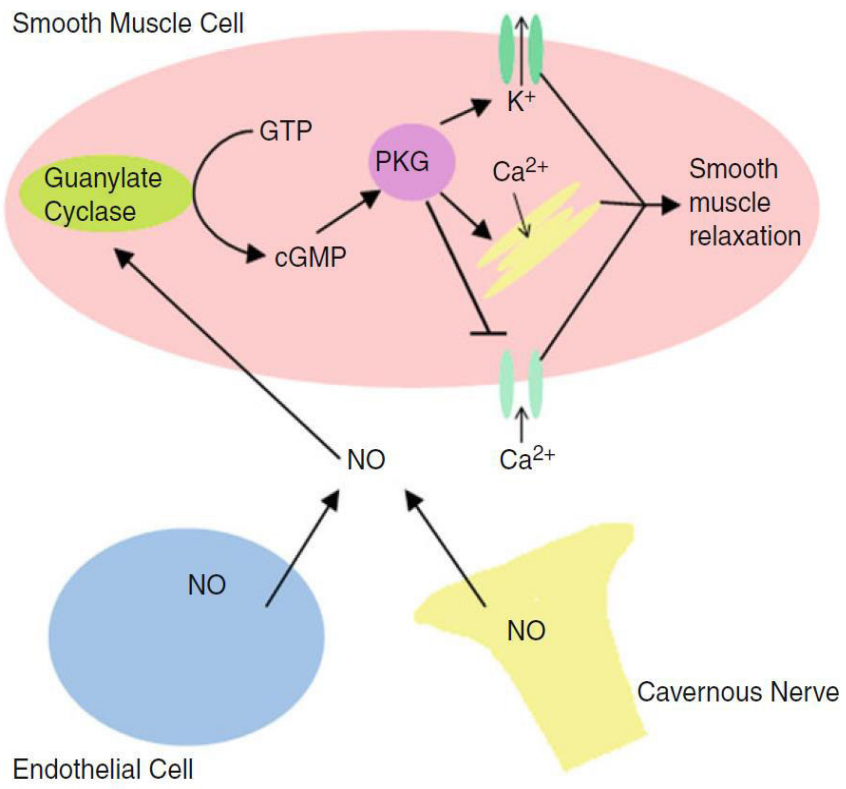


Figura 4. **Erección peneana por NO**. El óxido nítrico (NO) liberado del endotelio y terminales del nervio cavernoso estimula la guanilato ciclasa dentro de la célula del músculo liso que conduce a la producción de guanosina cíclica monofosfato (cGMP) de trifosfato de guanosina (GTP). cGMP activa la proteína quinasas (PKG) y bloqueo de calcio y la hiperpolarización lleva a relajación de las células musculares lisas a través de la inactivación de la miosina unidades contráctiles. Adaptado de "Contemporary Treatment of Erectile Dysfunction A Clinical Guide" por Köhler, T & McVary K, 2016, p. 22, Springfield, EEUU: Humana Press.

El NO está íntimamente involucrado en la disfunción eréctil. Las alteraciones asociadas al NO pueden alterar una serie de mecanismos relevantes, que incluyen actividades de anticoagulación y antiinflamatorias, crecimiento vascular y capacidad de remodelación (Yao, Ma, Tan, & Liu, 2018). Debido a esta disfunción, el pene no se perfunde suficientemente para llenar los sinusoides cavernosos y provocar una erección. Esta falta de vasodilatación dependiente del endotelio vincula la DE con la diabetes, la enfermedad cardiovascular (ECV) y la hipertensión, lo que enfatiza el papel vital que la pérdida de la vasodilatación endotelial/NO-dependiente desempeña en la DE (Yafi et al., 2016).

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) están implicadas en la DE diabética tipo 1 y en estudios demuestran que el bloqueo de ERO previene el deterioro de la vasodilatación mediada por el NO. Otro proceso importante que une el NO y la DE es el deterioro de los nervios NANC o la liberación de NO mediada por óxido nítrico sintasa neuronal (nNOS). Los estudios han encontrado que los animales diabéticos tipo 1 tienen una relajación disfuncional de los cuerpos cavernosos en respuesta a la estimulación eléctrica, lo que indica un deterioro en el nervio NANC. También se ha encontrado que los modelos animales diabéticos tipo 2 son deficientes en el nNOS peneal (Lasker, Maley, & Kadowitz, 2010).

Por otro lado, Sopko, Hannan y Bivalacqua (2014), han demostrado la importancia de la señalización de la proteína quinasa asociada a RhoA en el mantenimiento del estado flácido del pene y la inhibición de la señalización de RhoA, esta enzima potencia la relajación en el músculo liso del NO.

En la Figura 5 se describe la entrada de Ca^{2+} en las células, aumentando el Ca^{2+} intracelular que está disponible para unirse a la calmodulina. Esta unión causa un cambio conformacional, lo que permite la formación de complejos con la cadena ligera de la miosina quinasa (MLCK), con la posterior fosforilación del complejo miosina-actina que da como resultado la contracción del músculo liso y un pene flácido. La ruta de Rho se inicia mediante la unión del agonista de los receptores acoplados a proteína G (GPCR), que activa al RhoGEF, facilita la conversión de RhoA guanosina-difosfato (RhoA-GDP) a RhoA guanosina- trifosfato (RhoA-GTP) y la disociación de Rho guanosina difosfato inhibidor (RhoGDI). La RhoA-GTP se reubica en la membrana plasmática, donde se une a la enzima Rho-cinasa (ROCK), lo que facilita la autofosforilación de ROCK mejorando su capacidad de fosforilar y desactivar la fosfatasa de la miosina (PCML), aumentando la respuesta contráctil de la célula al Ca^{2+}. (Sopko et al., 2014).

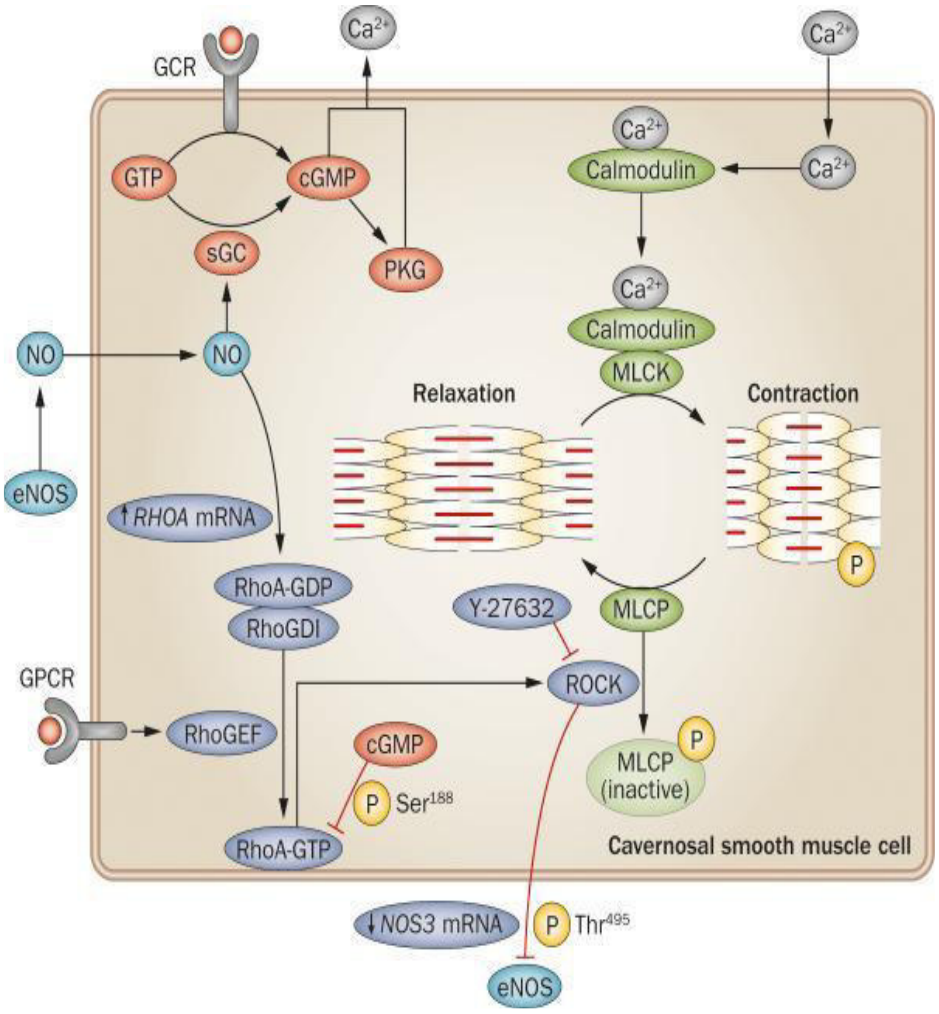


Figura 5. **Vías de contracción y relajación en células cavernosas del músculo liso.** Abreviaturas: cGMP, GMP cíclico; eNOS, óxido nítrico sintetasa endotelial; mARN, ácido ribonucleico mensajero; sGC, guanilil ciclasa soluble; Ca^{2+} calcio intracellular; GCR, receptor de guanilil ciclasa; GPCR, receptor acoplado a proteína G; MLCK, quinasa de cadena ligera de miosina; MLCP, fosfatasa de cadena ligera de miosina; NO, óxido nítrico; NOS3, óxido nítrico sintasa 3; P, fosforilación; PSer 188, fosforilación de Ser 188; PThr 295, fosforilación de Thr 295; PKG, proteína quinasa G; RhoGDI, inhibidor de disociación RhoA-GDP; RhoGEF, factor de intercambio de guanina Rho; ROCK, proteína quinasa asociada a Rho; Y-27632, (R) - (+) - trans -N- (4-piridil) -4- (1-aminoetil) – ciclohexanocarboxamida. Adaptado de "Understanding and targeting the Rho kinase pathway in erectile dysfunction", por Sopko N, Hannan J & Bivalacqua T, 2014, Nat Rev Urol, 11, p. 14.

El resultado es un aumento transitorio de Ca^{2+} que inicia la respuesta contráctil y la activación paralela del mecanismo de "sensibilización al calcio" operado por la vía RhoA/ROCK, que la mantiene una sobre expresión de ésta parece contribuir a la

patogenia de diversos trastornos vasculares como la hipertensión, el vasoespasmo o la disfunción eréctil. El uso tradicional de *Eurycoma longifolia* para los trastornos sexuales masculinos podrían deberse al potencial inhibición de la ROCK-II (Ezzat, Okba , Ezzat, Aborehab, & Mohamed, 2019).

Zhang, Jia, Zhang, Ji y Li (2019), sostienen que la hormona angiotensina II media la vasoconstricción mejorando la generación de radicales libres induciendo la activación de la RhoA/Rho quinasa que a su vez aumenta la fosforilación de cadena ligera de miosina ,promoviendo así la vasoconstricción y la flacidez del pene. Entre tanto Ding, Shen y Li (2017), indican que la disminución de nNOS y el aumento de la expresión de la enzima (Rho-kinasa, ROCK) pueden ser razones importantes para la DE asociada a la edad, además, la relación nNOS/Rho-quinasa puede ser posible indicador de la función eréctil.

2.3.3. Disfunción eréctil y obesidad

La OB es un problema de salud pública importante en todo el mundo y se asocia frecuentemente con la DE. Ambas condiciones pueden compartir un ambiente patológico interno. Sus principales procesos fisiopatológicos son el estrés oxidativo, la inflamación y la resistencia a la insulina y a la leptina. Asimismo, la gravedad de la disfunción eréctil se correlaciona con el síndrome metabólico, incluida la obesidad (Moon, Park, & Kim, 2018).

Desde la perspectiva teórica, la OB se caracteriza por una acumulación excesiva de tejido adiposo localizado en todo el cuerpo y representa una enfermedad crónica que puede ser causada por múltiples factores relacionados con un exceso de alimentos (Chen et al., 2019).

Sansbury y Bradford (2014), destacan que la OB desencadena cambios en la función endotelial por elevaciones crónicas en la actividad simpática y principalmente por la disminución de NO debido a un aumento en la producción de radicales libres (Figura 6). Del mismo modo, el estrés oxidativo puede conducir a la pérdida de la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (NOs) o incluso al desacoplamiento de la enzima por la regulación adversa de interruptores redox (Daiber et al., 2019).

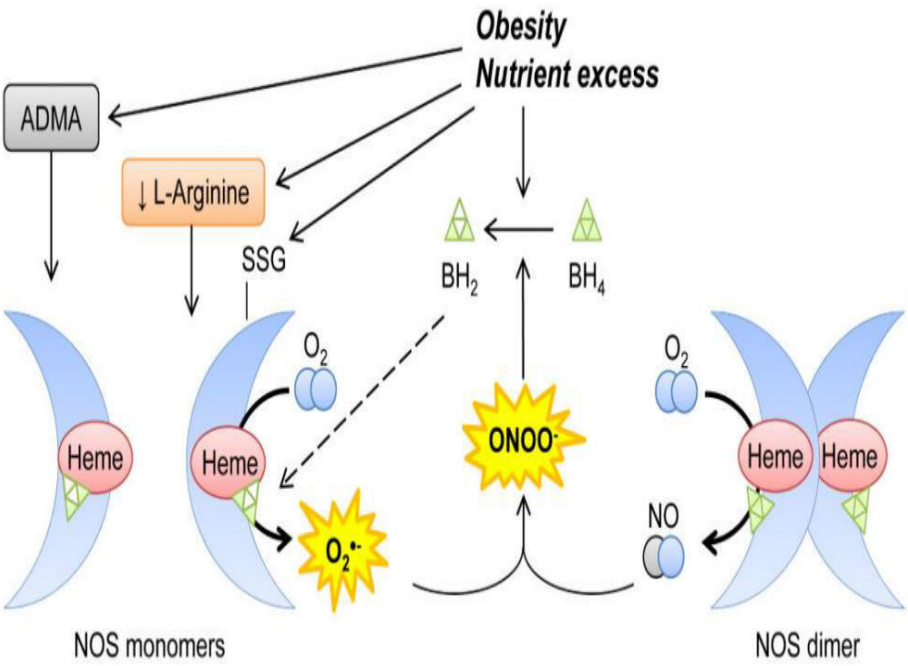


Figura 6. **Desacoplamiento del NOs en la obesidad.** Los niveles disminuidos de sustratos y cofactores, tales como L-arginina o tetrahidrobiopterina (BH4), conducen al desacoplamiento de la enzima, que se asocia comúnmente con la presencia de monómeros NOS3 (óxido nítrico sintasa 3) y puede producir superóxido en lugar de NO. Los inhibidores endógenos de NOS3 tales como ADMA (dimetilarginina asimétrica) también se aumentan en condiciones obesas y pueden promover el desacoplamiento del NOs. La producción elevada de ERO tales como superóxido puede inactivar y dar lugar a su oxidación al peroxinitrito altamente reactivo, que daña biomoléculas y puede oxidar BH4 a BH2. Adaptado de “Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide”, por B. Sansburyd, & G. Bradford, 2014, Free Radic Biol Med, 0, p.41.

Es preocupante que cada vez haya más evidencia sobre la OB en humanos no solo se asocia con una reducción de la fertilidad, sino que también compromete la salud de la siguiente generación. Además,el indice de masa corporal (IMC) elevado se asocia con un IMC elevado en niños, pero en los seres humanos, este fenómeno no se puede separar de predisposiciones genéticas compartidas y/o un entorno común "obesogénico" (Fullston, McPherson, Zander-Fox, & Lane, 2017). Sin embargo, puede ser difícil distinguir los efectos independientes sobre la disfunción de la obesidad por otras causas, ya que la OB es un factor de riesgo independiente conocido para factores de riesgo vascular como dislipidemia, hipertensión, diabetes mellitus y depresión, todos los cuales se sabe que están directamente relacionados con disfunción sexual en hombres, hasta cierto punto.

La OB altera la fertilidad masculina y contribuye al 45-50% de las fallas para lograr un embarazo exitoso. Aunque la causa de esta infertilidad no se entiende completamente, generalmente hay una combinación de trastornos endocrinos, defectos en el proceso de la espermatogénesis o la función eréctil. Estudios recientes han demostrado que la obesidad es un factor de riesgo independiente para el desarrollo de la disfunción eréctil. Se asocia a una función anormal en la vía de señalización del NO, con la consecuente reducción de la relajación del cuerpo cavernoso (De Souza et al., 2017).

La OB, es un predictor conocido de la DE en los hombres. Tanto la aterosclerosis, como la diabetes mellitus, están asociados con la obesidad. Los investigadores han sugerido que la obesidad aumenta el riesgo de la disfunción eréctil de origen vascular, en ese sentido, la OB aumenta el riesgo de diabetes. Las características microvasculares de las diabetes ejercen efectos nocivos sobre el tejido eréctil similares a la nefropatía diabética (Taneja & Shah, 2017). Se han sugerido varios mecanismos para tener un papel en

la patogenia de la disfunción eréctil relacionada con la OB (Figura 7). Aún más, Je et al. (2019), considera un papel importante del síndrome metabólico en la eyaculación precoz adquirida después de considerar los diversos factores de riesgo, como síntomas de la disfunción eréctil, hipogonadismo y prostatitis.



Figura 7. **Mecanismos por los cuales la obesidad causa disfunción eréctil.** La DE se ha asociado comúnmente a la obesidad que conduce a la infertilidad en hombres. Adaptado de “Obesity, An Enemy of Male Fertility: A Mini Review”, por M. El Salam, 2018, Oman Medical Journal, 33, p. 4.

De acuerdo con una investigación en OB, los hombres obesos tenían puntajes más bajos para el impulso sexual, la disfunción eréctil, la función eyaculatoria, la evaluación del problema y la satisfacción sexual que las personas con peso normal. En los hombres, que son muy obesos y tienen diabetes, la disfunción eréctil es más común (Motwani, 2017). Paralelamente, los efectos del sobrepeso y la OB afectan los parámetros del semen y/o el perfil hormonal de los hombres, es decir problemas con la fertilidad masculina (Martins, Majzoub, & Agawal, 2018).

2.3.4. Selenio y reproducción sexual masculina

El selenio (Se) es un micronutriente esencial debido a su presencia en el centro catalítico de selenoenzimas, muchas de las cuales han sido implicadas en funciones biológicas que son cruciales para la salud humana, se adquiere a través de la dieta y se incorpora a las selenoproteínas como el aminoácido selenocisteína (Kremer, Torres, Hashimoto, & Berry, 2019).

El Se proporciona protección al ADN del esperma contra el daño oxidativo. Asimismo, el Se es efectivo para aumentar la actividad del glutatión peroxidasa (GPx) ya que es un constituyente principal de un grupo específico de proteínas llamadas selenoenzimas. Las anormalidades morfológica de los espermatozoides y la alteración de la motilidad espermática se encuentran entre las anomalías espermáticas más comunes asociado con la deficiencia de Se (Majzoub & Agarwal, 2017).

El Se es esencial para la espermatogénesis normal en los seres humanos, y su papel crítico está principalmente mediado por dos selenoproteínas, glutatión peroxidasa (GPX) y selenoproteína P (SePP). La GPX es la mayor selenoproteína expresado por las células germinales en los testículos, teniendo múltiples funciones y representando el eslabón central entre el Se, la calidad del

esperma y la fertilidad masculina (Wdowiak, Bakalczuk, & Bakalczuk, 2015).

Se ha observado que el Se en combinación con otros antioxidantes mejora el recuento de espermatozoides, la motilidad y la morfología. El Se desempeña un papel importante en el mantenimiento del desarrollo testicular, la espermatogénesis y la función espermática (motilidad y capacitación). Se ha encontrado que la deficiencia de Se disminuye la motilidad espermática, afecta la estabilidad de los espermatozoides y da como resultado una morfología anormal de los espermatozoides (Bano, Sajjad,Talpur, Leghari, & Mirbahar, 2016).

Los informes sobre la creciente incidencia negativa sobre la reproducción sexual masculina asociado a la infertilidad masculina junto con la disminución de la calidad del semen han desencadenado estudios sobre los efectos del estilo de vida y los factores ambientales. Existen numerosos factores exógenos y endógenos que pueden inducir una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) más allá de la capacidad antioxidante celular, causando estrés oxidativo. A su vez, el estrés oxidativo afecta negativamente las funciones reproductivas masculinas y puede inducir infertilidad directa o indirectamente al afectar el eje hipotálamo-pituitario-gonadal y/o interrumpir su diafonía con otros ejes hormonales (Darbandi et al., 2018).

El estrés oxidativo (EO) es un factor importante que afecta negativamente el potencial de fertilidad de los espermatozoides por la peroxidación lipídica. La membrana plasmática de la esperma es extremadamente susceptible a la peroxidación lipídica debido a la presencia de una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados (AGPI). Estos AGPI proporcionan a la membrana un alto nivel de fluidez y elasticidad necesaria para la movilidad de los espermatozoides y su fusión con los ovocitos. La peroxidación

lipídica puede conducir a la pérdida de la fluidez e integridad de la membrana y, por lo tanto, a la reducción de la capacidad de fusión espermatozoide-ovocito (Hosnedlova et al., 2017).

Los espermatozoides, como células viven en condiciones aeróbicas, enfrentan una paradoja de oxígeno: el O_2 es vital para ellos, pero sus metabolitos, como las ERO pueden alterar las funciones de los espermatozoides y poner en peligro su supervivencia. Las ERO causa infertilidad con dos mecanismos clave. Además del daño de la membrana espermática, que resulta en la disminución de la motilidad espermática y su capacidad de fusionarse con ovocitos, también pueden dañar el ADN de los espermatozoides, lo que lleva a la transmisión del ADN paterno defectuoso al feto. Las ERO puede afectar el ADN mediante la modificación de las bases nitrogenadas (Hosnedlova et al., 2017, Ahsan et al., 2014).

En condiciones fisiológicas, las ERO son necesarios para la fertilización, la reacción acrosomal, la hiperactividad, la motilidad y la capacitación. En condiciones patológicas, los niveles excesivos de las ERO pueden afectar negativamente su calidad (Hosnedlova et al., 2017).

Los espermatozoides son particularmente vulnerables al estrés oxidativo ya que carecen de los sistemas de reparación citoplasmático-antioxidante necesarios y su membrana es rica en ácidos grasos poliinsaturados que los hacen susceptibles a la peroxidación lipídica inducida por el estrés oxidativo (Figura 8). El EO puede conducir a una disminución de la producción de testosterona como resultado de la interrupción endocrina. La disminución de la testosterona no logra regular la espermatogénesis adecuadamente para producir suficientes espermatozoides maduros (Darbandi et al., 2018).

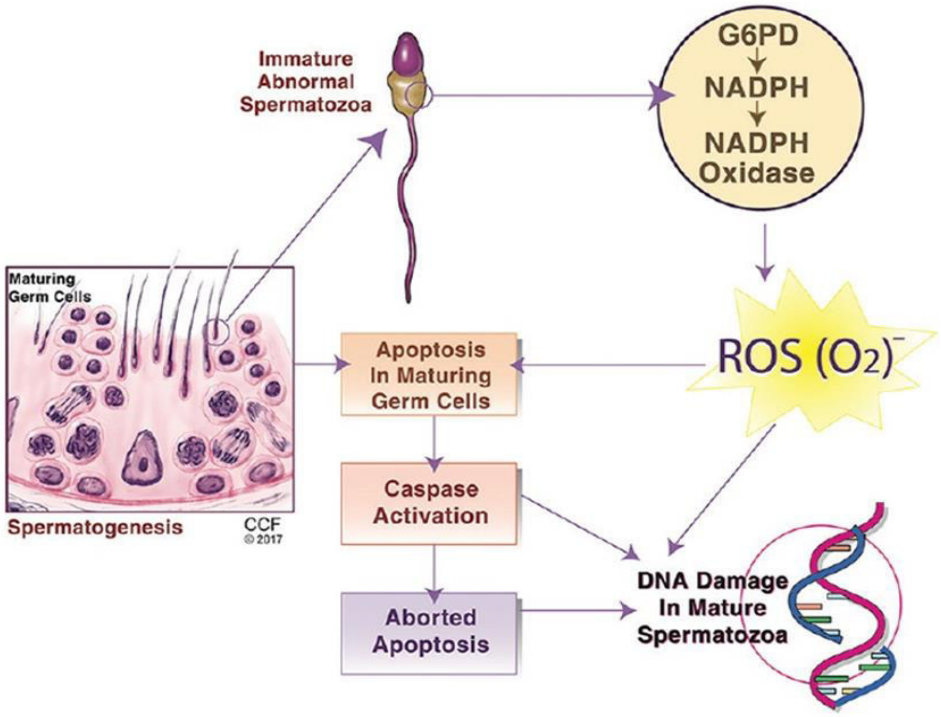


Figura 8. **Mecanismos de fragmentación del ADN espermático en espermatozoides humanos.** Se cree que el daño al ADN se produce después de la apoptosis, la alteración en la maduración de los espermatozoides o el estrés oxidativo es causado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno. Adaptado de "Antioxidant therapy in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia", por Majzoub A & Agarwal A, 2017, Indian J Urol.33, p. 207.

El aumento de Se estimula la actividad antioxidante de la enzima glutatión peroxidasa, disminuyendo así las ERO y conduciendo a una mayor fertilidad masculina y disminución de la disfunción eréctil. En la Figura 9, las enzimas antioxidantes catalizan la descomposición de las ERO. Las enzimas antioxidantes son la primera línea de defensa contra el daño de los radicales libres. La superóxido dismutasa (SOD) está asociada con varios cofactores, selenio (Se), zinc (Zn) y manganeso (Mn); inicia la descomposición de los radicales libres en peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El H_2O_2, que también es dañino para el huésped, se cataboliza en agua y oxígeno mediante la catalasa y la glutatión peroxidasa (GPX). También podría proteger contra el daño oxidativo del ADN en las células espermáticas humanas (Moslemi & Tavanbakhsh, 2011; Santora & Kozar, 2010).

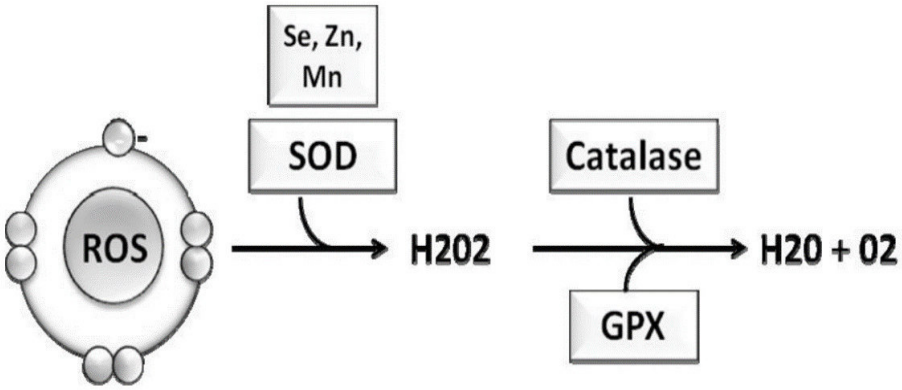


Figura 9. **Selenio contra el daño de los radicales libres.** Adaptado de Molecular mechanisms of pharmaconutrients", por Santora, R. & Kozar R, 2010, Journal of Surgical Research,161, p. 292.

Múltiples estudios han demostrado los efectos sinérgicos del selenio con otros suplementos sobre la motilidad de los espermatozoides. Así como, Moslemi y Tavanbakhsh (2011) en un estudio incluyó a 690 hombres infértiles con astenoteratospermia idiopática que recibieron suplemento de Se diario (200 µg) en combinación con vitamina E (400 unidades) durante al menos 100 días. Hubo mejoría total del 52.6% (362 casos) en la motilidad espermática, la morfología o ambas, y un 10.8% (75 casos) de embarazo espontáneo en comparación con ningún tratamiento (intervalo de confianza del 95%). Concluyeron que la suplementación de Se y vitamina E mejora la calidad del semen y pueden tener efectos beneficiosos y protectores, en la motilidad de los espermatozoides.

Por otro lado, Mirone, Giannetta y Isidori (2013), proporcionaron una revisión sistemática de estudios moleculares, en base de datos observacionales prospectivos y ensayos controlados aleatorios sobre el papel del Se en la función reproductiva realizado en los últimos 30 años. Los pocos ensayos clínicos disponibles respaldan el uso de suplementos de Se (< 200 µg/día) para mejorar la infertilidad masculina (Wendlová, 2015).

Una deficiencia de este elemento también puede causar infertilidad en los hombres al causar un deterioro en la calidad del semen y en la motilidad de los espermatozoides (Pieczyńska & Grajeta, 2015). De acuerdo con Arcaniolo et al. (2014) sostiene que el Se solo o en combinación con otros antioxidantes puede aliviar el conteo espermático, la motilidad y la morfología.

2.3.5. Corynaea crassa

Las Balanophoraceae (Santalales) es una gran familia de plantas holoparásitas y no fotosintéticas, que comprende alrededor de 17 géneros y 40 especies de raíz caracterizados por un cuerpo vegetativo y subterráneo aberrante, sin hojas, tallos o raíces, llamado tubérculo, que puede tener ramificaciones similares a rizomas (Gonzalez, Sato, & Marazzi, 2019).

Las plantas holoparásitas no presentan clorofila y todos los substratos necesarios para el crecimiento y la reproducción se extraen de las plantas del anfitrión, con una conexión directa de la planta a planta. Estas especies, la mayor parte de su ciclo de vida se produce bajo tierra. El cuerpo vegetativo de las especies de Balanophoraceae consiste en un tejido irregular conocido como tubérculo haustorial a partir del cual se desarrollan las inflorescencias (Ikeda, Fukuda, & Yokoyama, 2016).

Aunque 15 especies de la familia se encuentran en las América y en el Perú, se ubica en zonas alto andinas y regiones de clima húmedo, observándose características propias de parasitismo de *Corynaea crassa* (Figura 10). Esta especie esta distribuida desde Costa Rica a todos los países andinos, excepto Chile. Aunque existen varias colecciones de esta especie, no existe información sobre su estado de conservación (Otero, Mora, & Costa, 2009).



Figura 10. ***Corynaea crassa.*** Recolección del autor

Es una especie que se ubica en los departamentos de La Libertad, Lambayeque, Cajamarca (Figura 11), Amazonas, Cerro de Pasco y Cuzco. Cabe destacar que se le conoce en el Perú como “Huanarpo macho” (Bussmann, & Glenn, 2010), de forma similar se le denomina “Viagra macho”, en ciertas zonas rurales amazónicas, al compararlo con el medicamento sildenafilo.

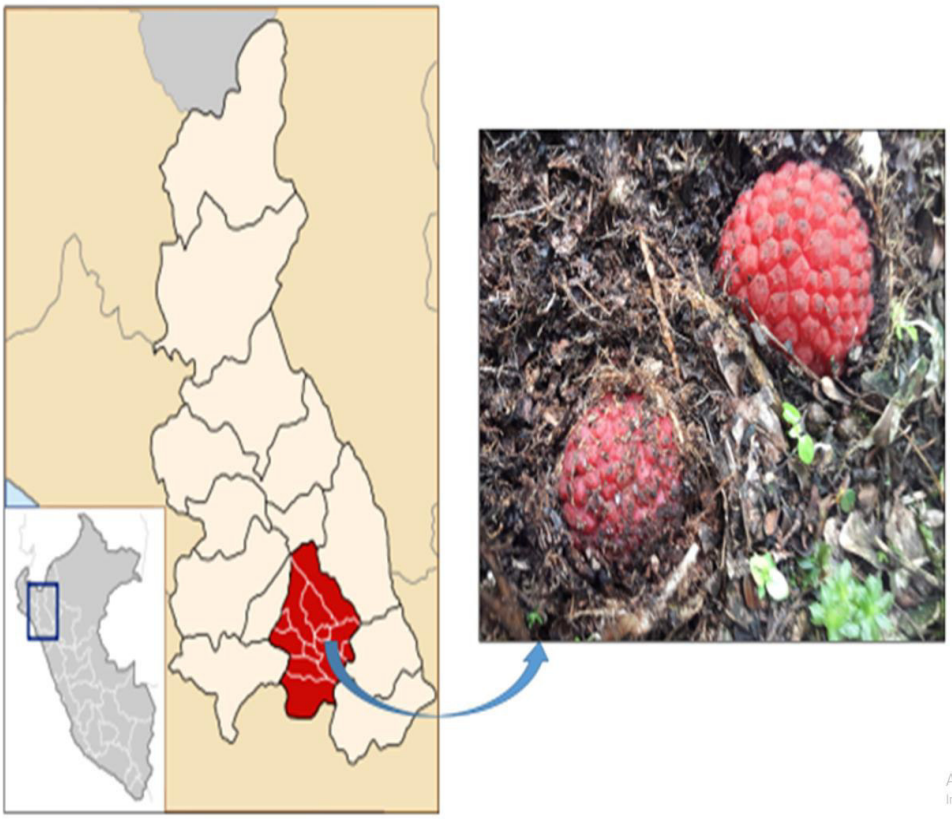


Figura 11. **Ubicación de *Corynaea crassa* en la región de Cajamarca**

Se ha realizado estudios fitoquímicos de la planta completa de *Coryneae crassa* sobre la identificación de compuestos bioactivos. Esto condujo al aislamiento y caracterización de β-sitosterol, lupenona, β-amirona, lupeol y β-amirina (Figura 12) (Malca et al., 2015).

Los estudios farmacológicos de la lupenona, proporciona evidencias como un agente terapéutico y quimiopreventivo para el tratamiento de la inflamación, infección por virus, diabetes, cáncer, y la enfermedad de Chagas (Xu, Huang, Wu, & Wang, 2018). El esteroide β-sitosterol, fue uno de los principales productos aislados del extracto y la purificación fue por cromatografia con n-hexano/diclorometano (Malca et al., 2015).

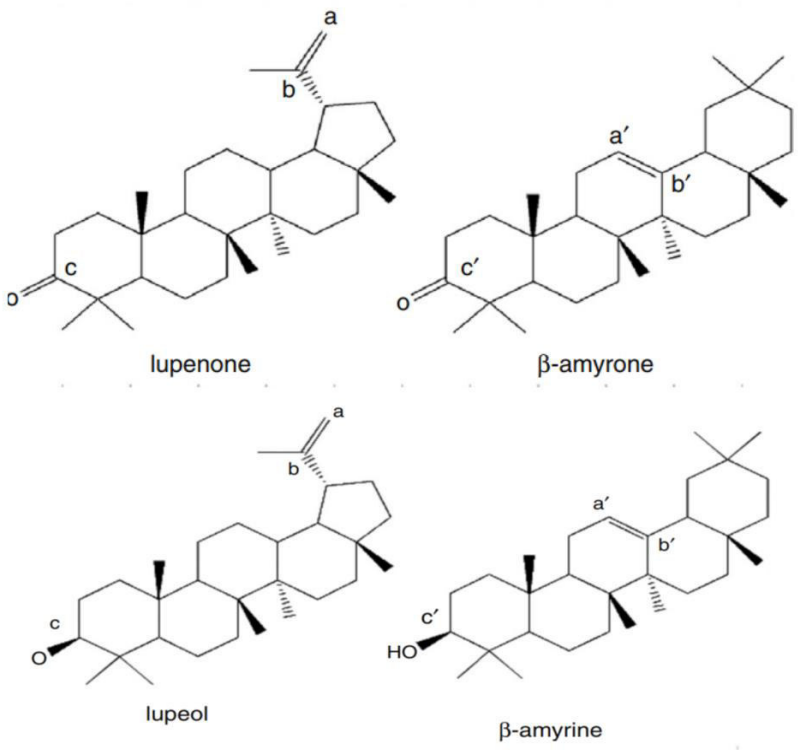


Figura 12. **Fitoquímica de *Corynaea crassa.*** Adaptado de Constituents of *Corynaea crassa* “Peruvian Viagra”, por G. Malca, L. Henniga, J. Sieler & R. Bussmann, 2015, Revista Brasileira de Farmacognosia, 25, p. 94.

En la actualidad el mundo está convirtiendo rápidamente el uso de plantas medicinales para el manejo de la disfunción sexual (Malviya, Jain, Malviya, & Vyas, 2016), además, los efectos secundarios se producen mediante el uso de los medicamentos alopáticos pueden limitar el uso de dichos medicamentos; por lo tanto, el uso solo de *Corynaea crassa* o en combinación con Se, puede usarse como una alternativa ya que son menos los efectos adversos en los fitomedicamentos a base de plantas medicinales y oligoelementos.

2.3.6. Hipótesis

Hipótesis principal:

El extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio tiene efecto erectógeno sobre la disfunción sexual inducida en ratas macho.

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación

El presente trabajo es un estudio de tipo cuantitativo. En los estudios cuantitativos, durante las investigaciones experimentales, los autores manipulan variables que observan los resultados y la muestra se asigna comúnmente a diferentes grupos (conocido como asignación al azar) para determinar el efecto (causal) de una condición (variable independiente) sobre un resultado determinado (Cathala, & Moorley, 2018).

El diseño es experimental. Este diseño incluye dos grupos: uno recibe el tratamiento experimental y el otro no (grupo de control). Es decir, la manipulación de la variable independiente alcanza sólo dos niveles: presencia y ausencia. Los sujetos se asignan a los grupos de manera aleatoria (Pruzan, 2016).

3.2. Unidad de análisis

Ratas macho adultas fértiles de cepa Holtzmann de 2 a 4 meses con un peso de 150–200 gramos.

3.3. Población de estudio

Ratas machos de cepa Holtzman obtenidos del Centro Nacional de Productos Biológicos del Instituto Nacional de Salud.

3.4. Tamaño de muestra

Para el estudio se empleó como muestra representativa de 42 ratas albinas machos de cepa Holtzmann. La cantidad de roedores está basado en artículos previo y estudio piloto.

3.5. Selección de muestra

3.5.1. Animal de experimentación

Ratas macho, cepa Holtzmann de 2 meses con un peso de 150 – 200 gramos.

3.5.2. Muestra vegetal

A partir de 10 kg de raíces se realizó el extracto etanòlico de las raíces de *Corynaea crassa*, las iniciales de la muestra vegetal fueron EECC**.**

3.6. Técnica de recolección de datos

La técnica e instrumentos que se ha utilizado para la recolección de datos se han desarrollado de acuerdo con las características y necesidades que se ha requerido para cada variable, es decir para la variable independiente y se observa el efecto de esta manipulación sobre la variable dependiente.

Por ello, nos permite obtener datos a través de la participación y observación de un grupo o individuos durante un período prolongado (Moser & Korstjens, 2018). Además, de un protocolo de estudio cuidadoso y un plan de análisis estadístico necesario (Tanaka, Tanaka, & Kawakami, 2015).

3.6.1. Materiales para la administración

- Citrato de sildenafilo 5 mg/kg de peso (Viagra ®, Pfizer)
- Benzoato de estradiol (10 µg/100g) e hidroxiprogesterona (1.5 mg/kg).

3.6.2. Equipos

- Balanza analítica Ohaus, modelo Adventurer ™ (rango de 65 g a 210 g; escala de 0.1mg)
- Molino de cuchillo Willey , modelo de cuchillas de corte vertical.
- Estufa de aire circulante (Memmert PO VL 40- 220°C)
- Cámara de secado (Laboratorio de Farmacología, UNMSM).

3.7. Diseño metodológico

3.7.1. Prueba de solubilidad

Se usó seis tubos de ensayo, se colocaron 20 mg del extracto seco etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* y se agregó a cada uno 1 mL de solvente (agua destilada, etanol, metanol, acetona, n-hexano y éter dietílico). También se aplicó un calentamiento tenúe en baño maría a 40°C, luego agitación para permitir la solubilidad del extracto en el disolvente y se observó los resultados.

3.7.2. Anàlisis fitoquímico

a) Preparación del extracto etanólico de Corynaea crassa

Las raíces de *Corynaea crassa*, fueron obtenidas del anexo de Choten, Distrito de San Juan, Provincia de Cajamarca, Departamento de Cajamarca, Perú, durante los meses de enero del 2015. La identificación taxonómica se realizó en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Para la preparación del extracto etanólico, las raíces de *Corynaea crassa* fueron secadas luego sometidas a molienda en un molino eléctrico, se pesó 1 kg y se llevó a maceración alcohólica de 96° en tres litros durante 14 días, posteriormente se filtró y concentró a 30°C, hasta obtener un residuo seco del extracto etanólico (Figura 13).

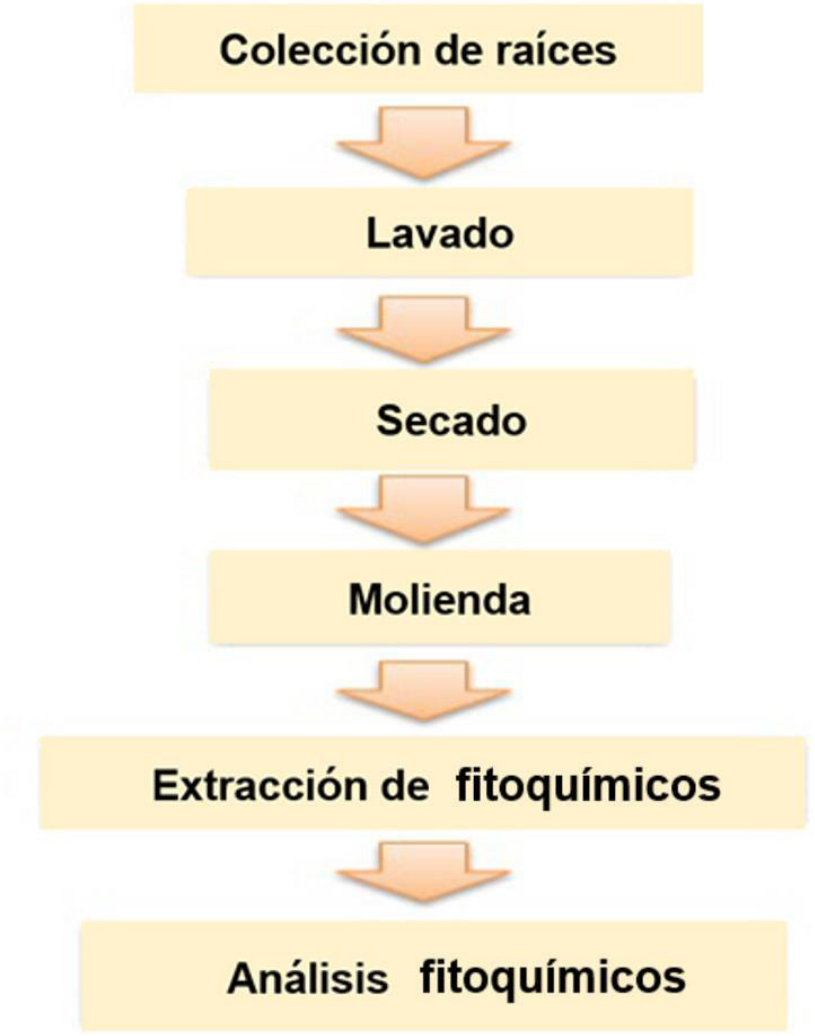


Figura 13. **Fluxograma de la preparación de las raíces *Corynaea crassa***

b) Análisis fitoquímico preliminar

Para la identificación de los diferentes metabolitos secundarios se empleó la marcha fitoquímica; basándose en la extracción e identificación de metabolitos con extracto seco de 30 mg del extracto vegetal, se solubilizó en alcohol de 96° y efectuándose los ensayos de precipitación para identificar: alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides/terpenoides, flavonoides, lactonas, saponinas y taninos (modificados de los métodos de Eswar et al., 2015, Yakubu & Atoyebi, 2018).

- Determinación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff. A 0.5 mL de solución ácida y cuatro gotas de reactivo de Dragendorff, se observó la aparición de un precipitado que va de naranja al rojo. La muestra contiene alcaloides.

Reactivo de Mayer. A 0.5 mL de muestra agregar cuatro gotas a una solución acidulada del alcaloide se observó la aparición de un precipitado tenue de blanco a crema.

Reactivo de Popoff. En un tubo de ensayo se añadió 0.5mL de solución ácida y dos gotas de reactivo de Popoff. Se observó un precipitado amarillo, la muestra contiene alcaloides.

Reactivo de Wagner. En un tubo de ensayo se añadió 0.5 mL de solución ácida y dos gotas de reactivo de Wagner. Se observó un precipitado marrón/café, la muestra contiene alcaloides.

- Determinación de compuestos fenólicos

Reactivo de Cloruro férrico. A 0.5 ml de la muestra se agregó tres gotas del reactivo, instantáneamente la solución toma un color rojo vino intenso, lo que indicó la presencia de compuestos fenólicos.

- Determinación de esteroides y ***triterpenoides***

Reactivo de Libermann-Burchard. A 0.5 mL de la muestra se adicionó tres gotas de reactivo, al instante se observó la formación de manchas verde oscuro o azul verdoso.

Reactivo de Salkowski. En un tubo de ensayo se añade 0.5mL de solución ácida y dos gotas de reactivo de Salkowski. Se observó un precipitado rojo. Este color demuestra que contiene alcaloides.

- Determinación de flavonoides

Reactivo de Shinoda. En un tubo de ensayo se coloca 0.5 mL de muestra con limadura de magnesio adicionándose 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se observa intenso burbujeo y coloración naranja, de color intenso luego de 10 minutos.

Tricloruro alumínico. En un tubo de ensayo se añadió 0.5 mL de solución ácida y dos gotas de reactivo de *Tricloruro alumínico*. Se lleva a luz fluorescencia amarilla (luz UV). La coloración amarilla identifica a los flavonoides.

- Determinación de lactonas

El reactivo utilizado en esta prueba es el nitroprusiato de sodio en medio básico, debido a que las lactonas, β-insaturadas son reductores muy fuertes, son capaces de reducir al reactivo y por lo tanto oxidarse, de esta forma ocasionan un cambio de coloración amarillo a naranja indica la presencia de anillo de lactona.

En estas condiciones, a 0.5 mL de muestra, se agregó 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la presencia de un precipitado de color rojo (+).

- Determinación de saponinas

Prueba de espuma. A una solución etanólica-acuosa de la muestra vegetal, colocándolo en un tubo de ensayo (13 x 100 mm), se somete a una agitación vigorosa durante 30 segundos. La formación de una emulsión durante 3 minutos se utilizó para indicar la presencia de saponinas.

- Determinación de taninos

Con gelatina. A 0.5 mL de muestra se agregan 3 gotas de reactivo, en un principio se forma una sustancia en forma de nube en la solución, luego de centrifugar queda en el fondo un precipitado verde oscuro. Por tanto se confirma la presencia de taninos.

3.7.3. Diseño experimental: Efecto erectógeno

a) Inducción de la disfunciòn sexual

Según la técnica (Dau et al., 2020, Jian Feng et al., 2012), se asignaron un total de 42 ratas machos a siete grupos de 6 cada uno en un diseño experimental completamente aleatorizado para estudiar los efectos del EECC más selenio sobre la fertilidad masculina en estado hiperlipidémico u obesidad.

Para la inducción de la disfunción sexual, las ratas machos, fueron alimentados con dieta alta en grasas (DAG). La cual estuvó compuesta de 15% de manteca de cerdo, 85% de dieta basal durante 60 días (Ibrahim et al., 2012). Se describe el diseño de experimentación en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3. **Inducción de la disfunción sexual**

Grupos	Muestra	Inducción	Promedio de peso inicial (g)	Promedio de peso luego de 60 días (g)
01	06	DAG (control) 5 mL/kg	192.67	369.27
02	06	DAG: sildenafilo 5 mg/kg	174.99	385.15
03	06	DAG: EECC 100 mg/kg	173.62	389.4
04	06	DAG: EECC 200 mg/kg/dìa	176.2	398.09
05	06	DAG: EECC 400 mg/kg/dìa	172.06	386.03
06	06	DAG: EECC 200 mg/kg + 1 µg/kg Se	177.65	402.86
07	06	DAG: EECC 400 mg/kg + 1 µg/kg Se	184.37	406.54

DAG: Dieta alta en grasas. EECC: Extracto etanólico de *Corynaea crassa*

- Ciclo de luz-oscuridad invertido

Las ratas macho generalmente copulan durante la fase de oscuridad. Este estudio se llevó a cabo por la mañana todos los días. Todas las ratas macho y hembra se habituaron a un ciclo inverso de 12 horas luz/ 12 horas oscuridad por una semana antes de las sesiones de entrenamiento (Figura 14). La luz se apagó a las 8:00 am y se encendió a las 8:00 pm. Durante la fase oscura, se dejó una luz blanca tenue para manipular a los animales.

- Entrenamiento sexual y selección de ratas con experiencia sexual

Los animales machos se entrenaron emparejándolos con ratas hembras maduras, tres veces, durante 7 días antes del inicio del experimento. Los machos que no demostraron atención sexual durante el período experimental se consideraron animales lentos. Asimismo, se consideraron sexualmente inactivos y se llevaron a la prueba experimental.

- Estro femenino

Las hembras se volvieron sexualmente activas tras la inyección de benzoato de estradiol (10 µg/kg, subcutáneo,sc) e hidroxiprogesterona (1.5 mg/kg, sc), 48 y 4 horas antes del apareamiento, respectivamente. La actividad sexual de las ratas hembras se confirmó antes del experimento emparejándolas con machos, distintos de las ratas macho normales de control, de referencia y experimentales. Las ratas hembras sexualmente activas fueron seleccionadas para el experimento y solo permiten el apareamiento durante la fase estro.

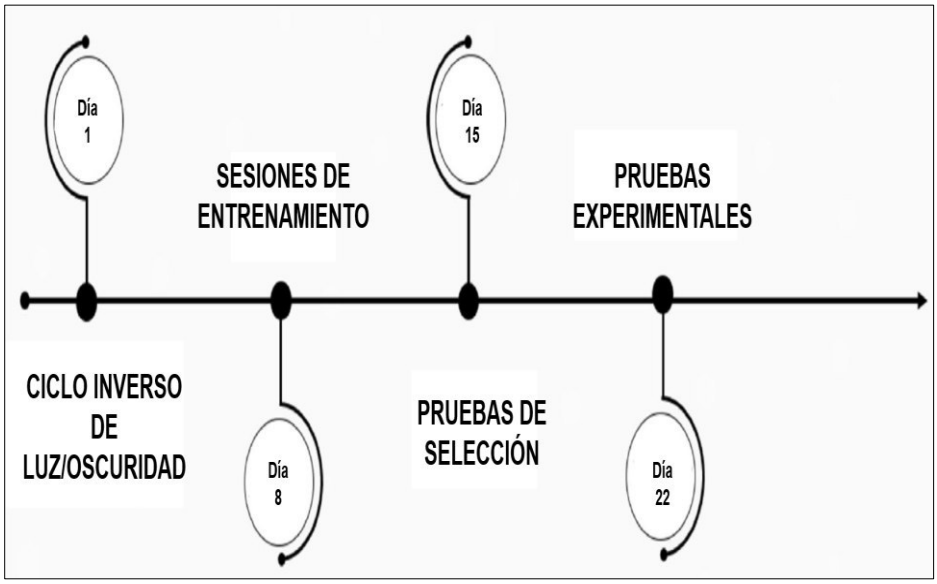


Figura 14. **Líneas de tiempo experimentales**

Por otro lado, cuarenta y dos macho se distribuyeron aleatoriamente en siete grupos (seis animales por grupo) y se trataron (por vía oral) de la siguiente manera: grupo 1, SSF (5 mL/kg); grupo 2, el fármaco estándar citrato de sildenafilo (5 mg/kg, control positivo); grupos 3, 4 y 5, 100, 200 y 400 mg/kg EECC, respectivamente, y grupos 6 y 7 EECC + Se (200 mg/kg + 1 µg/kg, 400 mg/kg + 1 µg/kg). De manera similar, la administración oral se realizó mediante sonda orogástrica metálica una vez al día (entre las 9:00 am y las 10:00 am) durante 14 días. En los días cero (antes del tratamiento), 1, 7 y 14, se evaluó el comportamiento sexual, en una habitación oscura y silenciosa.

b) Procedimiento del comportamiento de apareamiento

El procedimiento utilizado se basó en el informe modificado de Tang et al. (2017). Las ratas macho y hembra sexualmente receptivas se introdujeron en las jaulas de apareamiento en una proporción de 1:1. La observación del comportamiento de apareamiento comenzó después de 10 minutos de colocar los animales emparejados en la jaula y se registró con la ayuda de una cámara de video en un trípode. Las ratas macho de cada grupo fueron monitorizados el comportamiento sexual en un período de observación de 40 minutos después de las dosis diarias del EECC y suplemento dietético de selenio en los días 1, 7 y 14.

De acuerdo a los procedimientos estándar de Sanna et al. (2015), se registraron, después del control durante el período de observación, los siguientes índices del comportamiento sexual masculino (Figura 15). Cabe mencionar que la prueba finalizó en cualquier momento cuando una rata macho no mostró interés sexual o inmediatamente después de la primera intromisión post eyaculatoria. Todas las pruebas de comportamiento sexual se observaron durante 6 horas por día en 14 días.

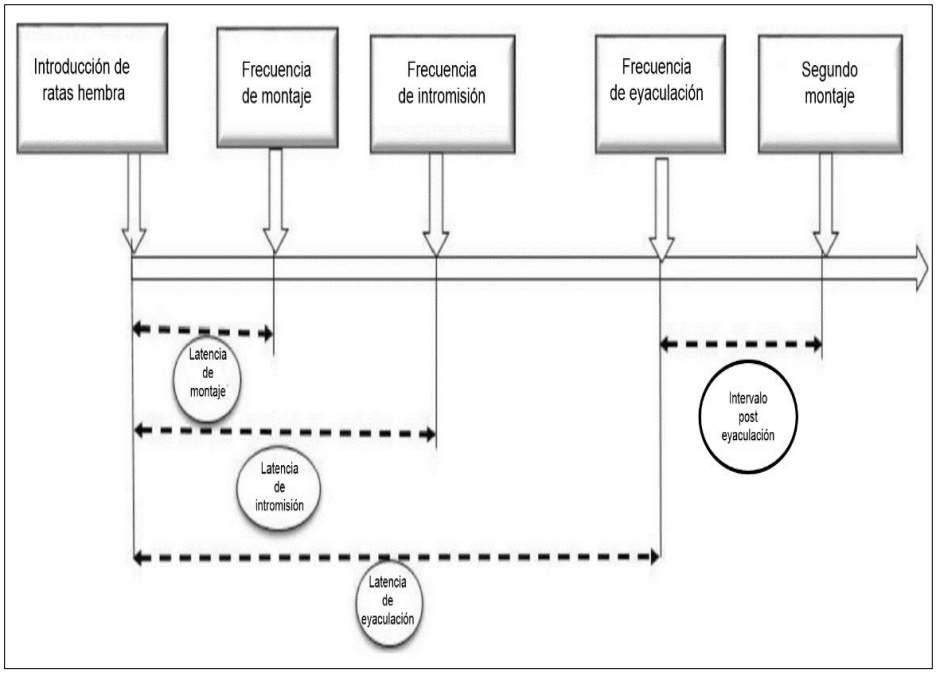


Figura 15. **Comportamientos sexuales de ratas macho**

- *Frecuencia de montaje (FM),* es el número total de montas que ocurren antes de la eyaculación.
- *Frecuencias de intromisión (FI),* es el total de intromisiones que ejecuta la rata macho antes de la eyaculación
- *Frecuencia de la eyaculación (FE),* es el número de veces que hubo expulsión de semen por los machos después de la penetración vaginal-caracterizado por la contracción rítmica del abdomen posterior y un desmontaje lento seguido de un período de inactividad.
- *Latencia de montaje (LM),* tiempo que transcurre desde que la hembra se introduce a la caja, hasta que el macho realiza la primera monta de la serie copulatoria.
- *Latencia de intromisión (LI),* tiempo transcurrido desde que la hembra ingresa a la caja hasta que se da la primera intromisión.
- *Latencia eyaculatoria (LE),* tiempo transcurrido desde la primera intromisión hasta la eyaculación de esa serie copulatoria
- *Intervalo post eyaculación (IPE),* tiempo que se registra desde la eyaculación hasta la primera intromisión de la segunda serie copulatoria.

Los parámetros mencionados de comportamiento sexual (Tang et al., 2017), fueron registrados por el observador ciego capacitado en diseños experimentales a cada grupo. Cabe señalar que el acoplamiento de ratas se grabó en video y los investigadores observaron luego la filmación para calcular los parámetros.

c) Prueba de reflejos del pene

Según la técnica modificada de Gajbhiye, Jadhav, Marathe y Pawar (2015), esta prueba se realizó en la rata macho sujetando la espalda y la capa prepucial. El prepucio fue empujado por detrás del glande utilizando el pulgar y el dedo índice y se mantendrá de esta manera durante 15 minutos. Esta estimulación suscitó un conjunto de reflejos genitales. Los reflejos del pene se registraron las erecciones (E), giros rápidos (GR) y giros largos (GL), y los reflejos peneanos totales (RPT), de manera similar se determinaron como RPT= E + GR + GL.

d) Evaluación del perfil lipídico, glucosa y testosterona

Se procedió a realizar la toma de muestra de sangre para la medición del perfil lipídico. Las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a un volumen de 0.3 mL por vía intraperitoneal. Del mismo modo, la extracción de 5 mL de sangre se realizó por punción cardiaca. El colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), glucosa y testosteronas fueron cuantificados en el Laboratorio de Análisis Clínico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (Universidad Nacional Mayor de San Marcos).

3.7.4. Evaluación de la toxicidad aguda: dosis letal media

Se realizó el estudio de toxicidad aguda en ratones de acuerdo a Saleema et al. (2017), y con las directrices de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos para el Análisis de

Sustancias Químicas (OCDE 425: Toxicidad oral aguda, procedimiento 2008).

Los ratones fueron ayunados durante cuatro horas en la noche con acceso libre al agua y se dividieron en seis grupos, cada uno de seis animales. Los animales del grupo 1 control recibieron agua destilada por vía oral (1 mL/kg). Los animales en los grupos 2 a 6 fueron administrados con 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 g/kg, respectivamente, del EECC por intubación gástrica con un catéter de goma suave. El extracto se trituró utilizando mortero y con agua destilada que contenía 1% de Tween 20.

Los animales se mantuvieron en observación de forma continua y con atención especial durante las primeras 4 horas luego a intervalos de una hora hasta la hora veinticuatro. En estos momentos se registraron perfiles conductuales, neurológicos y autónomos. Se observó la mortalidad de los animales hasta las 48 horas.

3.8. Análisis e interpretación de la información

Los datos se expresaron como media ± error estándar de la media. La evaluación estadística se realizó con STATISTICA (software de análisis de datos, versión 8.0). La significación se calculó mediante ANOVA para medidas repetidas seguidas de la prueba post-hoc de Tukey HSD para comparaciones múltiples. El nivel de significación se estableció en $p<0.05$. El cálculo de la DL_{50} se realizó por medio del método estadístico de Probits teniendo en cuenta las concentraciones administradas.

3.9. Consideraciones éticas

Antes de iniciar la recolección de datos se presentó el proyecto de tesis al Comité de Ética, del Instituto de Ética de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, quiénes consideraron aprobar la metodología y el diseño experimental con animales.

Los principios éticos que se consideraron fueron el conjunto de 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento) es sin duda el más conocido y el conjunto de ética animal de mayor utilidad hasta la fecha, la beneficencia (debido a que la investigación tiene un valor de manera colectiva), la autonomía y la no maleficencia. El empleo apropiado de los principios 3R en la experimentación faculta a los científicos para justificar su investigación y da como resultado una ciencia de mayor calidad (Sneddon, Halsey, & Bury, 2017).

CAPITULO 4: RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Análisis, interpretación y discusión de los resultados

4.1.1. Resultado de la prueba de solubilidad

En la Tabla 4 y Figura 16, se observa que es soluble en etanol, metanol y agua destilada e insoluble en acetona, n- hexano y éter dietílico.

Tabla 4. **Prueba de solubilidad del extracto seco de *Corynaea crassa***

N°	Solvente	Nomenclatura	Solubilidad
1.	Agua destilada	H2O	+
2.	Etanol	EtOH	+
3.	Metanol	MeOH	+
4.	Acetona	Me2CO	-
5.	N-hexano	N- Hex	-
6.	Éter dietílico	Et2O	-

Leyenda: Soluble (+), Insoluble (-)

Se empleó seis solventes de polaridades diferentes. De igual manera, empleamos extracto seco de *Corynaea crassa* para extraer compuestos inactivos y eliminar la interferencia del agua al mismo tiempo.

Por otro lado, el polvo seco de varias partes de la planta fue colocado en el dedal de cristal para el propósito de la extracción usando diferentes solventes. El extracto solvente resultante se filtra, se concentra en el concentrador de vacío y se utiliza para determinar la presencia de fitoconstituyentes.

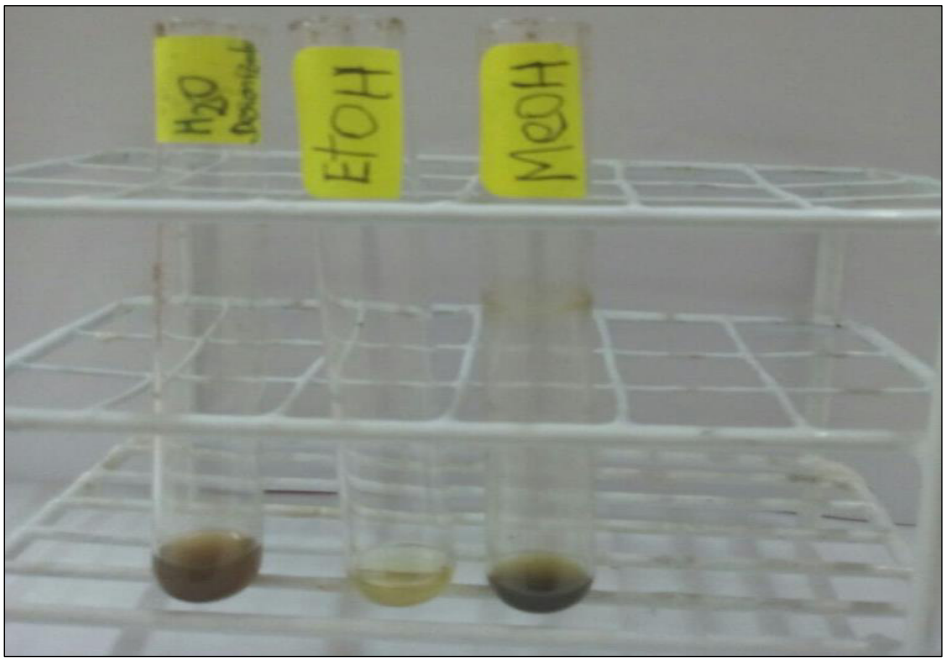


Figura 16. **Solubilidad con solventes orgánicos**

Los métodos de extracción de plantas implican la separación de porciones medicinalmente activas de los tejidos vegetales de los componentes inertes mediante el uso de disolventes selectivos. Durante la extracción, los disolventes se difunden en el material de la planta sólida y se solubilizan compuestos con polaridad similar.

4.1.2. Evaluación fitoquímica

En la Tabla 5 y Figura 17, las pruebas químicas cualitativas evidencia que el EECC presenta alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides/terpenoides, flavonoides, lactonas, saponinas y taninos. Los carbohidratos, proteínas, ácidos aromáticos, gomas y mucílagos fueron totalmente ausente en la parte de la raíz,

aplicando el método cualitativo. La extracción de la planta es un ejercicio empírico ya que se utilizan diferentes disolventes en condiciones variables como el tiempo y la temperatura de extracción.

Tabla 5. **Resultado del análisis cualitativo**

N°	Prueba química	Resultados	Análisis cualitativo
1.	**Alcaloides**		
	- Dragendroff	+	- Coloración naranja
	- Mayer	+	- Coloración blanco a crema
	- Popoff	+	- Coloración amarillo
	- Wagner	+	- Coloración marrón/café
2.	**Compuestos fenólicos**		
	- Tricloruro férrico	+	- Coloración rojo-vino
3.	**Esteroides/Terpenoides**		
	- Leiberman-Burchard	+	- Coloración azul-verdoso
	- Salkowski	+	- Coloración rojo-naranja
4.	**Flavonoides**		
	- Shinoda	+	- Coloración amarillo rojizo
	- AlCl3 1 %	+	- Fluorescencia con halo amarillo en luz ultravioleta visible (UV)
5	**Lactonas**		
	- Baljet	+	- Coloración rojo tenue
6.	**Saponinas**		
	- Ensayo de espuma	+	- Formación de espuma - La capa de espuma en la superficie es 3 cm
7.	**Taninos**		
	- Gelatina/ NaOH 1%	+	- Coloración blanco lechoso
	- Tricloruro férrico	+	- Coloración verde intenso

Leyenda: Identificación (+)

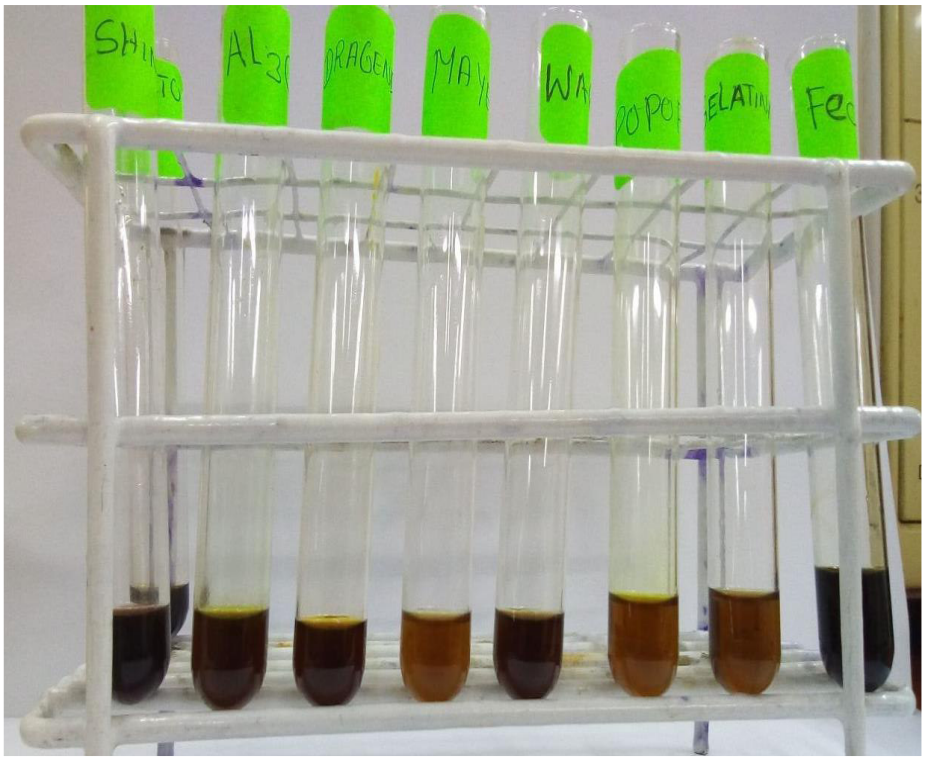


Figura 17. **Prueba cualitativa e identificación de los metabólitos secundarios**

En este análisis fitoquímico en los EECC revela información valiosa sobre la presencia de los fitoconstituyentes que son conocidos por exhibir actividad medicinal.

Numerosos estudios han informado de la importancia clínica de las plantas medicinales basándose en el análisis fitoquímico (Yoo, Kim, Nam, & Lee, 2018), lo que refuerza en gran medida la idea de novedad en la investigación en esta área.

Por tanto, los datos generados a partir de estos experimentos han proporcionado la base química para el amplio uso de esta planta como agente terapéutico para la salud humana, estos han surgido recientemente como alternativa en el área sexual y reproductiva. Sin embargo, existe la necesidad de llevar a cabo más estudios espectroscópicos con guiones avanzados para dilucidar la estructura de estos compuestos. Además, estos datos pueden ser útiles para probar la bioquímica del EECC en el futuro.

4.1.3. Evaluación experimental farmacológico

a*) Efecto del EECC más Se en el comportamiento sexual*

En la Tabla 6, la evaluación del porcentaje de variabilidad (% var.) indica que la FM se incrementa en 66.67% para la dosis de 200 mg/kg EECC en tanto se reduce al 67.4% a dosis de 400mg/kg EECC; mientras la FI a 100 mg/kg EECC aumenta al 84%, a continuación de 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se al 19%; y se eleva al 36% la FE a 100 mg/kg EECC. Sin embargo el 1% a dosis de 400 mg/kg EECC esta disminuída. Ante ello, existe diferencia altamente significativa de los grupos tratados con las dosis 100 mg/kg EECC, 400 mg/kg EECC, 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se, comparado con el grupo control respecto a la frecuencia de montaje, intromisión y eyaculación ($p<0.01$).

Tabla 6**. Evaluación del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio sobre las frecuencias de montaje, intromisión y eyaculación**

TRATAMIENTO	FRECUENCIA DE MONTAJE							FRECUENCIA DE INTROMISIÓN							FRECUENCIA DE EYACULACIÓN						
	Día 1		Día 7		Día 14		% var	Día 1		Día 7		Día 14		% var	Día 1		Día 7		Día 14		% var
	Media	Desv típ	Media	Desv típ	Med	Desv típ		Media	Desv típ	Media	Desv típ	Med	Desv típ		Media	Desv típ	Media	Desv típ	Media	Desv típ	
DAG	4	2.44	5	1.09	5	0.89	0.00%	4	1.78	7.17	0.75	9.17	1.16	28%	2.33	0.51	2.5	1.04	1.5	0.83	-40%
Sildenafilo + DAG	16.33*	1.86	15.67*	1.36	20*	1.26	27.63%	16.67*	1.03	16.17*	0.75	17.67*	2.42	9%	10.5*	1.04	13.5*	1.22	16*	1.78	19%
100 mg/kg EECC + DAG	12.67*	1.36	9.33*	1.36	8.83**	4.62	-5.36%	13.17*	1.32	8.17	0.98	15*	1.09	84%	5.83*	1.32	7*	1.26	9.5*	0.54	36%
200 mg/kg EECC + DAG	6.33	1.03	4.5	1.04	7.5	0.54	66.67%	5.33	0.81	6	1.67	7	2.28	17%	8.33*	0.51	9.5*	0.54	10.67*	1.50	12%
400 mg/kg EECC + DAG	9.33*	1.21	13.83*	1.32	4.5	1.04	-67.4%	5	1.26	11.67*	1.36	4.67*	0.81	-60%	8*	1.09	10.83*	0.75	10.67*	1.50	-1%
200 mg/kg + 1 ug/kg Se + DAG	10.67*	1.21	13.83*	1.16	14.17*	1.83	2.46%	11.5*	1.51	12.17*	1.47	14.5*	0.54	19%	11*	0.89	11.33*	1.63	12.17*	0.75	7%
400 mg/kg + 1 ug/kg Se + DAG	14.33*	1.86	15.83*	0.75	12.67*	1.03	-19.9%	11.33*	1.96	14.17*	1.32	14.5*	2.58	2%	11.33*	1.50	10.67*	2.33	11.83*	1.47	11%

DAG: Dieta alta en grasa (control). EECC: Extracto etanólico de las raíces *Corynaea crassa.* Se: Selenio. % var : Porcentaje de variabilidad. Med: Media. Desv. Típ: Desviación típica. Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05)

Se evidencia un ligero aumento del % var. de LM al 2% a dosis de 400 mg/kg EECC, disminuyéndose el 78% y 19% a 100 mg/kg EECC y 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se respectivamente; en cuanto la LI el descenso fue 84%, 75% y 52% a dosis de 100 mg/kg EECC, 200 mg/kg EECC y control positivo (sildenafilo). Aunque no varió el valor porcentual a 400 mg/kg EECC; entre tanto aumentò la LE en 382 % a razón de 100 mg/kg EECC, seguido del 231% a 200 mg/kg EECC, aunque existe un declive de 73 % y 50 % a las dosis respectivas de 400 mg/kg EECC y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se (Tabla 7).

Tabla 7. **Evaluación del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio sobre las latencias de montaje, intromisión y eyaculación**

TRATAMIENTO	LATENCIA DE MONTAJE							LATENCIA DE INTROMISIÓN							LATENCIA DE EYACULACIÓN						
	Día 1		Día 7		Día 14			Día 1		Día 7		Día 14			Día 1		Día 7		Día 14		
	Med	Desv típ	Med	Desv típ	Med	Desv típ	% Var	Med	Desv típ	Med	Desv típ	Med	Desv típ	% Var	Med	Desv típ	Med	Desv típ	Med	Desv típ	% Var
DAG	119.2	4.44	121.2	2.63	112.5	8.73	-7%	162.2	7.96	156.83	8.95	60.5	15.66	-61%	7.17	1.60	9.17	1.47	27	4.38	194%
Sildenafilo + DAG	28.17*	3.60	8.17*	4.07	12.17*	2.04	49%	49*	10.13	42.67*	3.88	20.67*	2.80	-52%	51*	6.08	81.5*	4.46	107.8*	10.20	32%
100 mg/kg EECC + DAG	55.83*	3.54	109.8	11.49	24.33*	3.55	-78%	58*	5.83	113.83*	6.94	18.5*	1.97	-84%	23*	3.71	20.67*	5.12	99.67*	7.763	382%
200 mg/kg EECC + DAG	102.2**	7.75	103.8**	10.96	19.5*	1.04	-81%	123*	8.04	120*	5.96	30.33*	3.72	-75%	21*	3.01	21*	2.53	69.5*	3.20	231%
400 mg/kg EECC + DAG	108.2	4.99	99*	7.48	100.67	7.68	2%	119*	5.44	101.67*	11.25	101.5*	10.07	0%	19*	0.81	84.33*	5.95	23.17*	2.92	-73%
200 mg/kg + 1 ug/kg Se + DAG	74.33*	15.88	54*	9.79	43.83*	9.39	-19%	105*	11.83	86.17*	5.60	78.33*	2.87	-9%	41*	6.37	42.67*	4.08	79.67*	2.06	87%
400 mg/kg + 1 ug/kg Se + DAG	81.33*	11.05	53.67*	7.33	53.5*	9.54	0%	98*	5.09	83.17*	5.45	77*	12.74	-7%	49*	5.08	60.5*	3.56	30.5	3.56	-50%

DAG: Dieta alta en grasa (control). EECC: Extracto etanólico de las raíces *Corynaea crassa.* Se: Selenio. % var : Porcentaje de variabilidad. Med: Media. Desv. Típ: Desviación típica. Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

En la Figura 18, el valor promedio más alto respecto a la FM corresponde al EECC + 1 µg/kg Se en dosis correspondiente a 400 mg/kg, con un valor de 14.33 (día 1) el cual se incrementa en el día 7 llegando a 15.83 pero dicho valor desciende en el día 14 mostrando un promedio de 12.67. El grupo al cual se administró el EECC en dosis de 100 mg/kg presenta un valor de 12.67 (día 1) el cual disminuye en el día 7, el valor correspondiente es 9.33 y continúa dicho decremento hacia el día 14 con un valor de 8.83. Sin embargo estos valores son inferiores con respecto al grupo del sildenafilo.

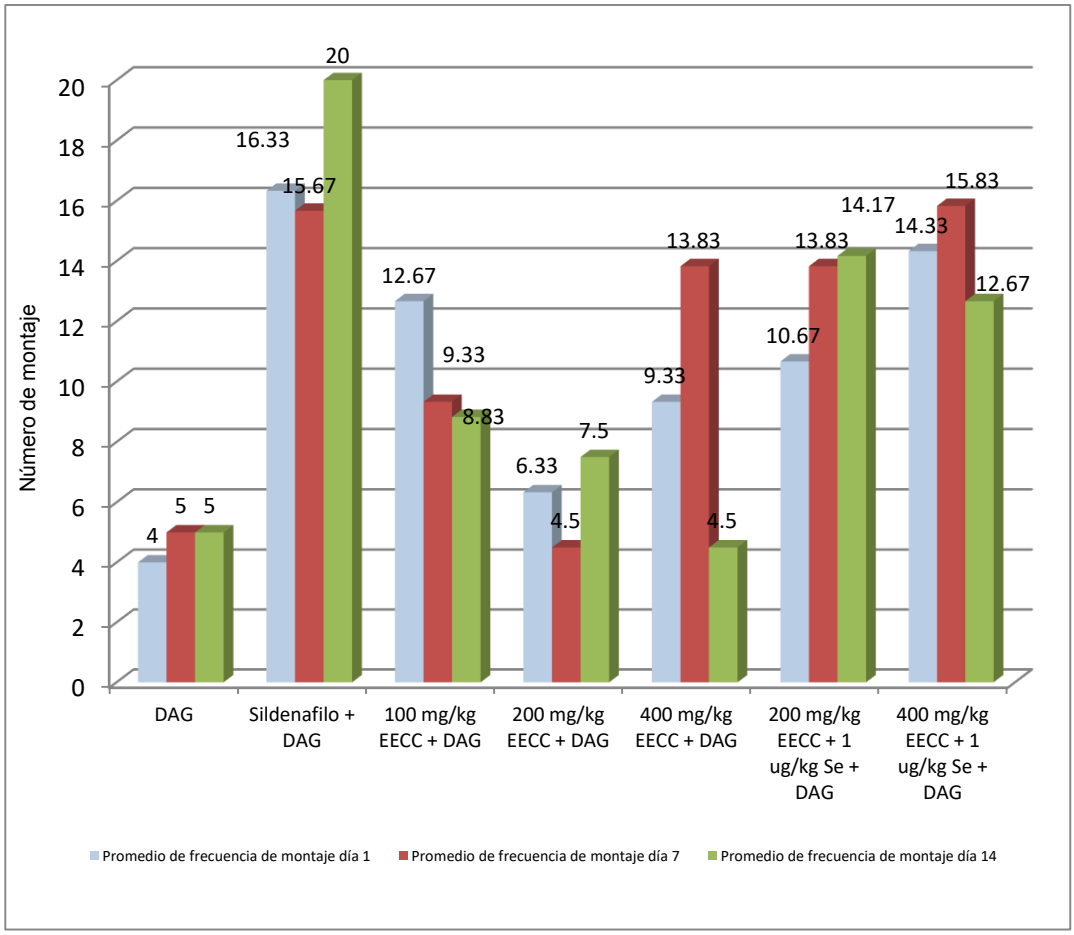


Figura 18. **Promedio de frecuencia de montaje según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce.**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* Se: Selenio.

La mayor frecuencia de intromisión (FI) se observó en ratas a las que se administraron EECC en dosis correspondiente a 100 mg/kg, con un valor de 13.17 (día 1) el cual disminuye en el día 7 llegando a 8.17; pero dicho valor se incrementa en el día 14 mostrando un promedio de 15. Seguido del EECC más Se en dosis de 200 mg/kg mostrando un valor de 11.5 (día 1), el cual se eleva en el día 7 el valor correspondiente es 12.17 y continúa dicho incremento hacia el día 14 con un valor de 14.5. Finalmente se ubica el extracto en dosis de 400 mg/kg con un valor promedio de 5 (día 1), el cual se acrecenta de manera importante en el día 7 con un valor de 11.6 y hacia el día 14 dicho valor se reduce de manera importante hasta 4.6 (Figura 19).

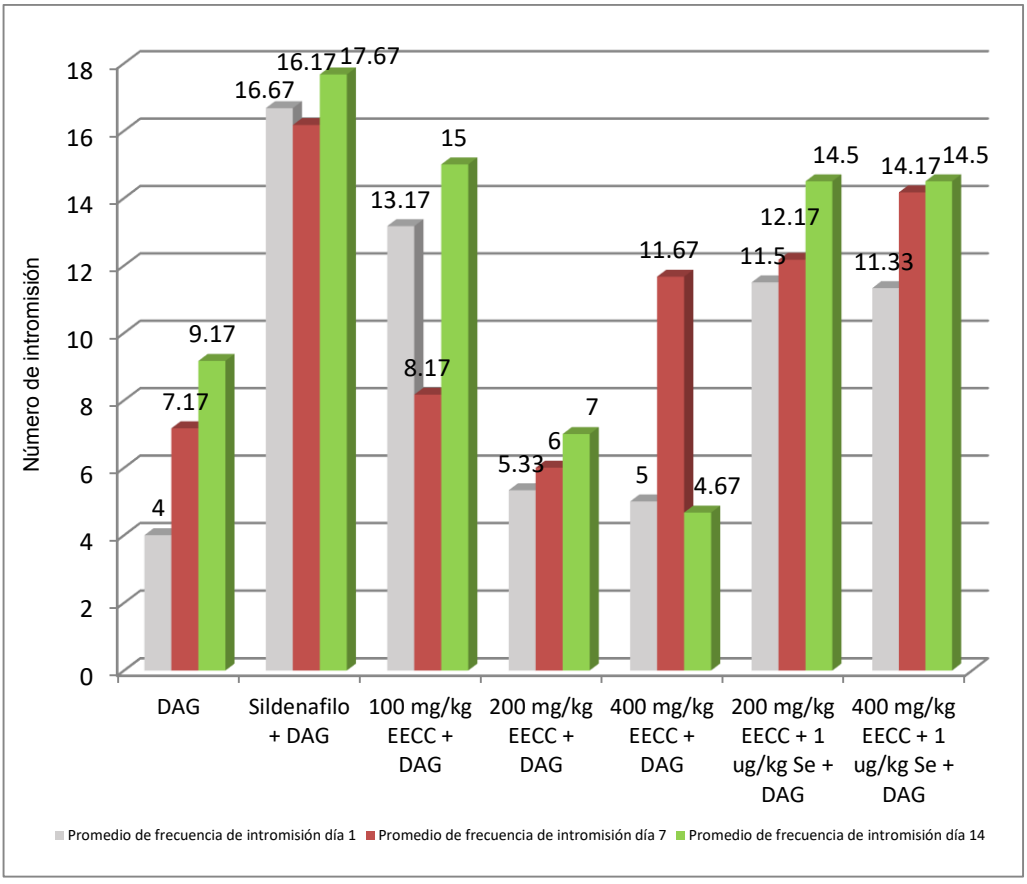


Figura 19. **Promedio de frecuencia de intromisión según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce.**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

La frecuencia de eyaculación (FE) se observó en ratas macho administradas EECC con Se, a dosis correspondiente de 400 mg/kg, el cual se representa con 11.33 en el primer día, con un ligero descenso el día 7 llegando a 10.67 para incrementar su valor en el día 14 en donde se evidencia un promedio de 11.83 seguida de las administradas del EECC más Se a 200 mg/kg, con un valor de 11 (día 1), el cual se incrementa en el día 7 llegando a 11.33, incrementándose aún más en el día 14 mostrando un promedio de 12.17. Sin embargo, no hubo diferencias significativas en las ratas administradas con el grupo control positivo (Figura 20).

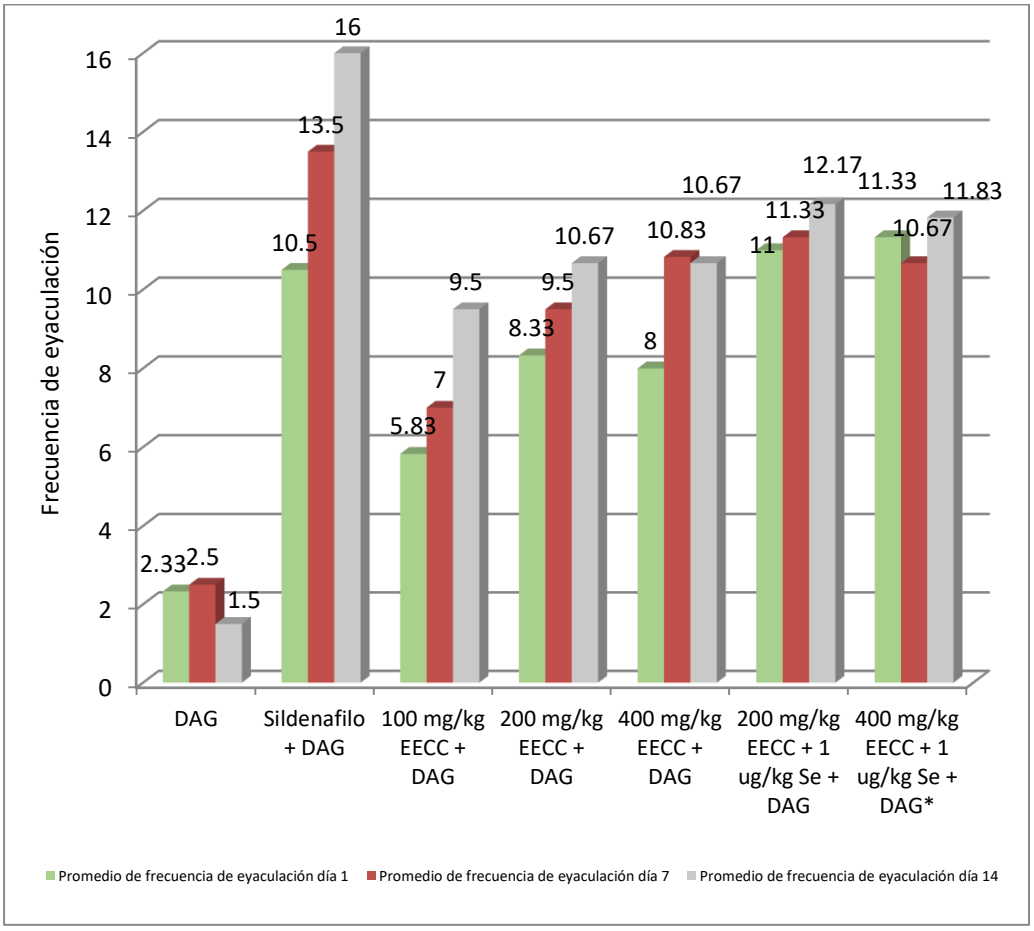


Figura 20. **Promedio de frecuencia de eyaculación según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce.**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

El valor promedio más alto respecto al intervalo post eyaculatorio (IPE) corresponde al EECC en dosis de 100 mg/kg, el cual se representa con 30.33 en el primer día, con un descenso el día 7 llegando a 23.17 incrementándose ligeramente hacia el día 14 en donde se evidencia un promedio de 23.5. El segundo corresponde a 200 mg/kg, con un valor de 27 el cual disminuye en el día 7 llegando a 22.83, continuando con dicha tendencia hacia el día 14 mostrando un promedio de 17.33. Las ratas administradas con sildenafilo y la concentración más alta del EECC + 1 µg/kg Se en el IPE tuvieron un descenso desde los días 7 y continúan manteniéndose en el día 14 (Figura 21). En todos se tiene un nivel de significancia de $p<0.01$ en comparación al grupo control.

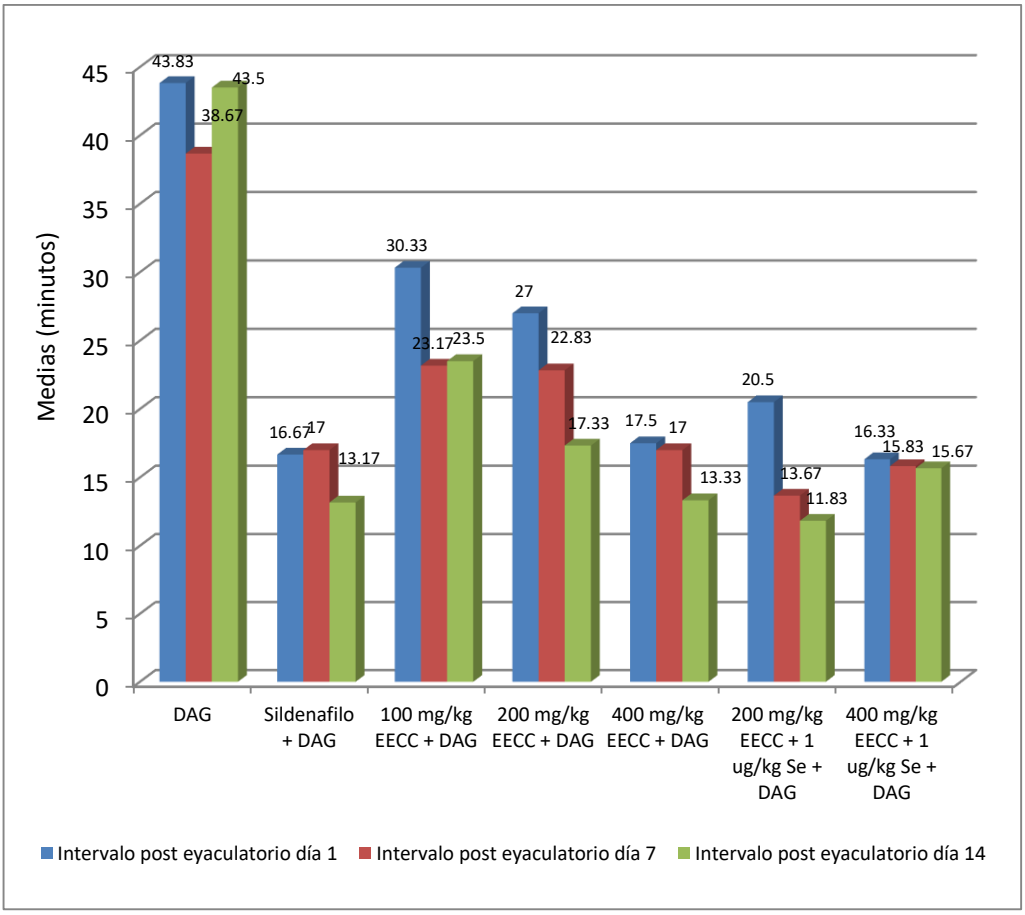


Figura 21. **Promedio del intervalo post eyaculatorio según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce.**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

La LM fue mayor en las ratas a las que se administró 400 mg/kg EECC el cual se representa con 108.17 en el primer día, con un descenso el día 7 llegando a 99, para incrementar ligeramente su valor en el día 14 en donde se evidencia un promedio de 100.67, seguidas de las administradas con 200 mg/kg EECC con un valor de 102.17 el cual se incrementa en el día 7 llegando a 103.83 pero dicho valor desciende en el día 14 mostrando un promedio de 19.5. Mientras tanto el sildenafilo con un valor promedio de 28.17 el cual se reduce de manera considerable en el día 7 con un valor de 8.17 y hacia el día 14 dicho valor se incrementa llegando a 12.17. El grupo control y los grupos de EECC más Se, estaban significativamente diferentes (Figura 22).

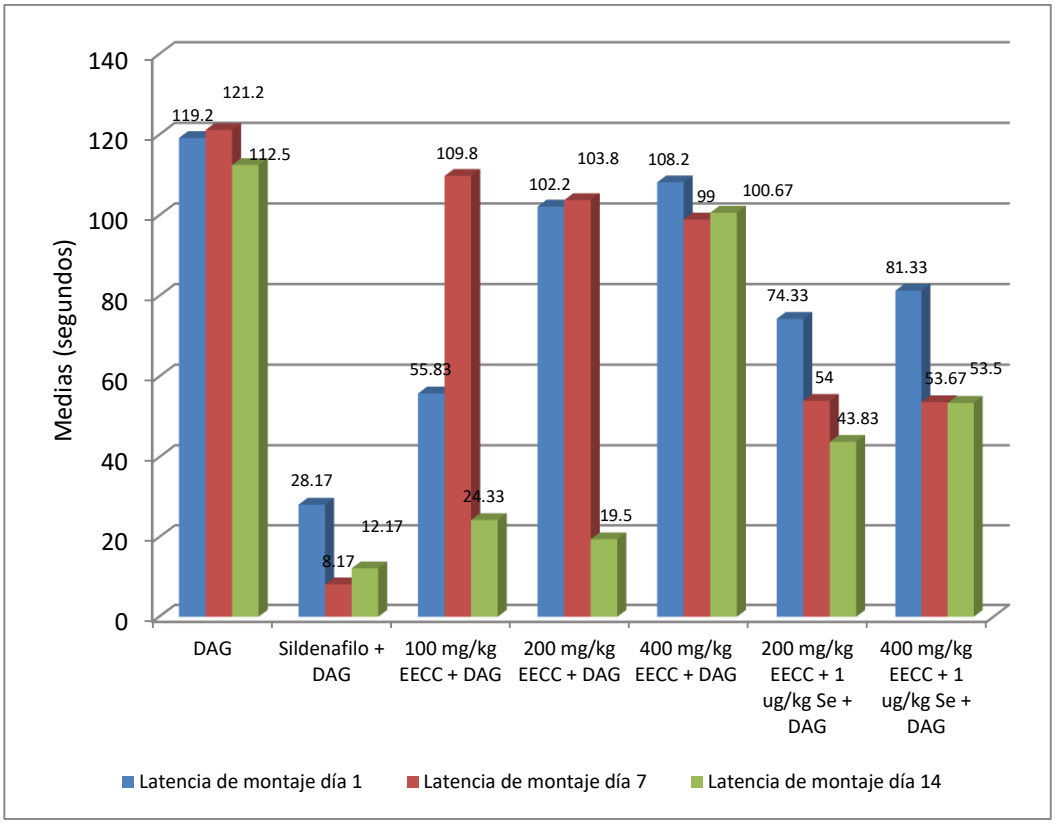


Figura 22. **Promedio de latencia de montaje según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

De acuerdo a lo evidenciado en la Figura 23, el EECC a dosis de 200 mg/kg, el cual se representa con 122.67 en el primer día, con un descenso el día 7 llegando a 120, continuando con dicho decremento hacia el día 14 en donde se evidencia un promedio de 30.33. Mientras que 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se, indica un valor de 105 el cual disminuye en el día 7 correspondiente a 86.17 y continúa disminuyendo hacia el día 14 con un valor de 78.33. El grupo tratado con sildenafilo con un valor promedio de 49, el cual se reduce den el día 7 con un valor de 42.67 y hacia el día 14 dicho valor disminuye aún más llegando a 20.67.

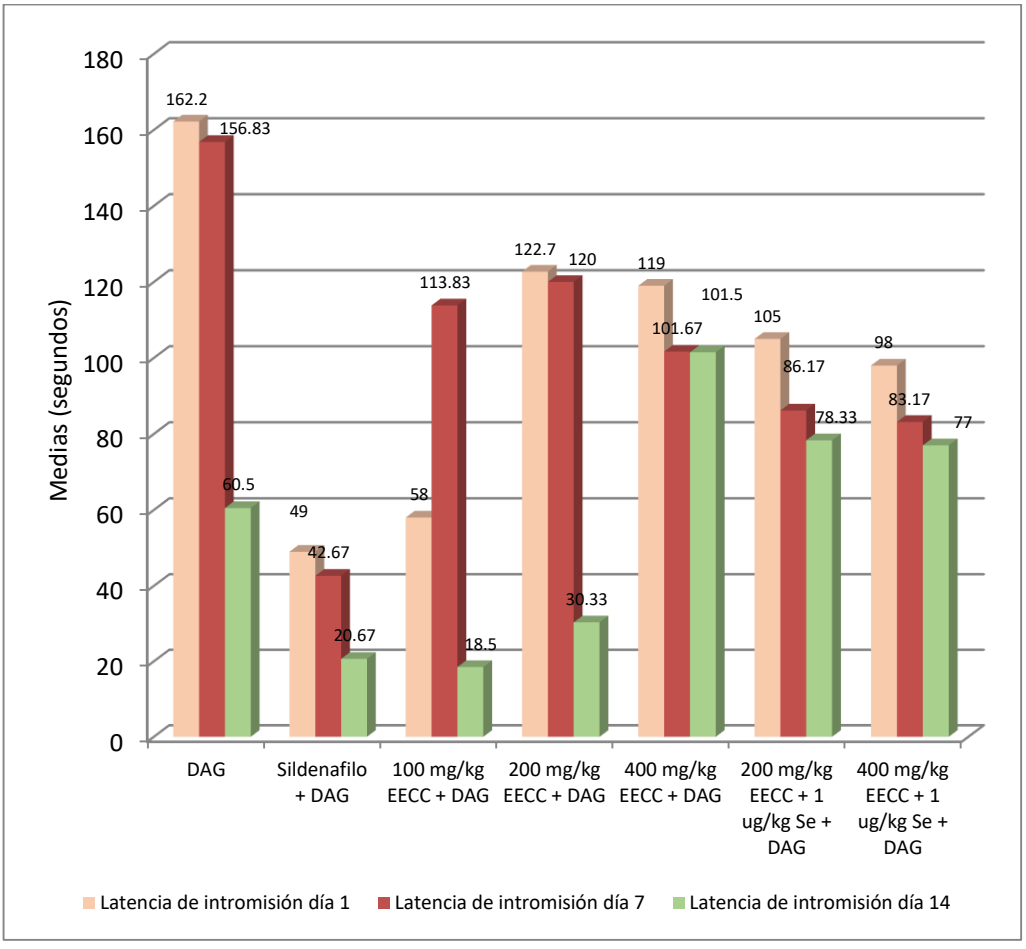


Figura 23. **Promedio de latencia de intromisión según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

En la Figura 24, a 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se, con un valor de 48.5 en el día 1, se incrementa en el día 7 llegando a 60.5, pero dicho valor desciende en el día 14 mostrando un promedio de 30.5 son similares al sildenafilo, el cual se representa con 50.83 en el primer día, con un incremento hacia el día 7 llegando a 81.5. Asi mismo de 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se, obtienen un valor de 40.67, aumenta el día 7 al valor correspondiente 42.67 y continúa dicho incremento hacia el día 14 alcanzando un valor de 79.67. Entretanto, 100 mg/kg EECC con un valor de 23.17 disminuye dicho valor hacia el día 7 con 20.67 y aumento de forma importante su valor hacia el día 14 llegando a 99.67.

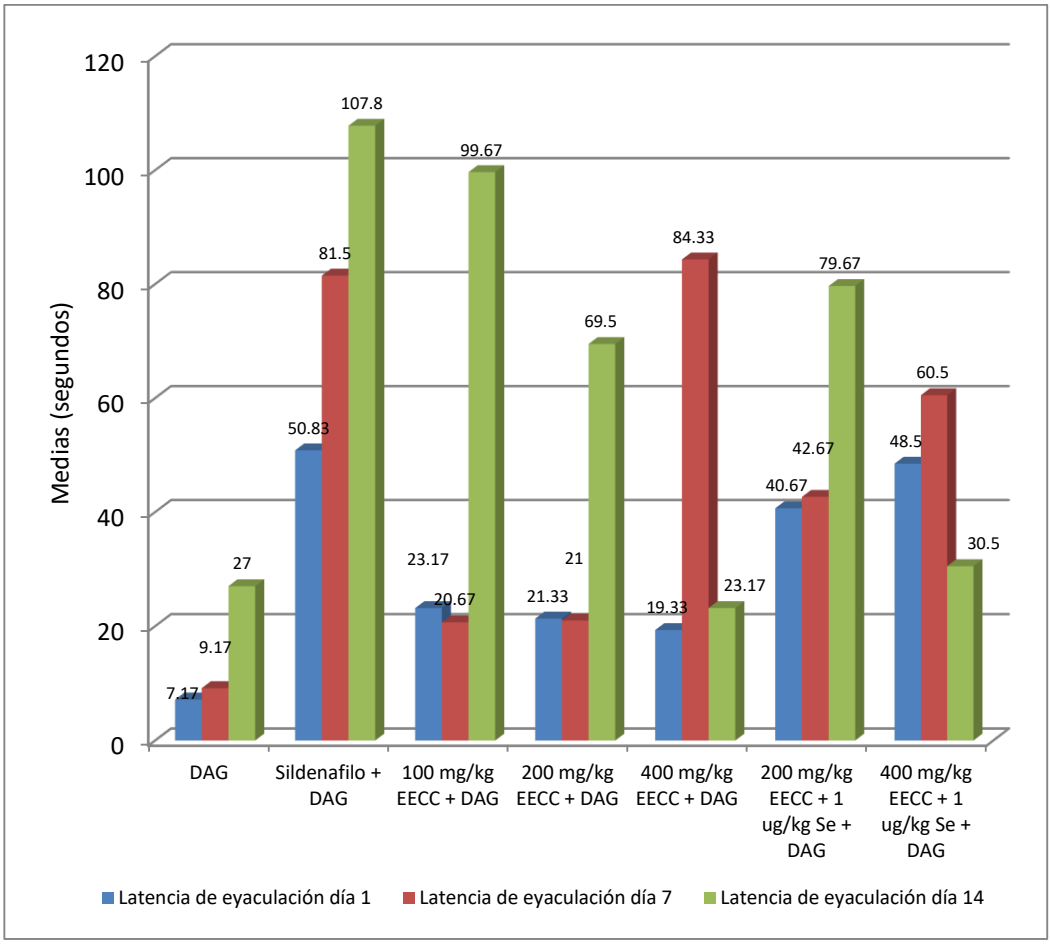


Figura 24. **Promedio de latencia de eyaculación según grupos de tratamiento los días uno, siete y catorce**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

b) Prueba de reflejos del pene

Las erecciones y giros rápido en las ratas administradas con el EECC + Se y sildenafilo no fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) unos de otros, mientras que los giros prolongados fueron más altos sólo en ratas administradas con 400 mg/kg y menor en 100 y 200 mg/kg del extracto vegetal. El EECC de 400 mg/kg + Se mejoró significativamente los reflejos peneanos totales.

Puede evidenciarse que la actividad en términos generales se incrementa al acrecentar la dosis del extracto etanólico de raíces de *Corynaea crassa*, y más aún al incorporar Se en el tratamiento. Sumado a esto, el efecto en comparación total con el control positivo (sildenafilo), corresponde al grupo tratado con el EECC en dosis de 400 mg/kg + Se (Figura 25).

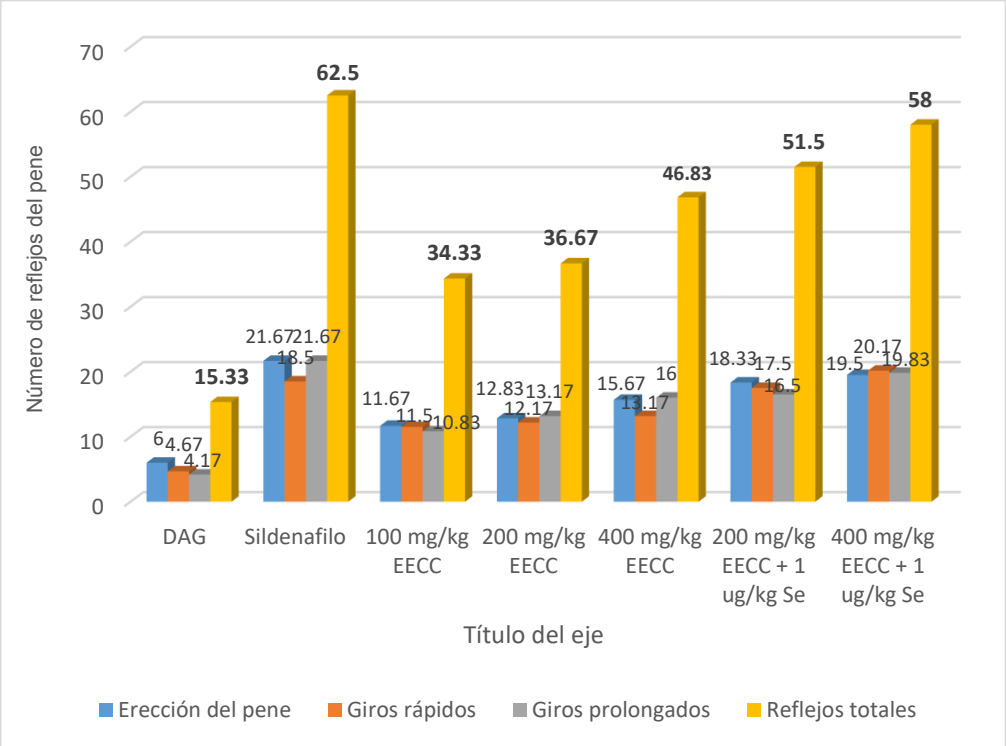


Figura 25. **Efecto del extracto etanólico de raíces de *Corynaea crassa* y selenio sobre los reflejos del pene en ratas**

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

c) Evaluación del perfil lipídico

El presente estudio evaluó el efecto estimulante del EECC, ante diferentes marcadores bioquímicos, tal como se muestran en los siguientes resultados. Según los resultados encontrados se observa que los pesos basales entre las muestras iniciales eran muy similares entre los grupos de tratamientos analizados, solo en el caso de las ratas pertenecientes al grupo de dieta alta en grasas, estos tenían valores superiores al inicio del tratamiento en relación a los otros grupos de intervención (Tabla 8).

De acuerdo a la Tabla 8, en todos los grupos de tratamiento se observa que los promedios de peso de las ratas aumentó significativamente (*p<0.01) hasta el final del tratamiento respecto al promedio de los pesos iniciales, y con respecto al grupo control fue el de menor ponderación luego de la inducción con DAG a término.

Tabla 8. **Distribución de las mediciones del peso (g)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	193±4	175±2*	174±1*	176±2*	172±1*	178±2*	184±1*
IC 95%	189-197	173-177	173-175	174-178	171-173	176-179	183-186
Final							
Media±DE	369±7	385±2*	389±1*	398±3*	386±4 *	403±3*	407±5*
IC 95%	362-377	383-388	389-390	395-401	382-390	400-406	401-412

Se presenta los promedios (g) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01).

La Tabla 9 se observa que hubo disminución significativa en el día 1 de los niveles de colesterol (Co) en el grupo de sildenafilo respecto al grupo DAG. De manera semejante, hubo aumento significativo de los niveles de colesterol en el día 7 del grupo 100 mg/kg EECC respecto al grupo DAG. Sin embargo, no existe diferencia significativa de los niveles de colesterol en el día 14 del grupo 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se respecto al grupo DAG.

Tabla 9. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de colesterol (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	211±4	210±10	209±9	198±1	222±20	245±0	248±0
IC 95%	2067-214	200-221	200-217	197-200	201-242	245-245	248-248
1							
Media±DE	187±7	40±2*	118±4*	103±7*	51±2*	92±7*	91±15*
IC 95%	179-195	38-42	113-122	96-111	50-53	85-98	76-107
7							
Media±DE	73±7	57+4*	176±6*	81±2	48±3*	87±12**	83±10
IC 95%	65-80	53-61	170-182	79-83	45-51	74-100	72-93
14							
Media±DE	79±12	52±4*	149±3*	71±1	40±3*	80±16	84±14
IC 95%	67-91	47-56	146-152	70-72	36-43	63-97	69-98

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

En la Tabla 10, se resalta que los niveles de triglicéridos (TGC) disminuyen al incrementar la dosis del EECC, manteniendo estabilidad las respuestas en los grupos. El efecto más significativo en comparación con el valor promediodel grupo control, corresponde al EECC en dosis de 200 mg/kg + 1 µg/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se (*p<0.01).

Tabla 10. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de triglicéridos (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	161±11	165±5	158±8	129±56	155±4	153±6	148±5
IC 95%	150-172	159-170	150-167	70-188	151-159	146-159	143-152
1							
Media±DE	91±4	74±7	101±1	110±12**	137±13*	141±17*	141±9*
IC 95%	86-95	67-82	100-102	98-123	123-151	124-159	132-151
7							
Media±DE	91±12	73+5	121±7*	123±16*	129±15*	129±12*	134±8*
IC 95%	78-103	68-78	114-128	106-140	113-144	116-142	125-142
14							
Media±DE	92±2	86±4	112±7**	121±6*	134±16*	118±20*	123±4*
IC 95%	90-94	83-90	104-119	115-127	117-151	97-139	119-128

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar.

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

En la Tabla 11, los niveles de LDL la respuesta más efectiva en los grupos tratados con el EECC a dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg + 1 µg/kg Se al relacionar con el grupo DAG (*p< 0.01). En los grupos tratados con el EECC en dosis de 200 mg/kg se presenta un efecto similar al grupo tratado con sildenafilo.

Tabla 11. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	108±8	111±8	124±10	109±9	104±12	111±10	104±10
IC 95%	100-117	103-119	114-135	100-118	92-116	100-121	93-115
1							
Media±DE	50±3	41±3*	38±2*	44±2*	34±3*	23±2*	25±1*
IC 95%	47-56	37-44	35-40	42-47	31-38	22-25	24-26
7							
Media±DE	51±3	43+4*	38±3*	43±2**	35±1*	25±1*	21±9*
IC 95%	48-55	39-46	35-41	41-46	34-36	24-25	11-30
14							
Media±DE	52±4	46±4*	42±2*	51±2	35±2*	22±2*	21±2*
IC 95%	48-56	42-50	40-44	49-52	32-37	20-24	19-23

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar.

DAG: Dieta alta en grasa EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

En la representaciones de la Tabla 12, la evaluación de VLDL nos muestra resultados sumamente importantes en el grupo tratado con solo EECC y EECC asociado con Se, durante los días de tratamiento (*p<0.01) en relación al grupo DAG. Sin embargo, el grupo de sildenafilo en el día 14 no se existe significancia valiosa con el grupo control negativo.

Tabla 12**. Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	33±2	34±4	34±2	32±3	33±2	33±4	33±4
IC 95%	31-35	30-37	31-36	29-35	30-35	29-37	29-37
1							
Media±DE	31±2	25±1*	22±2*	18±9*	21±3*	20±1*	20±1*
IC 95%	29-32	24-27	20-25	9-28	17-25	18-21	19-21
7							
Media±DE	36±3	25+4*	21±2*	22±3*	21±2*	21±2*	20±1*
IC 95%	33-38	21-30	19-22	19-24	19-23	18-23	18-21
14							
Media±DE	29±3	26±2	21±1*	21±3*	21±3*	20±4*	20.21±1.61*
IC 95%	26-33	23-28	21-22	18-24	17-24	16-23	19-22

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01)

En la Tabla 13, la valoración del HDL nos permite ver el impacto de 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se del día 7 (**p<0.05), presenta un incremento de la media importante. Entretanto, 200 mg/kg EECC + 1µg/kg Se del día 14 se observa una elevación significatica de HDL (*p<0.01), al contrastar con el grupo DAG.

Tabla 13. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	33±4	29±2	31±3	34±3	28±3	32±4	33±4
IC 95%	29-37	27-32	28 -34	31-37	25-31	28-37	29-37
1							
Media±DE	45±4	54±7**	51±3	43±2	48±5	54±4**	55±4*
IC 95%	41-50	47-61	48-55	40-45	43-54	50-59	51-60
7							
Media±DE	48±8	59+6*	47±1	47±2	46±3	53±2	56±2**
IC 95%	40-56	52-65	46-48	44-49	43-50	51-56	54-59
14							
Media±DE	44±6	56±4*	43±5	45±3	47±2	61±4*	55±5*
IC 95%	38-50	52-60	37-48	42-48	45-49	57-66	50-59

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

d) Evaluación de la glucosa

Los efectos del EECC en los niveles de glucosa en la Tabla 14, se evidencia un comportamiento heterógeneo de disminución de glucosa al equipar con el grupo DAG, a 200 mg/kg y 400 mg de EECC ambos asociado con Se en el día 7, se aprecia valores significativos (*p<0.01 y **p<0.05).

Tabla 14. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de glucosa (mg/dL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	113±4	121±12	121±15	137±14	173±21	166±33	170±22
IC 95%	109-118	108-133	105-137	122-152	151-195	132-200	147-193
1							
Media±DE	107±8	82±5**	115±12	105±21	104±12	92±11	99±6
IC 95%	99-116	77-88	101-128	83-127	91-116	80-104	93-105
7							
Media±DE	115±8	88+7*	106±11	97±14	104±16	94±6**	86±2*
IC 95%	106-123	80-96	94-118	82-112	87-120	87-101	84-88
14							
Media±DE	119±6	96±4**	104±9	107±19	106±9	92±13*	103±11
IC 95%	113-126	92-100	95-113	87-126	97-115	79-105	90-115

Se presenta los promedios (mg/dL) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (*p<0.01, **p<0.05).

e) Efecto en los níveles séricos de testosterona

En la Tabla 15, la administración de 200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se, aumentó significativamente (*p<0.01) los niveles de testosterona del día 1 al día 14. En oposición el tratamiento con sildenafilo no tuvo al significancia en ningún día de tratamiento.

Tabla 15. **Efecto del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* sobre el nivel de testosterona (ng/mL)**

Día	DAG	Sildenafilo	100 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC	400 mg/kg EECC	200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se	400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se
Basal							
Media±DE	1.50±0.12	1.22±0.31	1.39±0.59	1.16±0.47	0.89±0.03	1.41±0.66	1.21±0.33
IC 95%	1.32-1.67	0.91-1.55	0.78-2.01	0.67-1.65	0.86-0.92	0.71-2.10	0.86-1.55
1							
Media±DE	1.44±0.16	1.89±0.07	2.51±0.32*	2.03±0.13	1.26±0.08	4.86±0.79*	5.24±0.53*
IC 95%	1.27-1.61	1.82-1.97	2.18-2.84	1.90-2.16	1.17-1.35	4.03-5.69	4.69-5.79
7							
Media±DE	0.74±0.14	0.50+0.04	0.60±0.04	1.93±0.19*	1.86±0.05*	5.12±0.58*	4.35±0.49*
IC 95%	0.59-0.88	0.45-0.53	0.45-0.53	1.72-2.13	1.82-1.91	4.51-5.72	3.84-4.86
14							
Media±DE	0.48±0.08	0.20±0.05	1.74±3.07	0.25±0.04	0.26±0.07	4.34±0.73*	4.61±0.90*
IC 95%	0.40-0.57	0.15-0.26	-1.48 – 4.96	0.21-0.29	0.18-0.033	3.63-5.17	3.67-5.55

Se presenta los promedios (ng/mL) ± Desviación estándar

DAG: Dieta alta en grasa. EECC: Extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa.* Se: Selenio.

Estadísticamente significativo en comparación con el grupo de control (* p<0.01).

4.1.4. Estudio de la toxicidad aguda

Hallándose la dosis letal media (DL_{50}), única derivada estadísticamente de una sustancia que produce la muerte en el 50% de una población de animales de prueba a la que se administra por cualquiera de los métodos en este caso se desarrolló por vía oral. La determinación de esta prueba examinó la relación entre la dosis y la respuesta más extrema: la muerte. Es decir cuanto más potente es el tóxico, disminuirá la DL_{50} y menor será la dosis necesaria para causar la muerte. Además de la mortalidad, tenemos en cuenta otros efectos biológicos y el tiempo de inicio, duración y grado de recuperación en los animales sobrevivientes, también son importantes en la evaluación de toxicidad aguda.

Tomándose en consideración lo antes mecionado, los datos recolectados siguen una distribución binomial (vivo y muerto), la prueba estadística empleada para este fin fue el análisis Probit. Se evidencia el valor de la dosis letal media (DL_{50}) correspondiente a 4033 mg/kg (Tabla 16).

Tabla 16. **Evaluación de la letalidad por la prueba de Probits**

Concentración mg/kg	Log de la concentración	Vivos	Muertos	Proporción	Corrección de la proporción	Logit (P)	Probit (P)
0		6	0	0			
500	2.70	6	0	0			
1000	3.00	6	0	0			
2000	3.30	5	1	0.17	0.17	-1.61	4.03
3000	3.48	4	2	0.33	0.33	-0.69	4.57
4000	3.60	3	3	0.5	0.50	0.00	5.00

	Logit	Probit
Pendiente	5.33705533	3.20281699
Intersección	-19.2341156	-6.54802193
Test value	0	5
Log C	3.60388162	3.60558282
DL_{50}	4016.81306	**4032.57845**

En la Figura 26, el modelo de regresión permite evidenciar el valor creciente de la concentración según los casos de muerte.

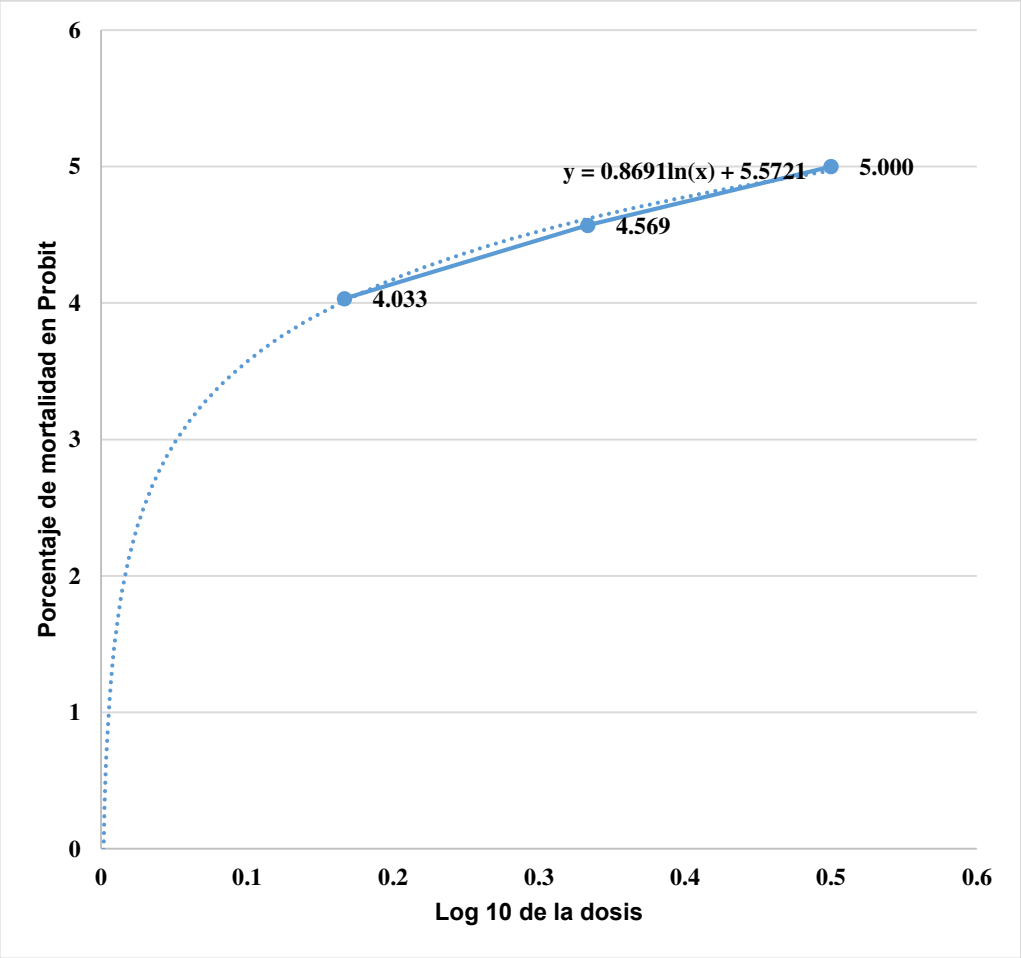


Figura 26. **Dosis letal media (DL_{50}).** Línea de tendencia de acuerdo a la identificación de la dosis letal 50 (DL_{50}) del extracto etanólico de raíces de *Corynaea crassa.*

Mientras en la Tabla 17, se evidencia un caso de muerte con una concentración del EECC de 0.20%, dos casos de muerte con una concentración del 0.30% y tres casos de muerte con una concentración del de 0.40%. Cabe destacar que la concentración mínima requerida para producir efectos nocivos corresponde al 0.2%.

Tabla 17. **Concentración del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* en relación con el número de muertes en ratones**

Recuento		Muertes			
Total					
Concentración	0	0	0	0	0
	0.05%	0	0	0	0
	0.10%	0	0	0	0
	0.20%	1	0	0	1
	0.30%	0	2	0	2
	0.40%	0	0	3	3
Total		1	2	3	6

4.1.5. Discusión

Los disolventes utilizados para la extracción de biomoléculas de las plantas se eligen en función a la polaridad del soluto de interés. Un solvente de polaridad similar al soluto lo disolverá adecuadamente. Se pueden usar múltiples disolventes secuencialmente para limitar la cantidad de compuestos análogos en el rendimiento deseado. Según Zhang, Lin y Ye (2018), la ley de similitud e intermiscibilidad (como disuelve como), es probable que los solventes con un valor cercano a la polaridad del soluto tengan un mejor desempeño y viceversa.

Los resultados de solubilidad presentados en la Tabla 4 y Figura 16, mostraron que los solventes agua, etanol y metanol se difundieron en el material de las raíces de *Corynaea crassa*. La selección del solvente alcohólico (etanol y metanol) fue el de mayor solubilidad. De manera similar, lo manifiesta Altemimi et al. (2017), informando que los extractos etanólicos de las plantas se extraen cantidades más altas de componentes activos en comparación con la acetona, el agua y el metanol. Los solventes múltiples se han usado comúnmente para extraer fitoquímicos, y los científicos usualmente emplean extracto seco de plantas para extraer compuestos bioactivos y eliminar la interferencia del agua al mismo tiempo (Xi, 2015). El etanol es más fácil de ingresar hacia la membrana celular para extraer los ingredientes intracelulares del material vegetal, de forma similar, el metanol es más polar que el etanol pero debido a su naturaleza citotóxica se restringe su aplicación. Sin embargo Van Ngo et al. (2017), reporta al metanol de poseer la capacidad extraíbles más altos (15.6%), seguido del etanol 50% y acetona 50% (14.3% y 12.2%, respectivamente) a partir del extracto crudo de la raíz de *Salacia chinensis*, estas diferencias podría verse afectados por la diferencia en la solubilidad de diversos compuestos en la muestra.

El análisis fitoquímico del EECC (Tabla 5 y Figura 17) reveló la presencia de agentes bioactivos como alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides/terpenoides, flavonoides, lactonas, saponinas y taninos, mientras que otros como carbohidratos y proteínas no se detectaron. Los fitoquímicos presentes en el EECC son moléculas activas que se pueden utilizar para explicar los diversos patrones de resultados obtenidos en el estudio relacionado al comportamiento sexual. En el caso de los alcaloides presente en la muestra, Vyas y Raval (2016), en un estudio fitoquímico preliminar del vegetal *Hygrophila spinosa* en ratas, reveló la presencia de alcaloides. Las fracciones de alcaloides demostraron la actividad espermatogénica y afrodisíaca usando métodos *in vitro* e *in vivo*. Los estudios establecidos confirmaron la capacidad de los alcaloides para estimular las células de Leydig y aumentaron el nivel de testosterona en suero. El aumento del nivel de testosterona podría ser responsable de un mayor número de espermatozoides a nivel testicular, así como un aumento de la libido como se observó en los estudios de comportamiento. Mientras en la investigación de Adefegha, Oboh, Okeke y Oyeleye (2017), se observó que los alcaloides caracterizados en los extractos de *Alligator peppe* y *Bastered melegueta*, inhiben las enzimas (acetilcolinesterasa, enzima convertidora de angiotensina, arginasa y fosfodiesterasa-5) asociadas con la disfunción eréctil y la actividad erectógena. Además ser parte del mecanismo posible a través del cual estas plantas provocaron la función erectogénica en la medicina folclórica.

Las saponinas triterpénicas promueven la liberación de NO endotelial, el cual ejerce un efecto directo sobre la DE a través de la erección mediada por la relajación de los músculos lisos del cuerpo cavernoso (Lee et al., 2017). Se ha atribuido a mejorar la relajación activada por la estimulación nerviosa transmural inducida por acetilcolina asociada con un aumento del monofosfato cíclico de guanosina en tejido (Kotta, Ansari, & Ali, 2013). Los esteroideos

y saponinas triterpénicas (ginsenósidos) de las raíces de *Panax ginseng*, se informan como los componentes activos más importantes. Se cree que los mecanismos subyacentes al efecto del ginseng en el tratamiento de la DE están relacionados con múltiples vías. Además, el ginseng es un potenciador sexual natural cuyo efecto puede inducir la relajación del músculo liso mediante la hiperpolarización de la membrana del músculo liso a través de la activación de canales de potasio de gran conductancia (Lee,Tan, & Chung, 2017).

Los resultados del presente trabajo reveló la presencia de flavonoides en el “Viagra macho”. Este hallazgo está en línea con informes de los extractos de plantas medicinales, que pueden inhibir la actividad de la PDE-5, especialmente con presencia de flavonoides (Oboh, Ademiluyi, Oyeleye, Olasehinde, & Boligon, 2017). El EECC contiene flavonoides y saponinas, compuestos que tendrían la posibilidad de estimular la producción de NO y pueden ayudar a mejorar la erección del pene al evitar el efecto dañino del estrés sobre los tejidos eréctiles. La capacidad de los flavonoides para mejorar el flujo hemodinámico beneficia la actividad del óxido nítrico sintasa (NOs) que estimula la producción de NO. El NO activa la guanililciclasa para producir GMP cíclico (cGMP), un potente vasodilatador (Dare, Salami, Kunle-Alabi, Akindele & Raji 2015). En consecuencia, los contenidos de flavonoides y saponinas en el EECC parecen ser responsables de la actividad de estimulación de liberación de NO.

Los compuestos fenólicos y flavonoides presentes en el EECC, también podrían ser responsables de esta mejoría sexual. Muchos estudios han demostrado que los flavonoides y los fenoles son capaces de relajar los cuerpos cavernosos de ratas normales y diabéticas (Adebayo, Oboh, & Ademosun, 2019). Otra posibilidad es que los flavonoides pueden aumentar el nivel de testosterona,

la hormona principal que controla el comportamiento sexual (Wankeu-Nya et al., 2014).

Leitolis, Amoahb, Biavatti y Silva-Santos (2016), hallaron en una fracción de hexano en hojas de *Hedyosmum brasiliense* en la relajación *in vitro* del cuerpo cavernoso en rata, informa algunas pruebas experimentales que apoyan el efecto erectógeno, ya que encontraron lactonas sesquiterpénicas capaces de inducir vasodilatación *in vitro* del cuerpo cavernoso. Es importante destacar que la relajación del endotelio es totalmente dependiente de la producción de óxido nítrico, a pesar de la conocida existencia de otros mediadores endoteliales capaz de relajar las células del músculo liso y su participación en la control del tono vascular, como los derivados de la ciclooxigenasa y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio. Estos resultado concuerda con la identificación de lactonas con el reactivo de Baljet. Los datos no permite establecer qué mecanismos intracelulares podrían utilizar estas lactonas sesquiterpénicas para provocar la relajación del cuerpo cavernoso. Este efecto merece mayor investigación.

La identificación de las saponinas y taninos en el EECC, explica la posibilidad de sus propiedades erectógenas y efectos en las hormonas androgénicas. Así lo confirma en el estudio de Yakubu y Jimoh (2014), referente a las raíces de *Carpolobia lutea* en la excitación y el rendimiento sexual en ratas macho, el extracto atenuó el comportamiento sexual de los animales con la disfunción sexual inducidas por paroxetina; y aumentó los niveles séricos de lutropina, folitropina y testosterona después de la administración crónica. Lo mismo manifiesta Wankeu-Nya et al. (2014), referente a la saponina, reveló en los extractos de plantas perteneciente a la familia esteroide, podría poseer una característica de aumento del andrógeno, puede a su vez aumentar los niveles de óxido nítrico en los tejidos del pene mediante la modulación de isoenzimas de óxido nítrico sintasa. La mejora en la función sexual observada en

este estudio podría por lo tanto ser resultado de la presencia de tales compuestos en el EECC. Ante lo mencionado, los andrógenos actúa sobre el sistema nervioso central para servir como un modulador importante del comportamiento sexual masculino incluyendo la libido. El comportamiento sexual depende del funcionamiento normal del eje hipotalámico-hipófisis-gonadal (Corona, Isidori, Aversa, Burnett, & Maggi, 2016).

El presente estudio indicó que el tratamiento con EECC sólo y combinado con Se (Figura 18 y 19) mejoró los efectos estimulantes sobre el comportamiento sexual masculino. Los índices de eficiencia sexual masculina, como las FM y FI, son parámetros que generalmente se miden en la determinación de la motivación sexual, la eficiencia de la erección del pene y la activación de los reflejos eyaculatorios. El aumento en las FM y FI puede ser indicativo de la capacidad del EECC y Se para controlar la disfunción eréctil y los trastornos de la excitación sexual. Se observó que las dosis de tratamiento de extracto combinado de EECC a 200 mg/kg y 400 mg/kg + Se aumentaron la eficacia de las monturas y las intromisiones produciendo mejores resultados en comparación a 200 mg/kg y 400 mg/kg del EECC en todas las ratas tratadas. Se observó que estos efectos eran significativamente elevados, aunque fue superior el fármaco de control positivo. Coinciden los resultados con la investigación de Jung et al. (2017), en el extracto de *Dendropanax morbifera* a dosis 200 mg/kg, tuvó mejoras en el comportamiento sexual de las ratas macho en la FM y FI. Sin embargo, a dosis menores de 46.5 y 93 mg/kg de extracto metanólico de *Pseudopanax arboreus* incrementó la FM y FI (Besong et al., 2018). Si bien la FM refleja la motivación sexual, el aumento de la FI indica la eficiencia de la erección, la orientación del pene y la facilidad con la que se activan los reflejos eyaculatorios, es evidencia de eficacia en el comportamiento sexual en condiciones experimentales (Heijkoop, Huijgens, & Snoeren, 2018).

El aumento de la frecuencia de eyaculación por el extracto con selenio (400 mg/kg + Se) es una indicación de un efecto afrodisíaco mejorado de la planta (Figura 20). Asi mismo, podría indicar la eficacia de la erección del órgano masculino, la orientación peneal adecuada y la facilidad por la cual se activan los reflejos eyaculatorios. Estudios desarrollados por Zhang, Zhou y Ge (2019), en extractos combinados de raíz de *Lepidium meyenii* y semilla de *Allium tuberosum* condujo a una frecuencia de eyaculación significativamente más alta y aumentó notablemente de cGMP en pene de ratones, indicaron que los extractos combinados tuvieron una mejor eficacia en términos de excitación sexual que ambos extractos individuales. De acuerdo a Carro-Juárez et al. (2017), con el extracto de maíz morado podrían extenderse la frecuencia eyaculatorio, ya que registró reducciones significativas en la latencia eyaculatoria (dosis de 75 mg/kg), lo que refleja una influencia positiva del extracto sobre el mecanismo eyaculatorio.

El intervalo post eyaculatorio mide la tasa de recuperación del agotamiento después del primer conjunto de apareamiento, así como una medida de la potencia, el impulso sexual o menos agotamiento en la primera serie de apareamiento (Sadeghzadeh et al., 2018). La disminución de la tasa de intervalo post eyaculatorio en los grupos administrados con EECC + Se indica que el extracto puede tener un efecto positivo en el aumento de la potencia y la libido, lo que podría sugerir que *Coryneae crassa* puede facilitar la función eréctil y que la dosis más alta administrada podría producir un efecto similar al sildenafilo (Figura 21). En la investigación de Nchegang et al. (2016), en las dosis de 100 y 500 mg/kg die extracto *Eremomastax speciosa* redujó el IPE, es un indicio de un aumento sostenido de la actividad sexual. El hecho de que el IPE se extendió en todos los animales tratados con el EECC sugiere que, después de la eyaculación, los compuestos contenidos en este extracto promueven un bloqueo prolongado de los mecanismos que dirigen la reanudación de la copulación. Por lo

tanto, se podría afirmar que el EECC posee actividad afrodisíaca que potencia significativamente la expresión de la eyaculación y sus consecuencias fisiológicas, como la refractariedad masculina posterior a la estimulación.

Se acepta que la LM y LI son parámetros de motivación sexual. Un aumento en estos parámetros sugiere falta o pérdida de apetito/impulso sexual, esta evidenciado en la Figura 22 y 23, con el EECC a dosis de 100 mg/kg, 200 mg/kg y 400 mg/kg. El tratamiento de ratas con extracto de EECC en combinación con selenio se asoció con una disminución de la LM y LI, lo que significa una mejor estimulación sexual y motivación en las ratas. Caso contrario se destaca en las dosis de 200 mg/kg y 400 mg/kg de *Allium tuberosum* disminuyeron estos parámetros en el estudio de Tang et al. (2017), lo que significa una mejor estimulación sexual y motivación en las rata. Coinciden con el estudio de Allouh, Daradka y Ghaida (2015) en *Cyperus esculentus* a dosis de 1 y 2 g/kg estimuló la motivación sexual en ratas altamente y moderadamente activas, indicadas por la reducción de la LM y LI en ratas en comparación con los controles.

En la Figura 24, la administración continuada del extracto en todas las dosis durante 14 días de la LE se incrementó de una manera relacionada con la dosis 200 mg/kg EECC + 1 ug/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 ug/kg Se. El aumento significativo ($p < 0.05$) en la LE de las ratas con deficiencia sexual es una indicación de dificultad con la eyaculación. En constraste, los EECC sin combinación disminuyeron la LE, podría implicar una fuerte indicación de que la función sexual de las ratas macho mejoró (duración prolongada del coito), lo que sugiere una actividad afrodisíaca. Estos hallazgos, son similares al informe de Kanyanga et al. (2016), con el extracto acuoso en las raíces de *Perianthus longifolia* a 200 mg/kg, permitiendo al órgano copulador masculino este en contacto con el orificio vaginal que podría haber activado o fortalecido la lordosis

en ratas hembras. Asi mismo destaca el extracto de maíz morado disminuyó la LE, lo que sugiere una influencia facilitadora de este extracto en la ejecución sexual (Carro-Juárez et al., 2017).

En la Figura 25, el reflejo de erección del pene es importante para evaluar el efecto de la administración de fármacos sobre la función eréctil. El EECC y EECC + Se, causa un aumento marcado en los parámetros probados de los reflejos del pene (E, GR y GL) en todos los grupos de ratas tratadas en comparación con el grupo de control. La prueba de potencia mostró que los RTP y sus componentes se han mejorado de manera significativa por dosis más altas de 200 mg/kg EECC + 1 ug/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 ug/kg Se. Esto indica que el EECC más Se aumenta la potencia sexual en ratas. Estos resultados concuerdan con el trabajo de Usnale y Biyani (2018), con el extracto etanólico de *Flueggea leucopyrus* con dosis de 200 y 400 mg/kg aumento todos los parámetros en la prueba de potencia aumentó significativamente en comparación con el grupo de control, pero menor en ratas tratadas con el fármaco. El experimento reveló que la muestra produce un aumento notable en la potencia sexual.

Las dietas altas en grasa y en colesterol aumentan el riesgo de disfunción sexual (Motwani, 2017). En este estudio con animales, establece un modelo de incremento de peso inducida por DAG que logró aumentar el peso corporal de las ratas y los niveles de Co, TGC, VLDL, LDL y disminuir el nivel de HDL. El EECC a 400 mg/kg disminuyó el colesterol (Tablas 8-13) en el suero en relación con el control. Nwafor y Oniyide (2017), con el extracto de metanol de *Smilax kraussiana* causó una disminución significativa en el nivel de colesterol sérico, demostrando su actividad afrodisiaca. El colesterol es un precursor en la síntesis de los esteroides, un aumento en las concentraciones de colesterol testicular y/o en suero condujo a un aumento correspondiente en la actividad afrodisíaca de una planta medicinal (Erhabor & Idu, 2017). Del

mismo modo, Defo et al. (2017), en el estudio del extracto metanólico de *Guibourtia tessmannii* (55, 110 y 220 mg/kg) combinado con vitamina E, en los parámetros de lípidos fueron menores en ratas obesas tratadas con el extracto de planta durante 56 días. También aumentó significativamente el HDL y los niveles de testosterona en el plasma después del tratamiento. Esta disminución en el nivel de colesterol, aumento la producción de testosterona y complementó a autenticar el resultado obtenido de la conducta sexual que indica que el extracto causó aumento en la libido.

Ghaheri et al. (2018), después de 4 semanas de tratamiento con extracto de Stevia en ratas diabéticas causó disminución en los niveles de glucosa en sangre a dosis de 5, 50 y 100 mg/kg durante 28 días, mejoró la disfunción del comportamiento sexual y aumento los niveles de testosterona. Estos resultados son coincidentes en las cifras menores de glucosa (Tabla 14), del EECC y EECC + Se, la disminución de glucosa es continuo y similar, destacándose la dosis de 100 mg/kg. Quizás la presencia de sus fitoconstituyentes con actividad antioxidantes pueden reducir la degradación endotelial e inhibir las sustancias reactivas de oxígeno, facilitarían el tratamiento de la disfunción eréctil en pacientes diabéticos. De manera similar, Eser et al. (2019), administraron el extracto de raíz de *Ferula elaeochytri* (40 mg/kg) a ratas diabéticas con disfunción eréctil inducida, reduciendo los niveles de glucosa (230.6 ± 25.60 mg/dL) en comparación con el grupo de diabetes mellitus.

El aumento de los niveles séricos de testosterona inducido por la administración asociado de 200 mg/kg y 400 mg/kg del EECC + Se, puede ser responsable del comportamiento sexual mejorado en el presente estudio (Tabla 15). La administración del EECC combinado puede suponerse que algún fitoconstituyente presente en el extracto posiblemente imita la función de la hormona luteinizante (HL) una gonadotropina, que se une a los receptores

en las células de Leydig, estimula la síntesis y la secreción de testosterona. En esta línea de estudio, Azubuike et al. (2018), investigaron los efectos de los extractos acuosos (EA) y metanólicos (EM) de las partes aéreas de *Phyllanthus amarus*, los niveles séricos de testosteronas mostró un aumento significativo ($p < 0.05$) en los grupos tratados con 200 mg/kg de AE y 400 mg/kg de EM en comparación con los controles, un posible mecanismo para este efecto observado podría ser que el componente bioactivo haya actuado a través de los órganos sexuales es decir, estimulando el eje hipotálamo-hipófisis y originando la secreción de testosterona.

En los estudios realizados por Sahin et al. (2016), indican que disminuir los niveles excesivos de radicales libres al ser inhibidos por el aumento de la testosterona sérica, fueron demostrados significativamente en los grupos de *Tribulus terrestris* y *Withania somnífera* en comparación con el grupo control. Más aún, *Tribulus terrestris* logro reducir los niveles de NF-κB, aumentar los niveles de Nrf2 (factor de transcripción que promueve la expresión de muchos genes antioxidantes), así mismo aumenta la enzima óxido nítrico sintasa en las ratas castradas, por lo tanto, mejoran la DE. Wattanathorn et al. (2018), con el extracto de *Anacardium occidentale* en todas las dosis mejoraron los comportamientos sexuales masculinos, suprimiendo la enzima monoamino oxidasa-B (MAO-B), PDE-5 en el pene, y aumentaron las células intersticiales de Leydig. Son similares a la investigación de Prabsattroo et al. (2015), ha demostrado que el extracto de *Moringa oleifera* suprime la MAO-B, pueda aumentar la dopamina disponible, que a su vez aumenta la liberación de oxitocina e induce la liberación de óxido nítrico del nervio carvernoso, provocando la elevación de cGMP lo que aumenta el flujo sanguíneo y la erección en el pene a consecuencia de la elevación de la testosterona. Sanna, Contini, Melis y Argiolas (2015), revelan que la dopamina influye en el comportamiento sexual, al actuar sobre los receptores de dopamina-2. Por lo tanto, el EECC puede ser útil como el

ingrediente funcional para el desarrollo de complementos alimenticios dirigidos a mejorar la disfunción sexual masculina.

La dosis letal media correspondiente a 4033 mg/kg y la concentración mínima requerida para producir efectos nocivos es de 0.2% (Tabla 16 y 17 y Figura 26). La sustancia se administró a un grupo de ratones a dosis de 500, 1000 y 2000, 3000 y 4000 mg/kg para este estudio. El estudio de toxicidad oral aguda del EECC es seguro en la dosis límite de 4000 mg/kg sin mortalidad significativa en ratones. A partir de 1/10 de estas dosis es decir, 400 mg/kg y la mitad de dosis es 200 mg/kg, luego el 50% menos es 100 mg/kg, se utilizaron en el estudio experimental. Este estudio concuerda con Chakraborty, Chandewar y Charde (2017), con una décima parte de la dosis letal se consideró como dosis terapéutica para un estudio farmacológico de las raíces de *Abutilon indicum.* En otro análisis de Gill et al. (2018), a partir de la dosis letal en estudios de toxicidad oral aguda en la que murieron el 50% de los ratones (DL_{50}) fue de 6.526 g/kg de peso corporal de extracto metanólico de corteza de *Saraca asoca* en ratones albinos suizos donde 100 mg/kg fue seleccionada por ser eficaz y seguro. Se ha determinado que la dosis letal media (DL_{50}) fue 243.86 mg/kg en los extractos de *Smilax kraussiana* produciendo disminución de la frecuencia respiratoria y muerte (Nwafor & Oniyide, 2017).

Al termino de la prueba se obtuvò tres decesos (2000 a 4000 mg/kg), el resto de los animales no mostraron efectos toxicológicos agudos adversos significativos que puedan atribuirse a la administración aguda del EECC. Además, no se observaron cambios adversos en el comportamiento, lo que indica que los signos clínicos físicos no fueron notables. Estos hallazgos convergen con la investigación de Atsukwei, Odeh y Toryila (2015), en la determinación de la DL_{50} del extracto etanólico de la semilla de la *Garcinia kola* fue encontrada por ser segura hasta 5000 mg/kg del extracto etanólico de semilla de *Garcinia kola* administrada a

los animales no mostraron signos de toxicidad. Tampoco se notaron cambios en el comportamiento sexual en los grupos de ratas de control y en los tratados hasta la dosis de 4000 mg/kg (Usnale & Biyani, 2018) y 5000 mg/kg (Besong et al., 2018). Entretanto, Worasuttayangkurn et al. (2019), afirman que el extracto etanólico de *Andrographis paniculata a* dosis superior de 5000 mg/kg de peso no tiene efectos toxicológicos agudos significativos. Por lo tanto, se puede inferir que la DL_{50} del EECC y con menor grado de toxicidad, es superior a 4000 mg/kg.

CONCLUSIONES

- En general, los tratamientos orales prolongados del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* 100 mg/kg y 400 mg/kg, mejoraron significativamente sobre las frecuencias de montaje, intromisión y eyaculación. Entretanto, el extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* 200 mg/kg redujeron significativamente las latencias de montaje, intromisión y eyaculación en la disfunción sexual inducida por dieta alta en grasa en ratas macho.

- Este estudio demostró que *Corynaea crassa* a dosis de 200 mg/kg + selenio 1 µg/kg y 400 mg/kg + selenio 1 µg/kg, atenuó la disfunción sexual masculina deteriorada en ratas con sobrepeso al mejorar diferentes parámetros del comportamiento sexual (se redujeron significativamente la latencia de la montura y la latencia de la intromisión y aumentó significativamente la frecuencia de la montura así como la frecuencia de la intromisión). Además, se observó un importante incremento en la prueba de reflejo peneano, como lo demuestra la marcada elevación en las erecciones, movimientos rápidos, movimientos prolongados y reflejo total.

- La presencia de selenio con el extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* ejercen efectos erectógenos en los indicadores frecuencia de montaje, intromisión y latencias. Asimismo en la latencia de montaje, intromisión y latencia, fueron estadísticamente significativo en comparación con el grupo control ($p<0.01$).

- El estudio fitoquímico preliminar de la raíz de *Coryneae crassa* brinda información valiosa sobre los fitoconstituyentes que están presentes en la planta. Las diversas pruebas químicas cualitativas mostraron la presencia de alcaloides, compuestos fenólicos, esteroides/terpenoides, flavonoides, lactonas, saponinas y taninos.

- El estudio de toxicidad aguda del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* al ser administrado por vía oral en ratones, ha demostrado la dosis letal media (DL_{50}) correspondiente a 4033 mg/kg, el cual supera los 2000 mg/kg, según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos para el Análisis de Sustancias Químicas (OCDE 425), para la toxicidad aguda oral, se considera no tóxico. Por otro lado, la concentración mínima requerida para producir efectos nocivos es de 0.2% p/p (porcentaje peso a peso).

RECOMENDACIONES

- Se necesitan más estudios para identificar los constituyentes activos del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* responsables de las actividades de mejora de la función sexual y los mecanismos en los que estas actividades podrían participar podrían mejorar la producción de medicamentos para el pronóstico o el tratamiento de la disfunción eréctil.

- Los resultados presentados en la investigación pueden proporcionar evidencia de la utilización razonable y promover investigación para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos y productos para la salud.

- El efecto de selenio en el desempeño sexual y reproductivo masculino, particularmente en la libido, requiere una investigación adicional. Este estudio sugiere que se deben realizar más investigaciones para determinar las propiedades farmacológicas, así como evaluar diversas dosis en las prácticas clínicas en la mejora de la disfunción sexual.

- Se requieren estudios adicionales para dilucidar el mecanismo de acción del extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa y* otros suplementos nutricionales sobre la salud sexual y reproductiva.

- Es esencial aislar las fracciones bioactivas de estos grupos principales en las raíces de *Corynaea crassa*, así como su evaluación de seguridad, son considerables como áreas de estudio futuras para que logre usarse en el diseño de fármacos específicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrahamian, H., & Kautzky-Willer, A. (2016). Sexuality in overweight and obesity. *Wien Med Wochenschr*, *166*(3-4),121-8. doi: 10.1007/s10354-016-0430-9.

Adebayo, A., Oboh, G., & Ademosun, A. (2019). Almond-supplemented diet improves sexual functions beyond Phosphodiesterase-5 inhibition in diabetic male rats. *Heliyon, 5*(12),1-9. e03035. doi: 10.1016/j.heliyon.2019.e03035.

Adefegha, S. A., Oboh, G., Okeke, B. M., & Oyeleye, S. I. (2017). Comparative Effects of Alkaloid Extracts from *Aframomum melegueta* (Alligator Pepper) and Aframomum danielli (Bastered Melegueta) on Enzymes Relevant to Erectile Dysfunction. *Journal of Dietary Supplements, 14*(5), 542–552. doi:10.1080/19390211.2016.1272661.

Ademosun, A.O., Adebayo, A.A., & Oboh, G. (2019). *Anogeissus leiocarpus* attenuates paroxetine-induced erectile dysfunction in male rats via enhanced sexual behavior, nitric oxide level and antioxidant status. *Biomed Pharmacother,* 111, 1029-1035. doi:10.1016/j.biopha.2019.01.022.

Adhikari,P., Talukdar, S., & Borah, A. (2018). Ethnomedicobotanical study of indigenous knowledge on medicinal plants used for the treatment of reproductive problems in Nalbari district, Assam, India. *Journal of Ethnopharmacology*, *210,* 386–407. doi:10.1016/j.jep.2017.07.024.

Ahsan, U., Kamran, Z., Raza, I., Ahmad, S., Babar, W., Riaz, MH.,… Iqbalb, Z. (2014). Role of selenium in male reproduction - a review. *Anim Reprod Sci, 146*(1-2),55-62. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.01.009.

Alidu, H., Amidu, N., Gyasi-Sarpong, C. K., Dapare, P. M., Bawah, A. T., Obirikorang, C.,…Luuse, A. T. (2018). Hypertension and obesity comorbidities increases coronary risk, affects domains of sexual function and sexual quality of life. *International Journal of Impotence Research*, *30*(1), 8–13. doi:10.1038/s41443-017-0003-5.REPIT.

Allouh, M., Daradka, H., & Ghaida, J. (2015). Influence of *Cyperus esculentus* tubers (Tiger Nut) on male rat copulatory behavior. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *15(*33), 1-7. doi: 10.1186/s12906-015-0851-9.

Altemimi, A., Lakhssassi,N., Baharlouei, A., Watson, D., & Lightfoot, D. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, *6*(4), 1-23. doi: 10.3390/plants6040042.

Arcaniolo, D., Favilla, V., Tiscione, D., Pisano, F., Bozzini, G., Creta, M.,…Gentile, G. (2014). Is the reaplace for nutritional supplements in the treatment of idiopathic male infertility?. *Arch Ital Urol Androl*, *86*(3), 164-70. doi: 10.4081/aiua.2014.3.164.

Atsukwei, D., Odeh, S., & Toryila, J. (2015). Effect of Ethanolic Extract of *Garcinia Kola* Seed on Some Reproductive Parameters of Male Wister Rats. *IOSR Journal Of Pharmacy, 5*(3), 4-10. Recuperado de https://org/66ef791ef131e90c80941579df8dcbd0e857.pdf.

Azubuike, N., Okwuosa, C., Onwukwe, O., Onyemelukwe, A., Ikele, I., & Achukwu, P. (2018). Effects of *Phyllanthus amarus* on epididymal sperm characteristics, testosterone levels and histology of reproductive organs of male rats. *Pharmacology Online, 3,* 57-67. Recuperado de https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2018/.pdf

Bano, I., Sajjad, H., Talpur, M., Leghari, A., & Mirbahar, K. (2016). Role of selenium on oxidative stress and male reproductive system. *Pak. J. Biochem. Mol. Biol*, *49*(4), 75-79. Recuperado de https://pdfs. /d51f38b7dc7661734e5c06dc165cebe082f2.pdf

Besong, E., Ateufack, G., Babiaka, S., & Kamanyi, A. (2018). Leaf-Methanolic Extract of *Pseudopanax arboreus* (Araliaceae) (L. F. Phillipson) Reverses Amitriptyline-Induced Sexual Dysfunction in Male Rats. *Biochem Res Int*, 2018. doi: 10.1155/2018/2869727.

Bussmann, R., & Glenn, A. (2010). Medicinal plants used in Northern Peru for reproductive problems and female health. *J Ethnobiol Ethnomed*, *6,* 30. doi.org/10.1186/1746-4269-6-30.

Carro-Juárez, M., Rodríguez-Santiago, M., Franco, M., & Hueletl, M. (2017). Aphrodisiac Activity of the Aqueous Crude Extract of Purple Corn (*Zea mays*) in Male Rats. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, *22*(4), 637-645. doi: 10.1177/2156587217708521.

Cathala, X., & Moorley, C. (2018). How to appraise quantitative research. *Evidence Based N,* 102996,1-3. doi:10.1136/eb-2018-102996.

Chakraborty, A., Chandewar, A., & Charde, M. (2017). Phytochemical Screening & in vivo Fertility Enhancing Activity (Aphrodisiac) of *Abutilon indicum* Roots on Male Wistar Rats. *Asian Journal of Chemical Sciences, 2*(2), 1-9. Recuperado de http://www.journalajocs.com/index.php/AJOCS/article/view/6167/10943

Chen, L., Shi, G., Huang, D., Li, Y., Ma, C., Shi, M.,… Shig., G. (2019). Male sexual dysfunction: A review of literature on its pathological mechanisms, potential risk factors, and herbal drug intervention. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 112*, 108585. doi.org/10.1016/j.biopha.2019.01.046.

Chew, P., Choy, C., Sidi, H., Abdullah, N., Roos,N., Sahimi, H., …Ravindran, A. (2020). The Association Between Female Sexual Dysfunction and Sexual Dysfunction in the Male Partner: A Systematic Review and MetaAnalysis. *J Sex Med, 8,* S1743-6095 (20),30932-2. doi:10.1016/j.jsxm.2020.10.001.

Corona, G., Isidori, A. M., Aversa, A., Burnett, A. L., & Maggi, M. (2016). Endocrinologic Control of Men's Sexual Desire and Arousal/Erection. *The Journal of Sexual Medicine*, *13*(3), 317–337. doi:10.1016/j.jsxm.2016.01.007.

Corona, G., Tirabassi, G., Santi, D., Maseroli, E., Gacci, M., Dicuio, M., …Maggi, M. (2017). Sexual dysfunction in subjects treated with inhibitors of 5α-reductase for benign prostatic hyperplasia: a comprehensive review and meta-analysis. *Andrology, 5*(4), 671-678. doi: 10.1111/andr.12353.

Daiber, A., Xia, N., Steven, S., Oelze, M., Hanf, A., Kröller-Schön, S.,… Li, H. (2019). New Therapeutic Implications of Endothelial Nitric Oxide Synthase (eNOS) Function/Dysfunction in Cardiovascular Disease. *Int J Mol Sci*, *20* (1), 187. doi: 10.3390/ijms20010187.

Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta,P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., & Sadeghi, M. R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reprod Biol Endocrinol*,16, 87. doi: 10.1186/s12958-018-0406-2.

Dare, A., Salami, S., Kunle-Alabi, O., Akindele, O., & Raji, Y. (2015). Comparative evaluation of the aphrodisiac effi cacy of sildenafi l and *Carpolobia lutea* root extract in male rabbits. *J Intercult Ethnopharmacology, 4*(4), 302–307. doi:10.5455/jice.20151101092942.

Dau, T., Le, M., Nguyen, T., Dang, T., Do, T., & Tran, Q. (2020). Effects of *Cnidium monnieri* (L.) Cuss. Fruit extract on sexual behaviors in male rats. *Clinical Phytoscience, 6:*80,1-6. doi:1186/s40816-020-00227-3.

De Lay, K., Haney, N., & Hellstrom W. (2016). Modifying Risk Factors in the Management of Erectile Dysfunction: A Review. *World J Mens Health, 34*(2), 89-100. doi: 10.5534/wjmh.2016.34.2.89.

De Souza, I. L., Barros, B. C., de Oliveira, G. A., Queiroga, F. R., Toscano, L. T., Silva, A. S.,…da Silva, B. A. (2017). Hypercaloric Diet Establishes Erectile Dysfunction in Rat: Mechanisms Underlying the Endothelial Damage. *Frontiers in Physiology*, *8*(760), 1-15. doi:10.3389/fphys.2017.00760.

Defo, P., Wankeu-Nya, M., Ngadjui, E., Fozin, G., Kemka, F., Kamanyi, A., …Watcho, P. (2017). The methanolic extract of *Guibourtia tessmannii* (Caesalpiniaceae) improves sexual parameters in high fat diet-induced obese sexually sluggish rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction, 6*(5), 202-211. doi: 10.4103/2305-0500.215930.

Di Vincenzo, A., Busetto, L., Vettor , R., & Rossato, M. (2018). Obesity, Male Reproductive Function and Bariatric Surgery. *Front Endocrinol (Lausanne), 9*, 769. doi: 10.3389/fendo.2018.00769.

Ding, Z., Shen, X., & Li, Y. (2017). Association of nNOS and Rho-kinase with age-associated erectile dysfunction in Sprague-Dawley rats. *Exp Ther Med, 13* (3), 1133–1136. doi: 10.3892/etm.2017.4064.

Donnelly, D. W., Kearney, T., McCaughan, E., Downing, A., Weller, D., Glaser, A. W.,…Gavin, A. (2018). Treatment for erectile dysfunction among older men in Northern Ireland. *International Journal of Clinical Practice*, e13259. doi:10.1111/ijcp.13259.

El Salam M. (2018). Obesity, An Enemy of Male Fertility: A Mini Review. *Oman Med J*, *33* (1), 3–6. doi: 10.5001/omj.2018.02.

Erhabor, J., & Idu, M. (2017). Aphrodisiac potentials of the ethanol extract of *Aloe barbadensis* Mill. root in male Wistar rats. *BMC Complement Altern Med*,*17,* 360. doi: 10.1186/s12906-017-1866-1.

Eser, N., Buyuknacar, H,S., Cimentepe, O,O., Gocmen, C., Ucar, Y., Erdogan, S.,… Yoshiyama, M. (2019). The effect of *Ferula elaeochytris* root extract on erectile dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rat. *Int J Impot Res.* doi: 10.1038/s41443-019-0137-8.

Esfahani, S., & Pal, S. (2018). Obesity, mental health, and sexual dysfunction: A critical review. *Health Psychology Open, 5*(2), 1-13. doi: 10.1177/2055102918786867.

Estrada, R., Ferreyra, O., Jiménez, G., Hernández, O., Martínez, L. (2016). Prosexual Effect of *Chrysactinia mexicana* A. Gray (Asteraceae), False Damiana, in a Model of Male Sexual Behavior. *Biomed Res Int. 2016,* 1-9. doi: 10.1155/2016/2987917.

Eswar. A., Isha. Z., Shanmugasundaram, S., Ramamoorthy, K., & Nanda, R. (2015). Evaluation of preliminary qualitative analysis of Clam *Paphia malabarica* extracts from Girgon chowpatty Creek, Mumbai. *J Pharm Chem Biol Sci, 3*(4), 461-468. Recuperado de https://www.jpcbs.info/2015_3_4_04_Eswar.pdf.

Ezzat, S., Okba, M., Ezzat, M., Aborehab, N., & Mohamed, S. (2019). Rho-Kinase II Inhibitory Potential of *Eurycoma longifolia* New Isolate for the Management of Erectile Dysfunction. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 4341592. doi: 10.1155/2019/4341592.

Fillo, J., Levcikova, M., Ondrusova, M., Breza, J., & Labas, P. (2017). Importance of Different Grades of Abdominal Obesity on Testosterone Level, Erectile Dysfunction, and Clinical Coincidence. *Am J Mens Health*, *11(*2), 240–245. doi: 10.1177/1557988316642213.

Fouche, G., Afolayan, A., Wintola, O., Khorombi, T., & Senabe, J. (2015). Effect of the aqueous extract of the aerial parts of *Monsonia angustifolia* E. Mey. Ex A. Rich., on the sexual behaviour of male Wistar rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*,15,343, 1-10. doi: 10.1186/s12906-015-0880-4.

Fullston, T., McPherson, N., Zander-Fox, D., & Carril, M. (2017). The most common vices of men can damage fertility and the health of the next generation. *J Endocrinol*, *2,*1-6. doi: 10.1530/JOE-16-0382.

Gajbhiye, S., Jadhav, K., Marathe, P., & Pawar, D. (2015). Animal models of erectile dysfunction. *Indian J Urol. 31*(1),15–21. doi:10.4103/0970-1591.128496.

Ghaheri, M., Miraghaee, S., Babaei, A., Mohammadi, B., Kahrizi, D., Haghighi, Z.,… Bahrami, G. (2018). Effect of *Stevia rebaudiana* Bertoni extract on sexual dysfunction in Streptozotocin induced diabetic male rats. *Cell Mol Biol, 64*(2), 6-10. doi: 10.14715/cmb/2018.64.2.2.

Gill, M., Rai, A., Kinra, M., Sumalatha, S., Rao, C. M., Cheruku, S. P., … Kumar, N. (2018). Chemically characterised extract of *Saraca asoca* improves the sexual function in male Wistar rats. *Andrologia*, *50*(7), e13037. doi:10.1111/and.13037.

Goldstein, I., Goren, A., Li, V., Tang, W., & Hassan, T. (2019). Epidemiology Update of Erectile Dysfunction in Eight Countries with High Burden. *Sex Med Rev,* 1-11. doi: 10.1016/j.sxmr.2019.06.008.

Gonzalez, M., Sato, H., Marazzi, B. (2019). Embryology in *Helosis cayennensis* (Balanophoraceae): Structure of Female Flowers, Fruit, Endosperm and Embryo. *Plants (Basel), 8*(3), 74. doi: 10.3390/plants8030074.

Goswami, S., Inamdar, M., Dethe, S., Gururaj, G., Jamwal, R., & Bhaskar, A, (2016). Erectogenic and Aphrodisiac Property of *Moringa oleifera*: Involvement of Soluble Epoxide Hydrolase Enzyme. *Phytother Res*, *30*(7),1119-27. doi: 10.1002/ptr.5614.

Heijkoop, R., Huijgens, P. T., & Snoeren, E. M. S. (2018). Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. *Behavioural Brain Research*, *352,* 70–80. doi:10.1016/j.bbr.2017.10.029.

Hosnedlova, B., Kepinska, M., Skalickova, S.,…Fernandez, C.(2017). A Summary of New Findings on the Biological Effects of Selenium in Selected Animal Species—A Critical Review. *Int J Mol Sci*, *18*(10), 1-47. doi: 10.3390/ijms18102209.

Ibrahim, H. A., Zhu, Y., Wu, C., Lu, C., Ezekwe, M. O.,…Liao, S. F. (2012). Selenium-enriched probiotics improves murine male fertility compromised by high fat diet. *Biol Trace Elem Res, 147*(1-3), 251-60. doi: 10.1007/s12011-011-9308-2.

Ikeda, H., Tatsuya Fukuda, T., Yokoyama, J. (2016). Endophytic Fungi Associated with a Holoparasitic Plant, *Balanophora japónica* (Balanophoraceae). *American Journal of Plant Sciences*, *7,* 152-158. doi.org/10.4236/ajps.2016.71016.

Je, S., Yoo, S., Choi, J., Do, J., Seo, D., Lee, S.,…Hyun, J. (2019). Metabolic Syndrome Is an Independent Risk Factor for Acquired Premature Ejaculation. *World J Mens Health*, *37*(2), 226–233. doi: 10.5534/wjmh.180062.

Jian Feng, C., Peng Ying, Z., Cheng Wei, X., Tao, J., Gui,B., & Shan, C.(2012). Effect of aqueous extract of *Arctium lappa* L. (burdock) roots on the sexual behavior of male rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *12*, 8. doi: 10.1186/1472-6882-12-8.

Jung, M., Oh, K., Choi, E., Kim, Y., Bae, D., Oh, D.R.,…Choi,C. (2017). Effect of Aqueous Extract of *Dendropanax morbifera* Leaf on Sexual Behavior in Male Rats. *Journal of Food and Nutrition Research*, *5*(7), 518-521. doi:10.12691/jfnr-5-7-10.

Kale, O. E., Awodele, O., & Akindele, A. J. (2018). *Acridocarpus smeathmannii* (DC.) Guill. & Perr. Root Enhanced Reproductive Behaviour and Sexual Function in Male Wistar Rats: Biochemical and Pharmacological Mechanisms. *Journal of Ethnopharmacology*, *230,* 95-108. doi:10.1016/j.jep.2018.10.024.

Kanyanga, C., Wembonyama, L., Muganzaa, D., Munduku, C., Kabangu, O ., Apers, S., …Pieters., L. (2016). Effects of the lyophilized aqueous extract form the root bark of *Perianthus longifolia* miers (menispermaceae) on sexual behaviors of normal male wistar rats and its acute toxicity. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, *5*(4), 135-155. doi: 10.20959/wjpps20164-6278.

Kleisiaris, C., Sfakianakis, C., & Papathanasiou, I. (2014). Health care practices in ancient Greece: The Hippocratic ideal. *Journal of Medical Ethics and History of Medicine, 7,* 6. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4263393/pdf.

Köhler T, McVary K. (Ed.) (2016). *Contemporary Treatment of Erectile Dysfunction: A Clinical Guide*. Springfield: Humana Press.

Kotta, S., Ansari, S., & Ali, J. (2013). Exploring scientifically proven herbal aphrodisiacs. *Pharmacogn Rev, 7*(13), 1–10. doi: 10.4103/0973-7847.112832.

Kremer, P., Torres, D., Hashimoto, A., & Berry, M. (2019). Disruption of Selenium Handling During Puberty Causes Sex-Specific Neurological Impairments in Mice. *Antioxidants (Basel), 8*(4), 110. doi: 10.3390/antiox8040110.

Kucukdurmaz, F., Acar, G., & Resim, S. (2018). Deterioration of Chronotropic Responses and Heart Rate Recovery Indices in Men With Erectile Dysfunction. *Sex Med, 6,* 8-14. doi: 10.1016/j.esxm.2017.10.002.

La, J., Roberts, N. H., & Yafi, F. A. (2018). Diet and Men's Sexual Health. *Sexual Medicine Reviews*, 6(1), 54–68. doi:10.1016/j.sxmr.2017.07.004.

Laios, K., Tsoucalas, G., Kontaxaki, M., Karamanou, M., Sgantzos, M., & Androutsos, G. (2015). Mental health and sexual activity according to ancient Greek physicians. *Psychiatriki*, *26*(3),198-203. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26480224

Lasker, G., Maley, J., & Kadowitz, P. (2010). A Review of the Pathophysiology and Novel Treatments for Erectile Dysfunction. *Adv Pharmacol Sci. 2010*, 1-10. doi: 10.1155/2010/730861.

Lee, H. W., Lee, M. S., Kim, T.-H., Alraek, T., Zaslawski, C., Kim, J. W.,…Moon, D. G. (2017). Ginseng for erectile dysfunction. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. doi:10.1002/14651858.cd012654.

Lee., J, Tan, R., & Chung, E. (2017). Erectile dysfunction treatment and traditional medicine—can East and West medicine coexist?. *Transl Androl Urol, 6*(1), 91–100. doi: 10.21037/tau.2016.11.13.

Leitolis, A., Amoah, S., Biavatti, M., & Silva-Santos, E. (2016). Sesquiterpene lactones from *Hedyosmum brasiliense* induce *in vitro* relaxation of rat aorta and corpus cavernosum. *Revista Brasileira de Farmacognosia, 26,* 363–368. doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.005.

Majzoub, A., & Agarwal, A. (2017). Antioxidant therapy in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Indian J Urol, 33*(3), 207–214. doi: 10.4103/iju.IJU_15_17.

Malca, G., Henniga, L., Sieler, J., & Bussmann, R. (2015). Constituents of *Corynaea crassa* “Peruvian Viagra”. *Revista Brasileira de Farmacognosia, 25,* 92–97. doi.org/10.1016/j.bjp.2015.02.007.

Malviya, N., Malviya, S., Jain, S., & Vyas, S. (2016). A review of the potential of medicinal plants in the management and treatment of male sexual dysfunction. *Andrologia, 48*(8), 880–893. doi:10.1111/and.12677.

Martins, A. D., Majzoub, A., Agawal, A. (2018). Metabolic Syndrome and Male Fertility. *World J Mens Health*, *37*(2), 113–127. doi: 10.5534/wjmh.180055.

Minhas S & Mulhall J. (Ed.) (2017). *Male Sexual Dysfunction: A Clinical Guide*. Pondicherry, India: Wiley-Blackwell.

Mintziori, G., Mousiolis, A., Duntas, L. H., & Goulis, D. G. (2019). Evidence for a manifold role of selenium in infertility. *Hormones.*1-5 doi:10.1007/s42000-019-00140-6.

Mirone, M., Giannetta, E., Isidori, AM. (2013). Selenium and reproductive function. A systematic review. *J Endocrinol Invest, 36*(10 Suppl), 28-36. doi: 10.1016/j.anireprosci.2014.01.009.

Moon, KH., Park,SY., & Kim, YW. (2018). Obesity and Erectile Dysfunction: From Bench to Clinical Implication. *World J Mens Health*, 2018. doi: 10.5534/wjmh.180026.

Moser, A., & Korstjens, I. (2018). Series: Practical guidance to qualitative research. Part 3: Sampling, data collection and analysis. *European Journal of General Practice*, *24*(1), 9–18. doi:10.1080/13814788.2017.1375091.

Moslemi, M., & Tavanbakhsh, S. (2011). Selenium–vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate. *Int J Gen Med, 4,* 99–104. doi: 10.2147/IJGM.S16275.

Mostafa, T., & Taymour, M. (2020). Gene Polymorphisms Affecting Erectile Dysfunction. *Sexual Medicine Reviews,* 8(4),561-572. doi:10.1016/j.sxmr.2020.02.001

Motwani M. (2017). Diabetes, obesity linked to erectile dysfunction. *J Obes Metab Disord, 1*(1), 00001. Recuperado de http://ologyjournals.com/oajomd/oajomd_00001.pdf

Muneer, A., Kalsi, J., Nazareth, I., & Arya, M. (2014). Erectile dysfunction. *BMJ*, *348,* 1–9. doi:10.1136/bmj.g129.

Mushtaq, S., Khan,K., Abid, S.,Umer, A., & Raza,T. (2018). Frequency of Hypogonadism and Erectile Dysfunction in Type-II Diabetic Patients. *Cureus*, *10*(5), e2654. doi: 10.7759/cureus.2654.

Nchegang, B., Mezui, C., Longo, F., Nkwengoua, Z., Amang, A., & Tan, P. (2016). Effects of the Aqueous Extract of *Eremomastax speciosa* (Acanthaceae) on Sexual Behavior in Normal Male Rats. *Biomed Res Int, 2016,* 1-10. doi: 10.1155/2016/9706429.

Nwafor, P. A., & Oniyide, V. K. (2017). Aphrodisiac Effects of Methanol Extract of *Smilax Kraussiana* Root in Experimental Rats. *Afr. J. Biomed. Res, 20*, 65- 73. Recuperado de https://www.ajol.info/index.php/ajbr/article/view/155646/145275.

Oboh, G., Ademiluyi, A., Oyeleye, S., Olasehinde, T., & Boligon., A. (2017). Modulation of some markers of erectile dysfunction and malonaldehyde levels in isolated rat penile tissue with unripe and ripe plantain peels: identification of the constituents of the plants using HPLC. *Pharmaceutical Biology*, *55*(1), 1920-1926. doi: 10.1080/13880209.2017.1340966.

Ojo, A., Oyinloye, E., Ajiboye, O., Anifowose, O., Akawa, A., Olaiya, E., …Kappo, A.P. (2019). *Ocimum gratissimum* Linn. Leaves reduce the key enzymes activities relevant to erectile dysfunction in isolated penile and testicular tissues of rats. *BMC Complement Altern Med*, *19*(1), 71. doi: 10.1186/s12906-019-2481-0.

Olabiyi, A. A., Oboh, G., Ishola, A. O., Adeniyi, P. A., & Boligon, A. A. (2018). *Tetracarpidium conophorum* Müll. Arg modulates sexual behaviour and biochemical parameters relevant to sexual function in male rats. *Pathophysiology*,1-8 doi:10.1016/j.pathophys.2018.10.004.

Organization for Economic Co-operation and Development (OECD)-425. (2008). Acute oral toxicity: Up and down procedure; pp. 1–2. (Guideline for the Testing of Chemicals). Acute oral toxicity: Up and down procedure (Guideline for the Testing of Chemicals). Recuperado de https://bit.ly/3pONNOr.

Otero, J., Mora, M., & Costa, J. (2009). First Host Record For The Root Parasite *Corynaea crassa* (Balanophoraceae). *Acta biol. Colomb, 14*(3), 199 – 204. Recuperado de http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v14n3/v14n3a15.pdf.

Papagiannopoulos, D., Khare, N., & Nehra, A. (2015). Evaluation of young men with organic erectile dysfunction. *Asian Journal of Andrology, 17,* 11–16. doi: 10.4103/1008-682X.139253.

Pieczyńska J., & Grajeta, H. (2015). The role of selenium in human conception and pregnancy. *J Trace Elem Med Biol, 29*, 3-38. doi: 10.1016/j.jtemb.2014.07.003.

Prabsattroo, T., Wattanathorn, J., Iamsaard, S., Somsapt, P., Sritragool, O., Thukhummee, W.,…Muchimapura, S. (2015). *Moringa oleifera* extract enhances sexual performance in stressed rats. *J Zhejiang Univ Sci B, 16*(3), 179–190. doi: 10.1631/jzus.B1400197.

Preedapirom, W., Changwichit, K., Srisawang, P., Ingkaninan, K., & Taepavarapruk, P. (2018). Aphrodisiac Activity of *Eulophia macrobulbon* Extract on Erectile Dysfunction in Male Aged Rats. B*ioMed Research International*, *2018,* 1–8. doi:10.1155/2018/6217029.

Pruzan P. (2016). *Research Methodology: The Aims, Practices and Ethics of Science*. Switzerland: Springer International.

Qazi, I. H., Angel, C., Yang, H., Zoidis, E., Pan, B., Wu, Z., … Zhou, G. (2019). Role of Selenium and Selenoproteins in Male Reproductive Function: A Review of Past and Present Evidences. *Antioxidants, 8*(8), 268. doi:10.3390/antiox8080268.

.

Raad, G., Hazzouri, M., Bottini, S., Trabucchi, M., Azoury, J., & Grandjean, V.(2017). Paternal obesity: how bad is it for sperm quality and progeny health?. *Basic Clin Androl, 27*: 20. doi: 10.1186/s12610-017-0064-9.

Sadeghzadeh, M., Shirpoor, A., Khalaji, N., Naderi, R., Samadi, M., & Rasmi,Y. (2018). The Effect of Chronic Ethanol Consumption on Sexual Motivation and Behavior of Adult Male Wistar Rats in the Copulatory Phase. *Addict Health,* 10(3), 190–197.doi: 10.22122/ahj.v10i3.577.

Sahin, K., Orhan, C., Akdemir, F., Tuzcu, M., Gencoglu, H., Sahin,N.,…Ozercan, I. (2016). Comparative evaluation of the sexual functions and NF-κB and Nrf2 pathways of some aphrodisiac herbal extracts in male rats. *BMC Complement Altern Med, 16*(1), 318. doi: 10.1186/s12906-016-1303-x.

Saleema, U., Aminb, S., Ahmadb,B., Azeemb, H., Fareeha Anwarb, F., & Maryb, S. (2017). Acute oral toxicity evaluation of aqueous ethanolic extract of *Saccharum munja* Roxb. roots in albino mice as per OECD 425 TG. *Toxicology Reports, 4,* 580–585. doi: 10.1016/j.toxrep.2017.10.005.

Sanna, F., Contini, A., Melis, M., & Argiolas, A. (2015). Role of dopamine D4 receptors in copulatory behavior: studies with selective D4 agonists and antagonists in male rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior, 137,* 110–118. doi: 10.1016/j.pbb.2015.08.012.

Sansbury, B., & Bradford, G. (2014). Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2014 August, *0,* 383–399. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2014.05.016.

Santora, R., Kozar, R. (2010). Molecular mechanisms of pharmaconutrients. *Journal Surg Res, 161*(2), 288–294. doi: 10.1016/j.jss.2009.06.024.

Sarwer, D.B., Hanson, A.J., Voeller, J., & Steffen, K. (2018). Obesity and Sexual Functioning. *Curr Obes Rep, 7*(4), 301-307. doi: 10.1007/s13679-018-0319-6.

Skrypnik, D., Bogdański, P., & Musialik, K. (2014). Obesity--significant risk factor for erectile dysfunction in men. *Pol Merkur Lekarski*, *36* (212),137-41.Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24720114.

Sneddon, L.U., Halsey, L.G., & Bury, N. R. (2017). Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. *Journal of Experimental Biology*, *220,* 3007-3016. doi:10.1242/jeb.147058.

Sopko, N., Hannan, J., & Bivalacqua, T. (2014). Understanding and targeting the Rho kinase pathway in erectile dysfunction. *Nat Rev Urol, 11*(11), 622–628. doi: 10.1038/nrurol.2014. 278.

Taegtmeyer, A., & Krähenbühl, A. (2015). Sexuelle Klagen im Zusammenhang mit Medikamenten. Therapeutische Umschau, 72, 711-715. doi.org/10.1024/0040-5930/a000741.

Tanaka, S., Tanaka, S., & Kawakami, K. (2015). Methodological issues in observational studies and non-randomized controlled trials in oncology in the era of big data. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, *45*(4), 323–327. doi: 10.1093/jjco/hyu220.

Taneja, S., & Shah, O. (2017). Complications of Urologic Surgery E-Book: Prevention and Management. New York: Elsevier.

Tang, X., Olatunji, O., Zhou, Y., & Hou, X. (2017). *In vitro* and *in vivo* aphrodisiac properties of the seed extract from *Allium tuberosum* on corpus cavernosum smooth muscle relaxation and sexual behavior parameters in male Wistar rats. *BMC Complement Altern Med*, *17,* 510. doi: 10.1186/s12906-017-2008-5.

Tinco, JA. (2010). *Efecto modulador de la erección por el extracto metanólico de Jatropha macrantha Müll. Arg. "huanarpo macho"* [Tesis doctoral]. Recuperada de: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/pdf.

Usnale, S., & Biyani, K. (2018). Preclinical aphrodisiac investigation of ethanol extract of *Flueggea leucopyrus* Willd. Leaves. *The Journal of Phytopharmacology, 7*(3), 319-324. Recuperado de http://www.phytopharmajournal.com/Vol7_Issue3_15.pdf.

Van Ngo,T., Scarlett C., Bowyer,M., Ngo, P., & Van Vuong, Q. (2017). Impact of Different Extraction Solvents on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity from the Root of *Salacia chinensis* L. *Journal of Food Quality,* 2017,1-8. doi.org/10.1155/2017/9305047.

Vogt, H., Hofmann, B., & Getz, L. (2016). The new holism: P4 systems medicine and the medicalization of health and life itself. *Med Health Care Philos*, *19,* 307–323. doi: 10.1007/s11019-016-9683-8.

Vyas, N,Y., & Raval M.A. (2016). Aphrodisiac and spermatogenic potential of alkaloidal fraction of *Hygrophila spinosa* T. Ander in rats. *J Ethnopharmacology*, *24,*194, 947-953. doi: 10.1016/j.jep.2016.10.080.

Wang, R.S., Maron, B.A., Loscalzo, J. (2015). Systems medicine: evolution of systems biology from bench to bedside. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med, 7*(4),141-61. doi: 10.1002/wsbm.1297.

Wankeu-Nya, M., Watcho, P., Nguelefack, T., Carro-Juarez, M., Tapondjou, L., & Kamanyi, A. (2014). Effects of *Dracaena arborea* (Dracaenaceae) on sexual dysfunction in 4 weeks hyperglycemic male rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *7*(8), 609–619. doi:10.1016/s1995-7645(14)60103-6.

Wattanathorn, J., Prabsattroo, T., Somsapt, P., Sritragool, O., Thukham-mee, W., & Muchimapura, S. (2018). Sexual Enhancing Effect of *Anacardium occidentale* in Stress-Exposed Rats by Improving Dopaminergic and Testicular Functions. *Biomed Res Int, 2018,* 1-13.
doi: 10.1155/2018/6452965.

Wdowiak, A., Bakalczuk, G., Bakalczuk, S. (2015). Evaluation of effect of selected trace elements on dynamics of sperm dna fragmentation. *Postepy Hig Med Dosw*, *69,* 1405-1410.
Recuperado de http://www.phmd.pl/api/files/view/116471.pdf.

Wendlová, J. (2015). Scientific Medicine in Integrative Treatment of Erectile Dysfunction. *Journal of Integrave Nephrology and Andrology, 2*(1), 5-18. doi: 10.4103/2225-1243.149992.

Wiggins, A., Tsambarlis, P.N., Abdelsayed, G., & Levine, L. A. (2018). A Treatment Algorithm for Healthy Young Men with Erectile Dysfunction. *BJU International*, doi:10.1111/bju.14458.

Winit-Watjana, W. (2016). Research philosophy in pharmacy practice: necessity and relevance. *International Journal of Pharmacy Practice*, *24*(6), 428–436. doi:10.1111/ijpp.12281.

Worasuttayangkurn, L., Nakareangrit, W., Kwangjai, J., Sritangos, P., Pholphana, N., Watcharasit, P., Rangkadilok, N., Thiantanawat, A.,… Satayavivada, J. (2019). Acute oral toxicity evaluation of Andrographis paniculata-standardized first true leaf ethanolic extract. *Toxicol Rep, 6*, 426–430. doi: 10.1016/j.toxrep.2019.05.003.

Wright, S., O'Brien, B., Nimmon, L., Law, M., & Mylopoulos, M. (2016). Research Design Considerations. *J Grad Med Educ*, *8*(1), 97–98. doi: 10.4300/JGME-D-15-00566.1.

Xi, J. (2015). Ultrahigh pressure extraction of bioactive compounds from plants—A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(6), 1097–1106. doi:10.1080/10408398.2013.874327.

Xu, F., Huang, X., Wu, H., & Wang, X. (2018). Beneficial health effects of lupenone triterpene: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *103*, 198–203. doi:10.1016/j.biopha.2018.04.019.

Xu, J., Wu, Q., Zhang, Y., & Pei, C. (2019). Effect of Bariatric Surgery on Male Sexual Function: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Sex Med,*1-12. doi.org/10.1016/j.esxm.2019.06.003.

Yafi, F., Jenkins, L., Albersen, M., Corona, G., Isidori, A., & Goldfarb, S.(2016). Erectile dysfunction. *Nat Rev Dis Primers, 2,* 16003. doi: 10.1038/nrdp.2016.3.

Yakubu, M. T., & Atoyebi, A. R. (2018). *Brysocarpus coccineus* (Schum & Thonn) root reinstates sexual competence and testicular function in paroxetine-induced sexual dysfunction in male Wistar rats. *Andrologia*, *50*(4), e12980. doi:10.1111/and.12980.

Yakubu, M. T., & Jimoh, R. O. (2014). *Carpolobia lutea* roots restore sexual arousal and performance in paroxetine-induced sexually impaired male rats. *Revista Internacional de Andrología*, *12*(3), 90–99. doi:10.1016/j.androl.2014.02.002.

Yao, H.X., Ma, F.Z., Tan, Y.Y., & Liu, L.Y. (2018). Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of erectile dysfunction: An updated meta-analysis of genetic association studies. *International Journal of Surgery, 54,* 141–148. doi:10.1016/j.ijsu.2018.04.012.

Yoo, S., Kim, K., Nam, H., & Lee, D. (2018). Discovering Health Benefits of Phytochemicals with Integrated Analysis of the Molecular Network, Chemical Properties and Ethnopharmacological Evidence. *Nutrients, 10,* 1042. doi:10.3390/nu10081042.

Zhang, Q., Lin L., & Ye, W. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med*, *13*:20. doi: 10.1186/s13020-018-0177-x.

Zhang, Y., Zhou, F., & Ge, F. (2019). Effects of combined extracts of *Lepidium meyenii* and *Allium tuberosum* Rottl. On erectile dysfunction. *BMC Complement Altern Med*, *19,* 135. doi: 10.1186/s12906-019-2542-4.

Zhang, Y., Jia, L., Zhang, Y., Ji, W., & Li, H. (2019). Angiotensin II Silencing Alleviates Erectile Dysfunction Through Down-Regulating the Rhoa/Rho Kinase Signaling Pathway in Rats with Diabetes Mellitus. *Cell Physiol Biochem, 45* (1), 419-427. doi: 10.1159/000486919.

ANEXOS

Anexo 1. **Recolección de *Coryneae crassa*.**



Anexo 2. **Identificación taxonómica**

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

"Año de la Diversificación Productiva y del Fortalecimiento de la Educación"

CONSTANCIA Nº 10-USM-2015

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (raíz) recibida de **Fidel Ernesto ACARO CHUQUICAÑA**; ha sido estudiada y clasificada como: ***Corynaea crassa*** *Hooker f.* y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: SANTALALES

FAMILIA: BALANOPHORACEAE

GENERO: *Corynaea*

ESPECIE: *Corynaea crassa* *Hooker f.*

Nombre vulgar: "viagra macho"
Determinado por Blgo. Severo Baldeon Malpartida.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 12 de febrero de 2015

MUSEO DE HISTORIA NATURAL – Herbario San Marcos – USM – JEFE

Dra. HAYDEÉ MONTOYA TERREROS
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú
Telfs. (511)471-0117, 470-4471,
470-7918, 619-7000 anexo 5703
e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
http://museohn.unmsm.edu.pe

Anexo 3. **Evaluación de los parámetros del comportamiento sexual en el EECC**

TRATAMIENTOS	FRECUENCIAS				LATENCIAS			REFLEJO DEL PENE			
	Montaje	Intromisión	Eyaculación	Intervalo Post-Eyaculación	Montaje	Intromisión	Eyaculación	Erección peneana	Quick flips (Giros rápidos)	Long flips (Giros largos)	Reflejo peneanos totales (RPT)
100mg/Kg EECC + DAG											
Día 1	12.67 ±1.37	13.17 ±1.33	5.83 ±1.33	30.33 ±1.51^{a}	55.83 ±3.54	58.00 ±5.83^{a}	23.17 ±3.71^{a,b}				
Día 7	9.33 ±1.37	8.17 ±0.98^{d}	7.00 ±1.26	23.17 ±1.60^{c}	109.83 ±11.5^{b,c,d}	113.83 ±6.94^{c,d}	20.67 ±5.13^{d}	11.67 ±1.37^{a}	11.50 ±1.64^{a,b}	10.83 ±1.33	34.33 ±1.63^{a}
Día 14	8.83 ±4.62^{d}	15.00 ±1.10^{f}	9.5 ±0.55^{c,d}	23.50 ±3.15	24.33 ±3.56^{f}	18.5 ±1.97^{e,f}	99.67 ±7.76^{f}				
200mg/Kg EECC + DAG											
Día 1	6.33 ±1.03^{a}	5.33 ±0.82^{a,b}	8.33 ±0.52^{a}	27.00 ±1.90^{a}	102.17 ±7.76^{a}	122.67 ±8.04^{b}	21.33 ±3.01^{a,c}				
Día 7	4.50 ±1.05^{b}	6.00 ±1.67^{e}	9.50 ±0.55^{b}	22.83 ±3.43^{c}	103.83 ±10.96^{b,e}	120.00 ±5.97^{c}	21.00 ±2.53^{d}	12.83 ±1.17^{a}	12.17 ±1.17^{a,c}	13.17 ±1.17	36.67 ±2.16^{b}
Día 14	7.50 ±0.55^{d,e,f}	7.00 ±2.28^{g,h}	10.67 ±1.51^{c,e}	17.33 ±1.97^{e,f}	19.50 ±1.05^{f,g}	30.33 ±3.72^{e,g}	69.50 ±3.21				
400mg/Kg EECC + DAG											
Día 1	9.33 ±1.21	5.00 ±1.26^{a,c}	8.00 ±1.10^{a}	17.50 ±1.05^{b}	108.17 ±5.00^{a}	119.00 ±5.44^{b}	19.33 ±0.82^{b,c}				
Día 7	13.83 ±1.33^{c}	11.67 ±1.37	10.83 ±0.75^{b}	17.00 ±0.00^{d}	99.00 ±7.48^{c,e}	101.67 ±11.25^{d}	84.33 ±5.96^{e}	15.67 ±1.97	13.17 ±1.60^{b,c}	16.00 ±1.26	46.83 ±1.72
Día 14	4.50 ±1.05^{e,g}	4.67 ±0.82^{g}	10.67 ±1.51^{d,e}	13.33 ±2.73^{e,g}	100.67 ±7.69	101.50 ±10.07	23.17 ±2.93^{g}				
Dieta Alta en Grasa (DAG)											
Día 1	4.00 ±2.45^{a}	4.00 ±1.79^{b,c}	2.33 ±0.52	43.83 ±4.31	119.17 ±4.45	162.17 ±7.96	7.17 ±1.60				
Día 7	5.00 ±1.10^{b}	7.17 ±0.75^{d,e}	2.50 ±1.05	38.67 ±1.97	121.17 ±2.64^{d}	156.83 ±8.95	9.17 ±1.47	6.00 ±1.10	4.67 ±0.82	4.17 ±0.98	15.33 ±0.82
Día 14	5.00 ±0.89^{f,g}	9.17 ±1.17^{h}	1.50 ±0.84	43.50 ±4.18	112.50 ±8.73	60.50 ±15.67	27.00 ±4.38^{g}				
Sildenafilo + DAG											
Día 1	16.33 ±1.86	16.67 ±1.03	10.50 ±1.05	16.67 ±1.86^{b}	28.17 ±3.60	49.00 ±10.14^{a}	50.83 ±6.08				
Día 7	15.67 ±1.37^{c}	16.17 ±0.75	13.50 ±1.22	17.00 ±2.53^{d}	8.17 ±4.07	42.67 ±3.88	81.50 ±4.46^{e}	21.67 ±1.63	18.50 ±1.38	21.67 ±1.03	62.50 ±2.35
Día 14	20.00 ±1.26	17.67 ±2.42^{f}	16.00 ±1.79	13.17 ±4.22^{f,g}	12.17 ±2.04^{g}	20.67 ±2.80^{f,g}	107.83 ±10.21^{f}				

Prueba ANOVA de 1 Factor.
Letras iguales expresan ausencia de diferencias significativas en sentido vertical entre tratamientos por día.

Anexo 4. **Evaluación de los parámetros del comportamiento sexual en el EECC + selenio**

TRATAMIENTOS	FRECUENCIAS				LATENCIAS			REFLEJO DEL PENE			
	Montaje	Intromisión	Eyaculación	Intervalo Post-Eyaculación	Montaje	Intromisión	Eyaculación	Erección peneana	Quick flips (Giros rápidos)	Long flips (Giros largos)	Reflejo peneanos totales (RPT)
200mg/Kg EECC + Se 1ug/Kg											
Día 1	10.67 ±1.21	11.50 ±1.52^{a}	11.00 ±0.89^{a,b}	20.50 ±2.26^{a,b}	74.33 ±15.88^{a}	105 ±11.83^{a}	40.67 ±6.38^{a}				
Día 7	13.83 ±1.17	12.17 ±1.47	11.33 ±1.63^{d,e}	13.67 ±1.51^{d}	54.00 ±9.80^{b}	86.17 ±5.60^{b}	42.67 ±4.08	18.33 ±1.21^{a}	17.50 ±1.38^{a}	16.50 ±1.05	51.50 ±2.74
Día 14	14.17 ±1.83^{c}	14.50 ±0.55^{b}	12.17 ±0.75^{f}	11.83 ±1.83^{f,g}	43.83 ±9.39^{c}	78.33 ±2.88^{c}	79.67 ±2.07				
400mg/Kg EECC + Se 1ug/Kg											
Día 1	14.33 ±1.86^{a}	11.33 ±1.97^{a}	11.33 ±1.51^{a,c}	16.33 ±0.82^{a,c}	81.33 ±11.06^{a}	98.00 ±5.10^{a}	48.50 ±5.09^{a,b}				
Día 7	15.83 ±0.75^{b}	14.17 ±1.33	10.67 ±2.34^{d}	15.83 ±2.04^{d,e}	53.67 ±7.34^{b}	83.17 ±5.46^{b}	60.50 ±3.56	19.50 ±1.38^{a,b}	20.17 ±0.75^{b}	19.83 ±1.17	58.00 ±1.55
Día 14	12.67 ±1.03^{c}	14.50 ±2.59^{b}	11.83 ±1.47^{f}	15.67 ±4.41^{f,h}	53.50 ±9.54^{c}	77.00 ±12.74^{c,d}	30.50 ±3.56^{c}				
Dieta Alta en Grasa (DAG)											
Día 1	4.00 ±2.45	4.00 ±1.79	2.33 ±0.52	43.83 ±4.31	119.17 ±4.45	162.17 ±7.96	7.17 ±1.60				
Día 7	5.00 ±1.10	7.17 ±0.75	2.50 ±1.05	38.67 ±1.97	121.17 ±2.64	156.83 ±8.95	9.17 ±1.47	6.00 ±1.10	4.67 ±0.82	4.17 ±0.98	15.33 ±0.82
Día 14	5.00 ±0.89	9.17 ±1.17	1.50 ±0.84	43.50 ±4.18	112.50 ±8.73	60.50 ±15.67^{d}	27.00 ±4.38^{c}				
Sildenafilo + DAG											
Día 1	16.33 ±1.86^{a}	16.67 ±1.03	10.50 ±1.05^{b,c}	16.67 ±1.86^{b,c}	28.17 ±3.60	49.00 ±10.14	50.83 ±6.08^{b}				
Día 7	15.67 ±1.37^{b}	16.17 ±0.75	13.50 ±1.22^{e}	17.00 ±2.53^{e}	8.17 ±4.07	42.67 ±3.88	81.50 ±4.46	21.67 ±1.63^{b}	18.50 ±1.38^{a,b}	21.67 ±1.03	62.50 ±2.35
Día 14	20.00 ±1.26	17.67 ±2.42	16.00 ±1.79	13.17 ±4.22^{g,h}	12.17 ±2.04	20.67 ±2.80	107.83 ±10.21				

Prueba ANOVA de 1 Factor.
Letras iguales expresan ausencia de diferencias significativas en sentido vertical entre tratamientos por día.

Anexo 5. **Peso de las unidades de análisis**

Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.000
Final		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en las etapas basal y final dichos valores son inferiores al margen de error de 0.05 (5%), con lo cual se determina que al menos uno de los grupos difiere de los demás

Anexo 6. **Efecto del EECC sobre el nivel de colesterol**

Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.000
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en todos los casos inferior al margen de error de 0.05 (5%), se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en las etapa basal, día 1, día 7 y día 14.

Anexo 7. **Efecto del EECC sobre el nivel de TGC**
Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.144
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en la etapa basal dicho valor supera el margen de error de 0.05 (5%), con lo cual se determina que no existe diferencia significativa respecto a los valores en los diferentes grupos; en los demás casos dicho valor es inferior al margen de error de 0.05 (5%), por lo que se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en el día 1, día 7 y día 14.

Anexo 8. **Efecto del EECC sobre el nivel de LDL**
Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.015
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en todos los casos inferior al margen de error de 0.05 (5%), se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en las etapa basal, día 1, día 7 y día 14.

Anexo 9. **Efecto del EECC sobre el nivel de VLDL**
Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.972
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en la etapa basal dicho valor supera el margen de error de 0.05 (5%), con lo cual se determina que no existe diferencia significativa respecto a los valores en los diferentes grupos; en los demás casos dicho valor es inferior al margen de error de 0.05 (5%), por lo que se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en el día 1, día 7 y día 14.

Anexo 10. **Efecto del EECC sobre el nivel de HDL**
Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.041
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en todos los casos inferior al margen de error de 0.05 (5%), se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en las etapa basal, día 1, día 7 y día 14.

Anexo 11. **Efecto del EECC sobre el nivel de glucosa**

Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	0.000
1		0.001
7		0.000
14		0.005

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en la etapa basal dicho valor supera el margen de error de 0.05 (5%), con lo cual se determina que no existe diferencia significativa respecto a los valores en los diferentes grupos; en los demás casos dicho valor es inferior al margen de error de 0.05 (5%), por lo que se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en el día 1, día 7 y día 14.

Anexo 12. **Efecto del EECC sobre el nivel de testosterona**

Análisis ANOVA de un factor

Día	gl	p-valor
Basal	6	**0.238**
1		0.000
7		0.000
14		0.000

El grado de libertad (gl) corresponde al número total de grupos - 1; de acuerdo al p-valor, en la etapa basal dicho valor supera el margen de error de 0.05 (5%), con lo cual se determina que no existe diferencia significativa respecto a los valores en los diferentes grupos; en los demás casos dicho valor es inferior al margen de error de 0.05 (5%), por lo que se considera que al menos uno de los grupos difiere de los demás, tras el análisis en el día 1, día 7 y día 14.

Anexo 13. **Prueba de hipótesis**

Hipótesis principal:

El extracto etanólico de las raíces de *Corynaea crassa* más selenio tiene efecto erectógeno sobre la disfunción sexual inducida en ratas macho.

H1: Existe diferencia en los promedios según la erección del pene (Diferencia según el efecto erectógeno entre las sustancias relacionadas)

H0: No existe diferencia en los promedios según la erección del pene

(Similitud del efecto erectógeno entre las sustancias relacionadas).

HSD de Tukey[a]

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
Dieta alta en grasa (DAG)	6	6.33			
100 mg/kg EECC + DAG	6		11.83		
200 mg/kg EECC + DAG	6		13.00		
400 mg/kg EECC + DAG	6			16.83	
200 mg/kg EECC + Se 1 µg/kg	6			18.17	
Sildenafilo + DAG	6				20.33
400 mg/kg EECC + Se 1 µg/kg	6				20.67
Sig.		1.000	.562	**.404**	**.999**

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 6.000.

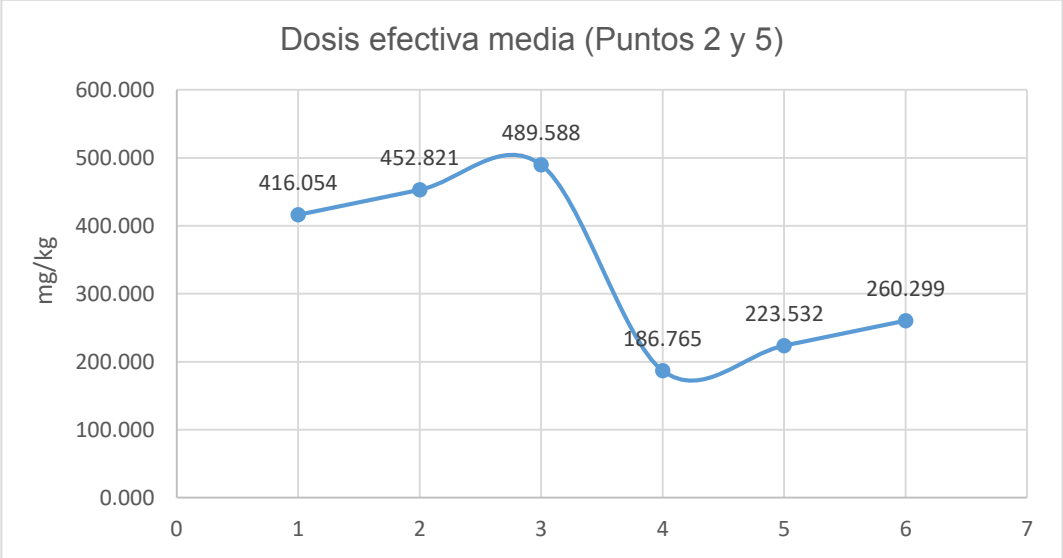
Interpretación

Debido a que en ambos casos se adicionó Se (200 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se y 400 mg/kg EECC + 1 µg/kg Se) el valor de la significancia es mayor a la probabilidad de 0.05 (5%), se acepta la hipótesis nula; es decir, las sustancias con Se no son diferentes, según el promedio de sus valores, en comparación a las otras sustancias en la misma columna. Además, dichas columnas (3 y 4), corresponden a los efectos mayores de acuerdo a la erección del pene.

Anexo 14. **Dosis efectiva media**

	Proporción de sujetos %	Concentración mg/kg
Sin selenio	25	416.05
	50	452.82
	75	489.59
Con selenio	25	186.77
	50	223.53
	75	260.29

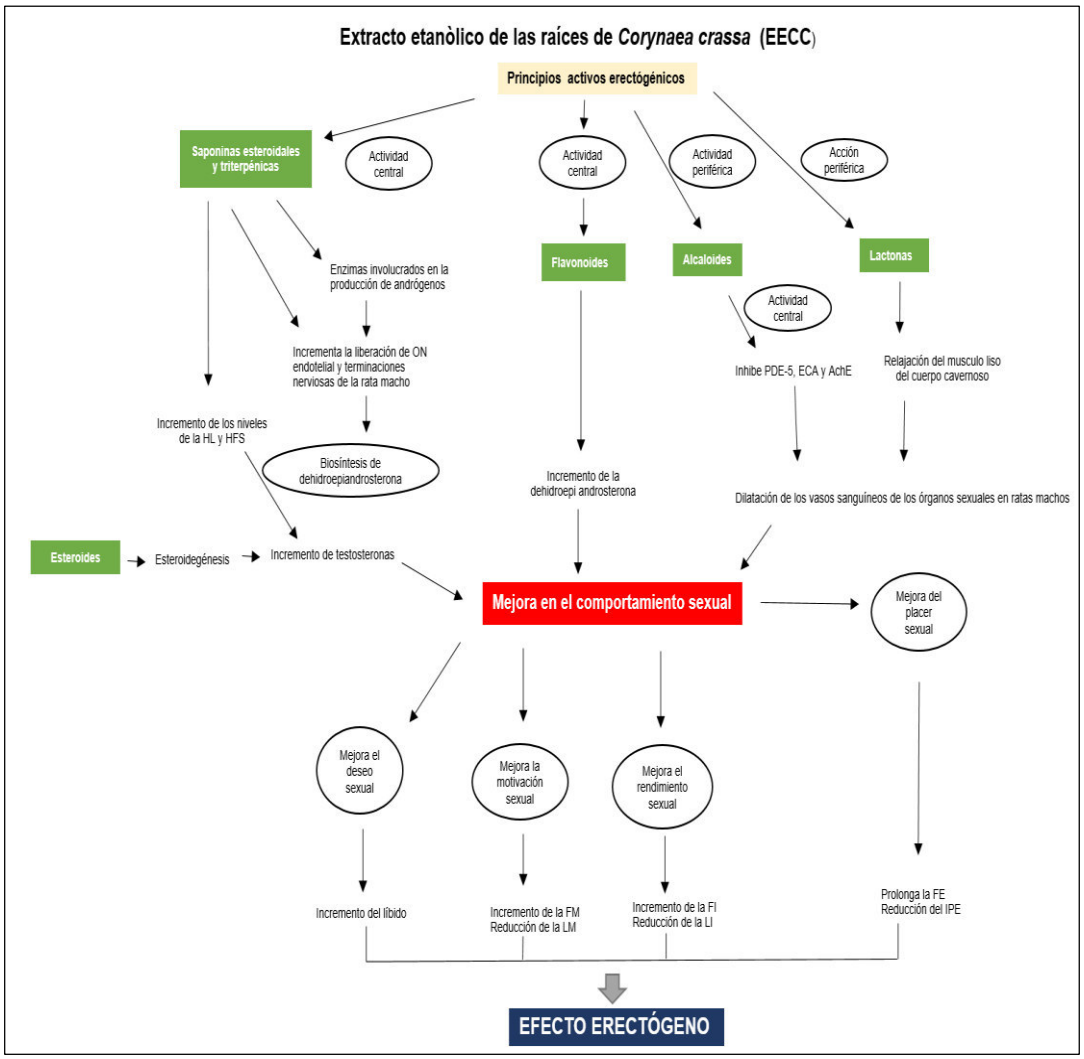
Se evidencia la dosis efectiva media correspondiente al 25%, 50% y 75% de individuos tratados con el extracto sin/con Se.



1: 25% ; **2:** 50%; **3:** 75% (sin selenio) **4:** 25% ; **5:** 50%; **6:** 75% (con selenio)

Los puntos 2 y 5 representan la dosis efectiva media (50% de la muestra) del EECC sin Se y con Se respectivamente. Evidenciando que el Se incrementa el efecto; por tal motivo, la dosis media efectiva se reduce a nivel del segundo segmento.

Anexo 15. **Posible mecanismo de acción erectogénica de los metabolitos de *Coryneae crassa***



HL: Hormona luteinizante. **HFS:** Hormona foliculo estimulante. **PDE-5:** Fosfodiesterasa-5 **ECA:** Enzima convertidora de angiotensina. **AchE:** Acetil colinesterasa. **FM:** Frecuencia de montaje. **LM:** Latencia de montaje. **FI:** Frecuencias de intromisión. **LI:** Latencia de intromisión. **FE:** Frecuencia de eyaculación. **IPE:** Intervalo post eyaculatorio.

Fuente: Elaboración del autor