
Evaluación de la toxicidad del extracto acuoso de las hojas de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) administrado por vía oral en ratas

EVALUATION OF THE SUBCHRONIC TOXICITY OF ORAL ADMINISTRATION OF AQUEOUS EXTRACT OF YACON LEAVES (*Smallanthus sonchifolium*) IN RATS

Olaciregui P-S, D¹; Yshikawa, D¹; Padilla F, J¹; Mondoñedo C, C¹; Román A, J¹; Moya C, R¹; Vilela F, J¹; Rivera B, J¹; Morales Z, R¹; Mejía T, D¹; Castañeda C, B²; Taxa L, R³; Manrique, I⁴; Ibáñez V, L³

RESUMEN

El *Smallanthus sonchifolius*, oriundo de los Andes y llamado vulgarmente yacón, es conocido por su uso como normoglicemiante e hipolipemiante así como por su utilidad como antioxidante. En la presente investigación evaluamos la toxicidad subcrónica del extracto acuoso de sus hojas, luego de su administración oral en ratas albinas Holtzman.

OBJETIVO

Evaluar la toxicidad del extracto acuoso de las hojas de yacón en ratas albinas sanas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se realizó un estudio experimental en 40 ratas Holtzman, distribuidas en dos grupos (hembras y machos), a las cuales se administró, por vía oral, durante 90 días, dosis de 100, 200 y 500 mg/Kg/día, del extracto acuoso de hojas de yacón. Se tomaron muestras de sangre del plexo orbital del ojo a los 0, 45 y 90 días para llevar a cabo análisis bioquímicos y hematológicos. Se realizaron, además exámenes histopatológicos de cerebro, hígado y riñones.

RESULTADOS

No se encontraron variaciones significativas en ninguno de los exámenes en comparación con las ratas controles ($p > 0.05$).

CONCLUSIÓN

El consumo del extracto de hojas de yacón, durante 90 días, no produjo signos de toxicidad en los órganos estudiados.

Palabras clave: Toxicidad subcrónica, yacón, *Smallanthus sonchifolius*, extracto acuoso, ratas.

ABSTRACT

The *Smallanthus sonchifolius*, vulgarly known as yacon, an Andes's species is well known for its use as by it's normoglycemic, hipolipemic and antioxidant effects. There are only few studies on this plant. At present we have investigations about it's chemical composition, harvest process, and medical use. In this paper we evaluated the toxicity of the aqueous extract of the organic leaves of *Smallanthus sonchifolius* on Holtzman albin rats subchronic oral administration of the extract during 90 days.

OBJECTIVE

To evaluate the subchronic toxicity of aqueous extract of the yacon leaves on healthy albina rats.

MATERIAL AND METHOD

An experimental study has been performed on 40 Holtzman rats. Male a female rats were grouped separately. They received oral daily doses of 100, 200 y 500 mg/Kg/ yacon's leaves aqueous extract. Blood samples were taken from the rat

1 Alumnos de la FMH - USMP.

2 Director del Instituto de Investigación.

3 Profesores investigadores del Instituto de Investigación.

4 Investigador del Centro Internacional de la Papa

orbital plexus of the rats at 0, 45 and 90 days of treatment for biochemical and haematologic analysis. Histological examination of brain, liver and kidneys was also done.

RESULTS

Non significant differences were found in the examinations of the three groups in comparison with control ($p > 0.05$).

CONCLUSION

The *Smallanthus sonchifolius* aqueous extract consumption during 90 days did not produce toxicity signs in the organs studied.

KEY WORDS

Subchronic toxicity, yacón, *Smallanthus sonchifolius*, aqueous extract, rats.

INTRODUCCIÓN

El Perú es un país que posee una amplia variedad de plantas que han sido utilizadas desde muy antiguo con fines medicinales, aunque en forma empírica y sin fundamento científico que garantice su eficacia y sustente las propiedades atribuidas. Este uso continúa en la actualidad.

En este artículo nos ocuparemos del *Smallanthus sonchifolius* (yacón), planta nativa de los Andes y cultivada desde Colombia hasta el noroeste de Argentina¹, entre otros países.

Según Valentova *et al.*: “El potencial del tubérculo del yacón para tratar hiperglicemia, problemas renales y rejuvenecimiento de la piel, así como para la actividad antihiperlipidémi-ca y citoprotectora de sus hojas parece estar relacionado, principalmente, a sus oligofruktanos y a su contenido fenólico, respectivamente”^{2,3,4}.

Si bien se ha evaluado en ratas⁵ la toxicidad subcrónica de raíces secas de yacón, como suplemento dietético, no se ha hecho lo mismo con el extracto de las hojas. Se ha demostrado que la infusión preparada a partir de ellas tiene un mayor efecto hipoglicémico que el tubérculo en ratas hiperglicémicas¹.

Mayta *et al.* han reportado que “el consumo agudo de la raíz fresca de yacón reduce la respuesta glicémica posprandial en sujetos sanos. Asimismo, se ha evaluado la disminución de radicales libres y la actividad citoprotectora en el tratamiento de enfermedades crónicas relacionadas con estrés oxidativo”⁶.

Estudios realizados por Alfaro y Ugarte⁷ en pacientes diabéticos tipo II concluyen que el yacón, en sus diferentes formas de presentación (fruto fresco, liofilizado y en filtrante), produce una disminución de la glucosa sérica sin llegar a los valores normales; evidenciándose una reducción significativa de la hemoglobina glicosilada A1c final, con respecto a la basal, en todos los grupos evaluados, siendo mayor en el grupo que consumió los filtrantes de las hojas de yacón (valor no relevante estadísticamente pero sí desde el punto de vista clínico). La infusión no presentó efectos adversos y fue bien tolerada por los pacientes durante 90 días⁷.

No existe información acerca de investigaciones en torno a la toxicidad subcrónica de las hojas de yacón. Por ello este estudio tuvo como objetivo evaluar cualquier signo de toxicidad que se pudiera presentar por efecto del consumo diario del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) por un período de 90 días.

MATERIAL Y MÉTODO

Preparación del extracto acuoso de yacón

Se obtuvieron hojas orgánicas secas procedentes del Instituto Rural Valle Grande (Cañete, Lima).

El extracto acuoso fue preparado diariamente, pesando 20 gramos de polvo de hojas de yacón, a los cuales se agregó 320 ml de agua destilada, y luego se procedió a su cocción durante 10 minutos, seguida de filtración y enfriamiento.

Animales de experimentación

Utilizamos 40 ratas albinas Holtzman, en buen estado de salud, proveídas por la Universidad Agraria de la Molina (Lima, Perú), con una edad promedio entre 8 y 12 semanas y un peso promedio entre 200 y 300 g, las que fueron agrupadas por sexo y por dosis de administración. Los animales se mantuvieron en jaulas metálicas con viruta esterilizada (temperatura aproximada de 22° C (+/- 3° C) y humedad promedio de 30 - 70%). Ver tabla 1.

Tabla 1: Agrupación de ratas según concentración del extracto en cocimiento acuoso de yacón

Grupo	Nº ratas	Concentración (mg/Kg)
H1	5 hembras	0
H2	5 hembras	200
H3	5 hembras	500
H4	5 hembras	100
M1	5 machos	100
M2	5 machos	500
M3	5 machos	200
M4	5 machos	0

Diseño experimental

Las ratas obtenidas fueron aclimatadas, por un período de 15 días, en el bioterio de la Facultad de Medicina de la USMP; posteriormente se les administró las diferentes dosis (mg/Kg/día) del extracto acuoso de hojas de yacón por vía oral, usando una cánula esofágica; además de alimentarlas con dieta estándar y agua *ad libitum* durante 90 días.

En el transcurso de la experimentación se examinó el estado físico de los animales para detectar algún signo de intoxicación: pelaje amarillento, pilo erección, signo de “cola de Strauss”, etc. Además se obtuvieron tres muestras de sangre en los días 0, 45 y 90 para los análisis bioquímicos y hematológicos. Finalmente, a los 90 días las ratas fueron sacrificadas con el propósito de obtener el cerebro, los riñones y el hígado para los respectivos estudios patológicos.

Metodología de la evaluación bioquímica

Se obtuvieron tres muestras de sangre arterial del plexo orbital de cada una de las ratas, por medio de capilares, en los días 0 (muestra basal), 45 (primer control) y 90 (segundo control). Luego se procedió al análisis bioquímico, utilizándose los métodos consignados en la tabla 2.

Tabla 2: Pruebas bioquímicas

Prueba	Método
Hematocrito	Microcentrifugación
Glucosa	Colorimétrico-enzimático
Urea	Colorimétrico-enzimático
Creatinina	Colorimétrico-enzimático
Proteína	Colorimétrico-enzimático
Albumina	Colorimétrico-enzimático
TGO	Cinético
TGP	Cinético
GGT	Cinético

Metodología de la evaluación histológica

El día 90 del estudio sacrificamos 26 ratas y extrajimos los órganos blanco: riñones, hígado y cerebro; los lavamos con agua destilada y fueron conservados en formol al 10%. Se realizaron los cortes histológicos y se procesaron con el método de inclusión en parafina.

En la lectura de las muestras histológicas se empleó el método ciego, describiendo las principales características histológicas y/o patológicas encontradas para cada muestra.

Análisis estadístico

Los datos bioquímicos fueron trabajados en Excel con la media, según dosis-sexo por cada resultado bioquímico, para determinar la significación de la variación de los resultados bioquímicos entre los días 45 y 90. Con el fin de establecer las

diferencias significativas entre los grupos, según dosis, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) mediante el programa SPSS 15.0.

RESULTADOS

Resultados bioquímicos

La variación de los niveles de globulinas (GLOB), relación albúmina / globulinas (R AL/GL), TGO, TGP, hematocrito (HT), glucosa (GLU), urea, creatinina (CREA), proteínas totales (PROT) y albúmina (ALB) en ratas tratadas con el extracto de cocimiento de las hojas de yacón, a los 45 y 90 días, no fue significativa a las diferentes dosis (100 mg/Kg, 200 mg/Kg 500 mg/Kg), en comparación con los controles. (Ver tablas 3A, 3B y 3C).

Tabla 3A: Valores bioquímicos

	HT	GLU	UREA	CREA
Control (n=6)	45.70±1.37	104.67±15.60	73.17±11.51	0.62±0.05
100 mg/Kg/día (n=6)	46.70±1.03	101.83±1.37	60±8.49	0.60±0.03
200 mg/Kg/día (n=7)	45.14±1.37	99.14±10.25	60±11.24	0.57±0.02
500 mg/Kg/día (n=7)	45.86±1.77	98.29±17.12	57±8.19	0.63±0.05

Tabla 3B: Valores bioquímicos

	PROT	ALB	GLOB	ALB/GLO
Control (n=6)	7.27±0.26	3.93±0.10	3.33±0.23	1.18±0.09
100 mg/Kg/día (n=6)	7.37±0.18	4.05±0.05	3.32±0.15	1.22±0.05
200 mg/Kg/día (n=7)	7.51±0.33	4.03±0.14	3.49±0.33	1.17±0.12
500 mg/Kg/día (n=7)	7.40±0.4	4.07±0.1	3.33±0.3	1.23±0.0
	8	9	0	6

Tabla 3C: Valores bioquímicos

	TGO	TGP	GGT
Control (n=6)	91.83±9.70	122.83 ±17.09	6.29 ±1.71
100 mg/Kg/día (n=6)	95 ±16.27	103.50 ±9.54	6.27 ±1.24
200 mg/Kg/día (n=7)	85 ±8.64	112.57 ±10.23	6.34 ±1.44
500 mg/Kg/día (n=7)	80.86 ±7.52	117.86 ±20.51	5.68 ±2.24

RESULTADOS HISTOLÓGICOS

Examen macroscópico y microscópico de los órganos examinados

El peso, talla y color de pelaje estuvieron acordes con el sexo y edad de las ratas, observándose cavidades sin anormalidad aparente. Las características del líquido peritoneal fueron normales. Al hacer una revisión general no se reconoció ningún órgano anormal que ameritara su extracción para posterior estudio microscópico, salvo los órganos diana (cerebro, hígado y riñón) que ya habían sido considerados.

En los grupos control no se encontraron cambios significativos en ninguno de los órganos analizados, comparados con el tiempo cero, lo que confirma que las ratas estaban en buen estado antes de iniciar el experimento. En los demás grupos a los que se administró yacón no se observó congestión vascular en tejidos, ni alteración significativa en el tejido renal. (Ver tablas 4 y 5).

Tabla 4: Resultados microscópicos de órganos diana en ratas hembra

Grupo Hembras	Dosis	Órgano		
		Riñón	Hígado	Cerebro
H1	Control	S.A.S	L.H.S	S.A.S
H2	200 mg/Kg	S.A.S	S.A.S	S.A.S
H3	500 mg/Kg	S.A.S	S.A.S	S.A.S
H4	100 mg/Kg	S.A.S	L.H.S	S.A.S

S.A.S: Sin Alteración Significativa
L.H.S: Leve Hemorragia Sinusoidal

Tabla 5: Resultados microscópicos de órganos diana en ratas macho

Grupo Machos	Dosis	Órgano		
		Riñón	Hígado	Cerebro
M1	Control	S.A.S	S.A.S	S.A.S
M2	200 mg/Kg	S.A.S	S.A.S	S.A.S
M3	500 mg/Kg	S.A.S	L.H.S	S.A.S
M4	100 mg/Kg	S.A.S	L.H.S	S.A.S

S.A.S: Sin Alteración Significativa
L.H.S: Leve Hemorragia Sinusoidal

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran ausencia de toxicidad subcrónica significativa en los órganos blanco, después de la administración del extracto acuoso del cocimiento de hojas de yacón durante 90 días; coincidiendo

con los obtenidos en un estudio anterior en el que se utilizó la raíz de la planta⁵, corroborados ambos por estudios tanto bioquímicos como histopatológicos. Este resultado puede deberse a que ambos elementos (hoja y raíz) son componentes de una misma planta y por lo tanto podrían compartir principios activos similares^{8,9}. En el estudio macroscópico durante la necropsia se hizo una evaluación general de todos los órganos y no se evidenció ninguna alteración.

En el estudio microscópico se observó, en algunas muestras de hígado, una leve hemorragia sinusoidal en los grupos tratados en relación al control, pero sin valor significativo desde el punto de vista estadístico, que podría deberse a un descenso del reflujo sanguíneo, secundario a la estasis venosa durante el sacrificio; considerando que estos cambios se producen fundamentalmente por la hipoxia que sufren las células durante la estasis prolongada. En un órgano parenquimatoso, como el hígado, se puede manifestar como hemorragias y congestión centrolobulillar, entre otros¹⁰.

La urea plasmática es la expresión del ingreso proteico durante la alimentación, aunque en concentraciones por encima de lo normal nos indicarían un compromiso renal, por inadecuada eliminación de las sustancias nitrogenadas, fruto del metabolismo proteico. En el presente estudio no apreciamos variaciones significativas con respecto al control.

Se observó un ligero aumento del hematocrito, inversamente a la concentración de extracto acuoso de hojas secas de yacón: se podría decir que el grupo de 100 mg/kg/día tuvo una respuesta nutricional mayor que los otros grupos, considerándose como un factor protector.

El indicador bioquímico GGT, al estar elevado, sugiere la existencia de un mal funcionamiento hepático; en el presente estudio, los niveles fueron menores que los basales y al no estar directamente relacionados con las concentraciones del extracto de las hojas secas de yacón se podría descartar la posibilidad de que produzca toxicidad hepática, ya que en las lecturas histopatológicas no se hallaron daños estructurales significativos.

CONCLUSIONES

Los parámetros bioquímicos: urea, creatinina, hematocrito, glucosa, albúmina, globulina, proteínas, relación albúmina/globulinas, TGO, GGT y TGP no sufrieron mayores variaciones, con respecto al grupo control, por efecto del extracto acuoso obtenido por cocimiento de las hojas secas de yacón a los 45 y 90 días.

El extracto no produjo toxicidad de acuerdo a las variables bioquímicas analizadas en relación a las dosis de 100, 250 y 500 mg/Kg.

No se hallaron cambios estructurales significativos en ninguna de las muestras histológicas estudiadas.

Al evaluar la toxicidad subcrónica del extracto de las hojas de yacón sobre cerebro, hígado y riñones no apreciamos alteraciones significativas; por lo que concluimos que dicho extracto es inocuo para las ratas.

RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio de toxicidad crónica para comprobar si en una exposición mayor de 90 días, utilizando el mismo extracto, concentración y dosis, se obtienen resultados similares al estudio realizado; enfatizando que no existen investigaciones sobre toxicidad crónica del extracto de las hojas de yacón.
- Realizar un estudio de toxicidad subcrónica, utilizando el mismo extracto, concentración y dosis, evaluando otros órganos como el intestino, ya que según Genta *et al.* se produce hiperplasia intestinal sin signos de tumefacción celular⁵ por el consumo subcrónico del tubérculo de yacón como suplemento dietético en ratas.
- Realizar una investigación minuciosa de la farmacocinética de los componentes del yacón y determinar cualidades como el coeficiente de solubilidad y tamaños moleculares, con el fin de saber si los componentes del yacón pasan la barrera hematoencefálica (BHE), ya que no se encontró, hasta el momento, bibliografía al respecto.
- El consumo prolongado de yacón por espacio de 90 días no produjo ningún efecto tóxico en los órganos diana mencionados, con lo que se podrían abrir las puertas al *Smallanthus sonchifolius* (yacón) como *novel food* en el mercado extranjero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Áybar M, Sánchez Riera A, Grau A, Sánchez S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacón) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2001: 125-132.
2. Valentova K, Ulrichova J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium myenii* – Prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed Papers* 2003 Dec; 147 (2): 119-130.
3. Valentova K, Moncion A, De Waziers I, Ulrichova J. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. *Cell Biology and Toxicology* 2004; 20: 109-220.
4. Valentova K, Cvak L, Muck A, Ulrichova J, Simanek V. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. *Eur J Nutr* 42: 61-66 (2003).
5. Genta S, Cabrera W, Grau A, Sánchez S. Subchronic 4-month oral toxicity study of dried *Smallanthus sonchifolius* (yacón) roots as a diet supplement in rats. *Food and Chemical Toxicology* 43 (2005): 1657-1665.
6. Mayta P, Payano J, Peláez J, Pérez M, Pichardo L, Pucán L. Reducción de la respuesta glicémica posprandial post-ingesta de raíz fresca de yacón en sujetos sanos. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos. CIMEL* 2004; 8 (1): 7-11.
7. Alfaro P, Ugarte R. Efecto normoglicemiante del tubérculo y la hoja de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en pacientes diabéticos tipo II. *Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres. Agosto-Diciembre 2002: 47-48.*
8. Yan X, Suzuki M, Ohnishi-Kameyama M, Sada Y, Nakanichi T, Nagata T. Extraction and identification of antioxidants in roots of yacón (*Smallanthus sonchifolius*). *J Agric Food Chem* 1999 Nov; 47 (11): 4711-4713.
9. Lachman J, Fernández E, Orsák M. Yacón [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. and Endl.), H. Robinson] chemical composition and use – a review. *Plant Soil Environ* 49, 2003 (6): 283-290.
10. Merino M. Atlas de anatomía patológica veterinaria, tomo I. La Habana: Ed. Pueblo y Educación, 1980.