

**Evaluación de la toxicidad subcrónica de la variedad colombiana de
Smallanthus sonchifolius (Yacón) en ratas hembra
Subchronic toxicity evaluation of colombian variety of
Smallanthus sonchifolius (Yacón) in female rats**

Rodríguez Espinosa, Jhon D.; Torres Wilches, Miguel A.*

Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. Carrera 30 No. 45-03 Bogotá – Colombia.

*matorresw@unal.edu.co

Recibido: 28 de mayo de 2017

Aceptado: 27 de diciembre de 2017

Resumen. *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) es una planta usada comúnmente por largos periodos de tiempo con el fin de ayudar en el control de la diabetes y otros desordenes metabólicos, por lo que con el propósito de evaluar la toxicidad subcrónica de la variedad colombiana de esta planta, fueron tratadas 30 ratas hembra de 8 semanas de edad divididas en 6 grupos. A cada uno de ellos se administró durante 28 días una de las siguientes dosis de infusión acuosa liofilizada (500, 250 y 125 mg/kg de peso), evaluando paralelamente grupos control (positivo y negativo) e incluyendo entre ellos grupos con y sin dieta hipercalórica.

Para el seguimiento del perfil metabólico de los animales, se tomaron muestras de sangre periódicamente durante el ensayo y se evaluaron los niveles séricos de: glucemia, triglicéridos, colesterol total y HDL. Además, también se realizó el control del peso, así como estudios comportamentales que incluyeron el Test de Irwin y el Test Hipocrático. Al final de estudio (28 días), se realizó el análisis anatomopatológico e histológico comparativo con el fin de detectar posibles daños tisulares. Como resultado pudo observarse que el liofilizado, si bien puede tener un efecto antihyperglucemiante, no modificó significativamente el perfil lipídico. Además, a pesar de que la administración se hizo durante 28 días, no se observaron cambios comportamentales que evidencien toxicidad, pero sí pudieron observarse cambios histológicos en el tejido cardiaco como hialinización, separación y redondeo de fibras.

Palabras clave: *Smallanthus sonchifolius*; Toxicidad subcrónica; Diabetes; Síndrome metabólico.

Abstract. *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) is a plant commonly used over long periods of time to help control diabetes and other metabolic disorders. To assess the sub-chronic toxicity of the Colombia variety of this plant, it was tested on 30 eight-week-old female rats, divided into six groups. For 28 days each group was administered with the following doses: three groups with lyophilized aqueous infusion (500 mg, 250 mg and 125 mg per kg of weight), two control groups (positive and negative) being assessed in parallel; this groups receiving hyper-caloric diet, and the last group was the general control or normal control.

To monitor the animals' metabolic profile, blood samples were taken from time to time during the test period, and the serum levels of glycemia, triglycerides, total cholesterol and HDL were measured. Weight tracking was also carried out, as well as behavioral studies, including the Irwin Test and the Hippocratic Test. At the end of the study (28 days), comparative anatomic-pathological and histological analyses were performed to detect possible tissue damage. The results showed that, although the lyophilized infusion could have an antihyperglycemic effect, it did not significantly change the lipid profile. Moreover, though the infusion was administered during 28 days, it was found that it did not lead to any behavioral changes indicating toxicity, but did produce in heart tissue histological changes such as hyalinization, separation and rounding of fibers.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*; Subchronic toxicity; Diabetes; Metabolic syndrome.

Introducción

Es conocido que la industria farmacéutica ha desarrollado una amplia gama de medicamentos para el tratamiento de la diabetes mellitus (tipo I y II), entre los que la gran mayoría poseen principios activos de origen sintético. Sin embargo, en los últimos años no sólo en Colombia sino también a nivel mundial, los productos de origen natural, suple-

mentos dietarios y productos fitoterapéuticos han cobrado gran importancia como alternativas de tratamiento o bien tratamientos complementarios (Genta y col. 2010). Éste es el caso del yacón (*S. sonchifolius*), planta de la familia Asteraceae ampliamente consumida en la región andina de Sudamérica (Habib y col. 2011; Ornelas y col. 2013), para el tra-

tamiento de la constipación intestinal, inhibición de diarreas, como antimicrobiano de bacterias gram-positivas y gram negativas, osteoporosis, aterosclerosis, diabetes mellitus y como reductor del riesgo de cáncer de colon (Naranjo y Torres 2015).

Smallanthus sonchifolius (conocido popularmente como Yacón) es una de las plantas comúnmente usadas para ayudar al control de la diabetes (especialmente tipo II) y otros desórdenes metabólicos como dislipidemia. Se la usa en forma de preparación por infusión de hojas y/o rizomas, a la que se atribuye múltiples propiedades terapéuticas (Naranjo y Torres 2015).

De acuerdo con la caracterización fitoquímica del extracto de hojas y rizomas, posee altos niveles de inulina y fructooligosacáridos (40-70%) (Naranjo y Torres 2015), que son polisacáridos solubles en agua pertenecientes al grupo de los hidratos de carbono no digeribles llamados fructanos. Es por ello que el extracto es altamente efectivo como prebiótico (Shoaib y col. 2016), pues estos compuestos modulan la composición y la actividad metabólica de la microbiota intestinal, favoreciendo el crecimiento de bacterias benéficas en lugar de otras especies consideradas patógenas. Además, se ha reportado que la fermentación bacteriana de la inulina en el intestino grueso se relaciona con el aumento de la absorción intestinal y la biodisponibilidad de electrolitos como calcio y magnesio, tanto en animales (rata y cerdo) como en humanos. Esto ocurre porque la fermentación favorece la producción de ácidos grasos de cadena corta que reducen el pH luminal y mejoran la solubilidad de algunos minerales (Rodrigues y col. 2009). Además, la inulina es utilizada como sustituto de grasa, azúcar y modificador de textura de alimentos funcionales, que mejoran la salud por sus efectos gástricos benéficos (Shoaib y col. 2016).

A pesar de estudios en diversas partes del continente sudamericano, en los que se evalúa la toxicidad aguda del extracto acuoso, usando 2, 5 y 10 veces la dosis antihiper glucemiante sin causar toxicidad evidente (Genta y col. 2010), en un trabajo previo a este (Naranjo y Torres 2015) se estudió la toxicidad aguda utilizando como modelo animal ratas hembra, mediante la administración del liofilizado de la infusión acuosa de *S. sonchifolius* de la variedad colombiana. Aunque se determinó que el liofilizado tiene una DL50 mayor a

2000 mg/kg de peso corporal, es indispensable la evaluación de su toxicidad subcrónica, considerando el uso continuo que se recomienda hacer de él, para alcanzar los efectos antes mencionados. Más aún cuando se ha reportado un posible daño renal asociado con el aumento de los niveles de glucemia o bien, atribuido a la acción propia de la planta después de administración oral prolongada de sus extractos (De Oliveira y col. 2011).

Dada la alta incidencia a nivel mundial de la diabetes mellitus en la actualidad, afectando a cerca de 171 millones de personas y con una proyección de 366 millones para el año 2030 (OPS/OMS Chile 2017) sumado a que el sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo de gran importancia para su desarrollo y el de otras enfermedades crónicas como la enfermedad coronaria, el control y la disminución de la masa corporal contribuye a ralentizar (e incluso detener) la progresión de la diabetes. Teniendo en cuenta que esto es una herramienta eficaz para tratar y prevenir la diabetes se complementa con las intervenciones dietarias (Genta y col. 2009).

Por otra parte, los productos antidiabéticos de origen natural cada día son más utilizados en la medicina moderna, incluso son recomendados por entidades tan importantes como la Organización Mundial de la Salud (OMS 2013). Es por ello que, el uso de productos derivados de algunos órganos de *Smallanthus sonchifolius* ha tomado fuerza gracias a sus propiedades antidiabéticas (Ornelas y col. 2013). Además, el yacón se encuentra en el mercado europeo como alimento funcional prospectivo y como suplemento dietario, principalmente dirigido a personas mayores, personas diabéticas y mujeres posmenopáusicas (Sousa y col. 2015).

El rizoma es comúnmente consumido como fruto y las hojas son utilizadas para la preparación de infusiones y extractos acuosos. De esta manera, existen productos como té y jarabes para los cuales se recomienda una ingesta diaria de 0,14 g/kg de peso corporal sin efectos gastrointestinales indeseables, para producir una disminución significativa del índice de masa corporal y de la circunferencia de cintura (Genta y col. 2009).

En cuanto a la caracterización fitoquímica, se describe que el yacón almacena carbohidratos en forma de β -(2 \rightarrow 1)-fructooligosacáridos, los cuales se encuentran en numerosos tipos de plantas, pero no en concentraciones tan

altas como en las raíces y hojas del yacón. Estos fructooligosacáridos han demostrado ser efectivos para controlar la constipación y disminuir los niveles de lípidos y glucosa en sangre (Genta y col. 2009; Shoaib y col. 2016).

La composición orgánica de *S. sonchifolius* también incluye la presencia de lactonas sesquiterpénicas, de las cuales la más abundante y estudiada es la enhydrina, responsable no sólo de parte de la actividad hipoglucemiante sino también de potenciales daños renales (De Oliveira y col. 2011; Serra y col. 2012). Este compuesto se encuentra abundantemente en los tricomas de las hojas y se ha demostrado que es eficaz para reducir la glucosa post-prandial, siendo útil como alternativa en el tratamiento de la diabetes en animales, utilizando dosis mínima de 0,8 mg/kg de peso corporal (Genta y col. 2010).

Adicionalmente, el yacón contiene compuestos fenólicos como son ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido cumárico y ácido protocatéquico, responsables de una actividad antioxidante comparable incluso con la del ácido ascórbico. Dado que el estrés oxidativo es reconocido ampliamente como característica principal de algunas enfermedades crónicas, enfermedades neurodegenerativas y diabetes (Dionísio y col. 2015; Sousa y col. 2015), el uso de esta planta para el tratamiento de estas patologías resultaría útil.

De esta planta también se han evaluado extractos obtenidos con otros disolventes como metanol, butanol y cloroformo, demostrando actividad hipoglucemiante en dosis de 50, 10 y 20 mg/kg de peso corporal, respectivamente. Con esto, un estudio en animales diabéticos demostró que la administración diaria de cada extracto durante 8 semanas, produjo un control eficaz de la glicemia gracias al aumento del nivel de insulina en plasma (Genta y col. 2010), esto a la luz de que, en otro experimento similar, ratas tratadas con la harina de la raíz de yacón mostraron un aumento de células pancreáticas generadoras de insulina. (Habib y col. 2011).

Un estudio toxicológico reportó que el hígado y los riñones son los principales órganos comprometidos en posibles daños tisulares, puesto que suelen estar involucrados en la eliminación de los compuestos fitoquímicos de la planta (De Oliveira y col. 2011). Además, no sólo se ha reportado daño renal con la administración crónica del extracto de la

planta, sino también un aumento en el nivel de albúmina relacionado con el proceso de deshidratación (debido a la actividad osmótica que posee), que puede estar relacionado con la función renal (De Oliveira y col. 2011). En contraposición, otros estudios no evidenciaron toxicidad ni disminución de niveles de glucemia (pero sí reducción de triacilglicéridos en suero), lo que contribuye reduciendo la cetogénesis (Genta y col. 2005) e incluso se sugiere que el consumo de extracto de yacón podría ser hepatoprotector (Ornelas y col. 2013).

Siendo así, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General:

Evaluar la toxicidad subcrónica oral a 28 días de *Smallanthus sonchifolius*, como infusión acuosa de partes aéreas de la planta (hojas), en modelo roedor de rata.

Objetivos Específicos:

1. Determinar los efectos adversos a través alteraciones comportamental y de peso corporal, durante el periodo de exposición a la infusión de *Smallanthus sonchifolius*.
2. Realizar la determinación de los niveles clínicos de marcadores sanguíneos del metabolismo energético necesarios para establecer la valoración de los efectos.
3. Realizar el análisis anatomopatológico de la totalidad de los animales, estableciendo la correlación de las alteraciones entre los animales control y los de tratamiento con la infusión.
4. Establecer la evaluación histopatológica de los órganos que así lo requieran, de acuerdo con lo determinado mediante el análisis anatomopatológico.

Materiales y métodos

Material vegetal

El material vegetal utilizado se recolectó en el municipio de Tenjo, Cundinamarca, ubicado en la provincia de Sabana centro a 37 Km de Bogotá, con una altitud de 2685 msnm.

Una vez recolectadas las hojas de la planta, se secaron en un horno a 45°C por 5 días. Posteriormente se trituró por molienda y se preparó una infusión utilizando 1,2 gramos de hoja seca por cada 100 mL de agua potable recién hervida a ebullición. Dicho extracto se llevó a un liofilizador por 48 horas. Finalmente, con el liofilizado obtenido, se preparó una solución al 20% en agua destilada para ser administrada

en los animales de acuerdo con su peso.

Animales de experimentación, dieta y condiciones de mantenimiento

El modelo animal utilizado fue la rata Wistar, tomando un grupo total de 30 ratas hembra de 8 semanas de edad, obtenidas del bioterio del Instituto Nacional de Salud de Bogotá, Colombia. Los animales fueron obtenidos sanos y de forma aleatoria entre la población general, teniendo como criterio una variación de peso no superior al 20% entre ellos, alcanzando una varianza de peso homogénea entre los animales. Luego de esto, la distribución de los animales se hizo en 6 grupos de 5 animales cada uno, permitiendo un periodo de adaptación al bioterio del Departamento de Farmacia durante 2 semanas sin realizar con ellos procedimiento alguno, para lograr su aclimatación a las nuevas condiciones de humedad, luz y temperatura (condiciones ambientales promedio del bioterio: 65±10% HR, 18±7 °C, y 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad). Además, se les permitió el consumo de agua y alimento (LabDiet®) *ad libitum*. Después de dicho periodo de aclimatación, 5 de los 6 grupos de animales se alimentaron durante 2 semanas con dieta hipercalórica (alimento con un porcentaje mayor en grasa (20%) y agua edulcorada con 5% de panela comercial). El grupo restante fue alimentado con dieta normal y agua pura, el cual fue denominado como grupo control general, por ser expuesto exclusivamente a la administración del vehículo usado en la disolución del extracto liofilizado (agua purificada).

La administración del liofilizado de la infusión de la planta fue realizada diariamente a 3 de los 5 grupos alimentados con dieta hipercalórica, usando una de las siguientes dosis para cada uno de estos tres grupos: 125, 250 y 500 mg/kg de peso corporal. El cuarto grupo, alimentado con dieta hipercalórica, fue sometido diariamente a administración intraperitoneal de solución inyectable de Insulina Glargina (Lantus®) en dosis de 2 UI/kg, siendo considerado como control positivo. El quinto y último grupo alimentado con dieta hipercalórica, también fue administrado únicamente con el vehículo del liofilizado, siendo considerado el control negativo.

Durante el periodo de estudio (28 días), el grupo control general recibió la dieta que proporciona la cantidad de grasa recomendada como normal para la crianza de estos animales (aprox. 10%). Los grupos alimentados con dieta hipercalórica, recibieron alimento con aproximadamente 30% más de contenido de grasa, equivalente a la adición de aceite de coco y grasa vegetal en proporción 10:20:70 con el alimento LabDiet®, recibiendo adicionalmente agua edulcorada con agua panela. El peso de todos los animales usados en la experiencia fue controlado semanalmente.

Niveles de dosificación

Teniendo en cuenta resultados previos (Naranjo y Torres 2015), se definió la administración de dosis de 125, 250 y 500 mg/kg de peso corporal durante un periodo de 28 días (Tabla 1), a fin de evaluar la toxicidad subcrónica del liofilizado de la infusión acuosa de las hojas del yacón.

Tabla 1. Diseño experimental por caja de mantenimiento de los animales

	Grupo1	Grupo 2	Grupo3	Grupo 4	Grupo 5	Grupo 6
Nº animales	5 ratas	5 ratas	5 ratas	5 ratas	5 ratas	5 ratas
Dosis	Vehículo	Vehículo	Insulina 2 UI	125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg

Período de observación

El periodo de observación de los animales tras su adaptación al bioterio y pretratamiento con dieta hipercalórica, correspondió a los 28 días durante los cuales se realizó administración peroral diaria del liofilizado. A través de todo el periodo de administración se realizaron periódicamente evaluaciones compor-

tamentales y el monitoreo de la variación de peso corporal, prestando atención a manifestaciones de posibles efectos adversos considerados signos de toxicidad.

Toma de muestras de sangre

Se realizó la toma de muestras sanguíneas de aproximadamente 200 µL de todos los

animales, a través de punción retro-orbital usando para ello capilares estériles con anti-coagulante (solución de EDTA al 3%). Posteriormente las muestras fueron depositadas en tubos *Eppendorf* y centrifugadas a 2500 rpm, separando seguidamente el plasma que fue mantenido bajo congelación a -4 °C hasta su correspondiente análisis.

Análisis de las muestras de plasma

Una vez descongeladas las muestras de plasma, se calentaron en baño maría hasta alcanzar una temperatura de 35-37 °C y se adicionaron los volúmenes de reactivos de acuerdo con los insertos de los Kits de la compañía Wiener Laboratorios, para la determinación de Colesterol total (Colestat enzimático AA) y HDL (HDL Colesterol FT), glucosa (Glicemia enzimática AA), y triglicéridos (TG Color GPO/PAP AA).

Para el análisis instrumental se utilizó un espectrofotómetro tipo Optizen POP/UV-Vis del Laboratorio de Análisis Instrumental - Departamento de Farmacia, trabajando a las longitudes de onda que se referencian en los insertos anteriormente mencionados.

Test de Irwin e Hipocrático

Se realizaron los procedimientos observacionales sistemáticos recomendados por la ICH (*The International Conference on Harmonisation*), cuyo objetivo fue observar cambios comportamentales producto de la administración de la sustancia de prueba. En este tipo de test se comparó el comportamiento de los animales pertenecientes al grupo control, con el presentado por los animales expuestos a la infusión (Tabla 2).

Examen macroscópico e histopatológico

Al finalizar el estudio en el día 28 de la administración, los animales fueron pesados y sacrificados por el método de dislocación cervical, para posteriormente evaluar posibles cambios patológicos macroscópicos. Se realizó una evaluación anatomopatológica comparativa entre animales control y aquellos tratados con liofilizado.

La evaluación histopatológica fue realizada para los principales órganos (riñón, hígado, corazón, bazo, pulmón, páncreas y cerebro) de los animales de experimentación, en el laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Colombia.

Tabla 2. Parámetros de evaluación comportamental

TEST DE IRWIN E HIPOCRÁTICO	
VARIABLE	PARÁMETRO A EVALUAR
SNC	Aumento Actividad motora
	Disminución Actividad motora
	Tremores
	Fasciculaciones
	Convulsiones
	Ataxia
	Locomoción inusual
	Somnolencia
	Analgesia
	Anestesia
	Parálisis patas
	Actividad prensil
	Reacción de alarma
	Perdida reflejo enderezamiento
	Perdida reflejo corneal
	Perdida reflejo pineal
	Salto
	Incoordinación motora
	Retorciones abdominales
	Esterotipias (inhalar, masticar)
	Sacudidas cabeza
Rascarse	
Ojos	Enoftalmo
	Nistagmus
	Lagrimación
	Miosis
	Midriasis
	Exoftalmos
	Ptoxis
	Cromodaciorrea
	Relajación membranas nictitantes
	Apariencia piel
Hiperemia	
Cianosis	
Efectos generales	Sialorrea
	Erección de la cola
	Piloerección
	Diarrea
	Priapismo
	Signo de Robichaud
	Disnea
Descarga nasal	
Efectos subjetivos	Temeroso
	Pasivo
	Agresivo

A todas las ratas se les hizo necropsia completa y se tomaron muestras de todos los tejidos, siendo fijadas en formol tamponado al 10% durante 48 horas.

Para el análisis histológico, los tejidos se incluyeron en parafina y se hicieron cortes de 5 µm que se procesaron por la técnica de rutina con hematoxilina eosina. Las láminas procesadas se observaron al microscopio de luz y se clasificaron las lesiones de los órganos se-

gún su gravedad, de la siguiente manera:

0= Sin presencia de lesión

1= Lesión leve

2= Lesión moderada

3= Lesión severa

Análisis estadístico

Los datos de las pruebas sanguíneas y de peso recibieron análisis estadístico a través del uso del programa IBM SPSS Statistics, versión 24,0 para Windows. Las variables estudiadas se describieron por grupos obteniendo la media y la desviación estándar. La homogeneidad de las varianzas se determinó por la prueba Levene ($p > 0,05$). Se implementó la prueba t Student para muestras independientes con objeto de determinar diferencias entre el peso antes de la administración de la infusión y la ganancia de peso a través de las pruebas.

Para analizar las diferencias en los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total y HDL se aplicó análisis de varianza (ANOVA); al resultar varianzas con diferencia estadísticamente significativa, se aplicó la prueba de Duncan. Todos los análisis se trabajaron con un nivel de confianza del 95% ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

Test Irwin e Hipocrático

Los resultados de las pruebas comportamentales de los animales bajo las diferentes condiciones de tratamiento aplicadas no mostraron alteración significativa frente al comportamiento de los animales del grupo control general. En la ejecución de estas pruebas y en las observaciones realizadas a lo largo del estudio, no se observaron cambios que evidenciaran alteración del SNC, o de algún otro parámetro fisiológico de los animales de experimentación (miosis o midriasis, piloerección, disforesis, epifora, poliurea, diarrea, etc.). Por esto se considera que bajo las condiciones de exposición al liofilizado ningún parámetro evidenció toxicidad.

De acuerdo con lo anterior, las observaciones realizadas sugieren que no hubo una alteración importante del sistema extrapiramidal, puesto que no se observó la miorrelajación que generalmente puede estar asociada con disminución del tono muscular. Igualmente, no se observó una alteración de la sensibilidad general (en término de respuesta a estímulos evaluados), lo cual sugiere que

tampoco se manifestaron cambios en los núcleos talámicos o ganglios basales. Tampoco se evidenciaron cambios en los movimientos oculares, vigilia o sueño, lo que podría sugerir que tampoco se efectuó el sistema reticular activador. También se descartó una posible acción en la función vestibular de las ratas tratadas, puesto que no se observó la alteración de orientación, equilibrio o control espacial, evaluada en las pruebas de campo abierto.

Variación de peso corporal

El control del peso de los animales tratados se realizó semanalmente como parámetro de evaluación de la toxicidad ejercida por la infusión, frente a lo observado en los animales del grupo control. Además, considerando el efecto que la infusión podría ofrecer sobre la ganancia de peso con administración de dieta hipercalórica, se determinó que el tratamiento produjo un aumento de peso generalizado en la población de animales expuesta a estas condiciones, lo cual se atribuyó tanto al desarrollo normal de los animales (como en el caso de animales control), como a la administración de dieta hipercalórica. Se destaca el hecho de que no se presentó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos a los que se administró dieta hipercalórica y adicionalmente el liofilizado, comparados con el grupo de animales a los que no se administró liofilizado, pero sí se expusieron a la dieta hipercalórica, indicado que no hubo efecto del liofilizado en la ganancia de peso.

Es importante resaltar, que sí hubo una diferencia significativa en el aumento de peso entre el grupo control positivo y el control general, lo cual indica que las diferencias entre estos dos grupos fue consecuencia de la administración de insulina al control positivo, ya que esta facilita el depósito adecuado de nutrientes llevando a un mayor aumento de peso. Esto demuestra, que el liofilizado administrado no ofrece un efecto similar a la insulina sobre la ganancia de peso, ya que considerando que la administración de la dieta hipercalórica podría llevar a desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina o a diabetes, resalta que la infusión no ayuda al control de la ganancia de peso bajo las condiciones de exposición utilizadas.

Respecto al seguimiento del peso y al respectivo análisis de varianza llevado a cabo, se observó un aumento de peso generaliza-

do pero mayor en aquellos animales tratados con dieta hipercalórica frente a los tratados con dieta normal, lo cual es de esperarse puesto que el metabolismo en los animales adultos favorece el desarrollo de nuevos tejidos, pero debido a la administración de dieta hipercalórica podría ser fundamentalmente tejido graso (Figura 1). Sin embargo, en términos del aumento de peso se observa una sutil tendencia entre los animales a los que se les administró el liofilizado y la insulina intraperitoneal, puesto que estos últimos aumentaron de peso con una tasa de cambio ligeramente mayor. La insulina es una hormona que promueve la síntesis de proteínas y es considerada un factor de crecimiento, lo cual explica lo anterior. En cuanto a los animales que fueron tratados con el liofilizado del extracto, no se observaron cambios de peso abruptos o no esperados, lo cual sugiere que posiblemente el liofilizado de *S. sonchifolius* no haya alcanzado el efecto metabólico significativo durante el periodo de estudio.

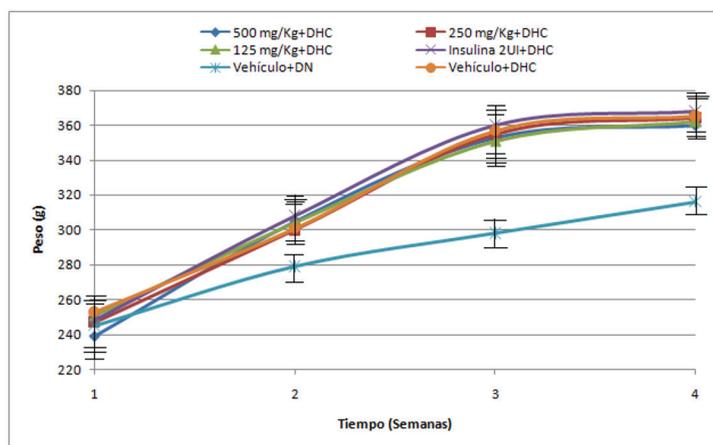


Figura 1. Variación de peso de todos los grupos de animales a lo largo del periodo de estudio.

En las observaciones macroscópicas realizadas mediante la necropsia, no se encontraron diferencias visiblemente relevantes en los principales órganos de los animales control frente a los de los diferentes grupos de tratamiento, lo cual también sugiere que la administración del liofilizado en las dosis señaladas en el presente estudio, no generarían alteraciones anatomopatológicas detectables o relevantes.

De manera general, en el análisis histopatológico se observó que el liofilizado administra-

do bajo un régimen subcrónico por 28 días, podría inducir cambios en el tejido cardíaco en términos de hialinización, separación y redondeo de fibras (Figura 2), de acuerdo con los análisis reportados por el laboratorio de patología. Estos cambios en el tejido cardíaco se observaron con mayor prevalencia en aquellos animales a los que se les administró la dosis más alta del liofilizado (Tabla 3), lo cual sugiere que podría estar relacionado con la exposición al mismo. Esto puede considerarse una evidencia de desarrollo de toxicidad, producto de la exposición al liofilizado bajo las condiciones de experimentación establecidas.

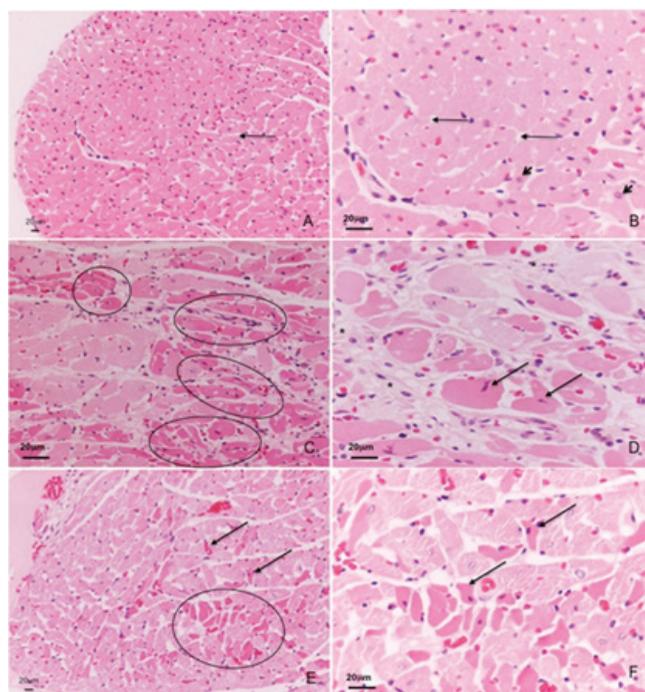


Figura 2. Microfotografías de lesiones cardíacas. A-B) Corazón sin lesión de un animal del grupo 6. A) Puede verse la separación normal entre fibras (flechas). B) Detalle de A, se observa el espacio normal entre fibras (flechas largas) y los núcleos de los cardiomiocitos sin lesión (flechas cortas). C y D) Muestra lesión severa de fibras en un animal del grupo 1. C) Es evidente la severa hialinización de fibras a manera de parches (demarcado con óvalos). D) Detalle de C donde se evidencia la hialinización de fibras y los cambios de forma de los núcleos (flechas). Además, se evidencia aumento del espacio entre las fibras y la presencia de células (asteriscos). E-F) Lesión moderada miocárdica de animal del grupo 9. E) Foco de degeneración demarcado en óvalo, flechas muestran espacio normal entre fibras. F) Detalle de la anterior donde se muestra la hialinización de fibras y cambios nucleares (flechas).

Tabla 3. Lesiones histopatológicas en corazón

			Congestión	Desorden de fibras	Hialinización de fibras	Separación de fibras	Redondeamiento de fibras	Núcleos irregulares	Celularidad entre fibras	Necrosis de fibras
1	500 mg	Dieta hipercalórica	1	2	3	3	3	2	2	1
2	500 mg	Dieta hipercalórica	1	0	1	1	1	1	0	0
3	500 mg	Dieta hipercalórica	2	1	1	1	1	0	0	0
4	250 mg	Dieta hipercalórica	1	0	2	1	1	1	0	0
5	250 mg	Dieta hipercalórica	2	1	2	2	2	1	0	0
6	250 mg	Dieta hipercalórica	1	1	0	1	1	0	0	0
7	150 mg	Dieta hipercalórica	3	1	1	1	1	1	0	0
8	150 mg	Dieta hipercalórica	2	1	1	1	0	1	0	0
9	150 mg	Dieta hipercalórica	1	1	2	2	2	2	0	1
10	Insulina	Dieta hipercalórica	0,5		0,5	0,5	0,5	0	0,5	0
11	Insulina	Dieta hipercalórica	2	1	2	1	1	1	0	0
12	Insulina	Dieta hipercalórica	2	1	1	1	1	1	0	0
13	Vehículo	Dieta normal	1	1	1	1	1	1	0	0
14	Vehículo	Dieta normal	2	1	1	1	1	1	0	0
15	Vehículo	Dieta normal	2	1	1	1	1	1	0	0
16	Vehículo	Dieta hipercalórica	2	1	2	1	2	2	0	0
17	Vehículo	Dieta hipercalórica	2	0	1	0	0	1	0	0
18	Vehículo	Dieta hipercalórica	2	0	1	0	0	1	0	0

Se sugiere que el mecanismo por el que ocurre el daño cardíaco descrito, podría estar relacionado con el daño tisular que generan las lactonas sesquiterpénicas (enhydrin), presentes en los tricomas de las hojas de *S. sonchifolius*. Estudios recientes de estos compuestos han reportado una importante actividad antiinflamatoria y se describe la insuficiencia cardíaca como uno de los efectos tóxicos de esta clase de agentes (De Oliveira y col. 2011; Habermehl y Fliegner 1998). Sin embargo, hasta el momento no se ha realizado ningún reporte referente a este tipo de daño, por lo cual se sugiere realizar un estudio toxicológico

profundo en el que se evalúe la seguridad de las lactonas sesquiterpénicas obtenidas de las hojas de *S. sonchifolius*.

En el análisis de las muestras de plasma tomadas semanalmente de acuerdo con el respectivo tratamiento estadístico aplicado, se observó que comparando los animales tratados con las mayores dosis del liofilizado y aquellos con la misma dieta, pero sin administración del mismo, en la mayoría de los individuos se presentó un efecto hipoglucemiante producto del extracto liofilizado. Se trata de un ligero efecto, equivalente a una reducción del 6% frente a los animales del grupo con-

trol general, pero reportado en otros estudios como efecto evidente (De Oliveira y col. 2011; Naranjo y Torres 2015). Lo anterior sugiere que posiblemente la variedad colombiana de *Smallanthus sonchifolius* contiene niveles menores de los compuestos responsables de dicha actividad (enhydrin, ácido clorogénico e inulina) o bien que las dosis utilizadas no fuesen lo suficientemente altas, por lo cual también podría explicar que no se haya producido toxicidad renal bajo las condiciones de exposición al liofilizado utilizadas en esta investigación, como ha sido ya reportado para este tipo de metabolitos (De Oliveira y col. 2011; Serra y col. 2012).

Con lo anterior, también es importante considerar que los efectos benéficos del yacón se deberían a su gran contenido de fructooligosacáridos (inulina), presentes fundamentalmente en el rizoma (Genta y col. 2009). Resaltamos esto, por cuanto en el presente estudio lo evaluado fue el liofilizado de la infusión de hojas, las cuales tienen menor porcentaje de inulina como se describe en los textos consultados, lo cual podría justificar la baja actividad como hipoglicemiante y modulador del perfil lipídico, puesto que de acuerdo con los niveles de colesterol, HDL, triglicéridos encontrados en los animales del grupo control general, y los presentados por los animales expuestos al liofilizado bajo las diferentes dosis, no se observan tampoco diferencias estadísticamente significativas.

Finalmente, de acuerdo con los resultados presentados y habiendo aplicado el protocolo de tratamiento de la OECD para la evaluación de la toxicidad subcrónica de corto término, se recomienda realizar el estudio de toxicidad subcrónica más extenso (90 días) o toxicidad crónica, implementando un tiempo mayor de administración de dieta hipercalórica.

Conclusiones

1. No se encontraron cambios comportamentales que evidencien toxicidad del liofilizado de la infusión acuosa de *S. sonchifolius*, bajo las condiciones de experimentación señaladas.
2. La administración del liofilizado bajo las condiciones establecidas, no indujo cambios anatomopatológicos de acuerdo con el reporte entregado por el laboratorio de patología.
3. Como principal efecto adverso, la evaluación histopatológica permitió determinar daño del tejido cardíaco en términos de hialinización, separación y redondeo de fibras en ani-

males tratados con dosis del liofilizado de *S. sonchifolius* de 250 y 500 mg/Kg.

4. El liofilizado de la infusión de *S. sonchifolius* presentó leve efecto reductor de los niveles de glucemia, equivalente al 6% bajo las condiciones descritas, considerando valor normal promedio de 90 mg/dL en ratas bajo dieta normal (Habib y col. 2011).

5. El liofilizado no contribuyó significativamente al control del perfil lipídico de los individuos a los que les fue administrado, en comparación con el grupo control de referencia (negativo).

Agradecimientos: A la Universidad Nacional de Colombia y al Departamento de Farmacia por la contribución en la disponibilidad de laboratorios en los que se realizó el trabajo. A Silvia Mercedes Días Castro por su gran colaboración en la fase experimental del proyecto. A la profesora Lucía Botero, patóloga del Departamento de Medicina Veterinaria por su asesoría en la realización de los estudios histopatológicos.

Bibliografía citada

De Oliveira R., Aparecida D., Alves B., Franco J., Gobbom L., Akira S., Ferreira W., Batista F. Renal toxicity caused by oral use of medicinal plants: The yacón example. *J Ethnopharmacol.* 2011;133:434–441.

Dionísio A., De Carvalho L., Menezes N., De Souza T., Wurlitzer N., De Fatima M., Sousa E. Cashew-apple (*Anacardium occidentale* L.) and yacón (*Smallanthus sonchifolius*) functional beverage improve the diabetic state in rats. *Food Res Int.* 2015; 77:171–176.

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 Chem Toxicol.* 2005;43:1657–1665.

Genta S., Cabrera W., Habib N., Pons J., Manrique I., Grau A., Sánchez S. Yacón syrup: Beneficial effects on obesity and insulin resistance in humans. *Clin. Nutr.* 2009; 28:182–187.

Genta S., Cabrera W., Mercado M., Grau A., Catalán C., Sánchez S. Hypoglycemic activity of leaf organic extracts from *Smallanthus sonchifolius*: Constituents of the most active fractions. *Chem Biol Interact.* 2010;185:143–152.

Habermehl G.G., Fliegner W. Terpenes and their Biological Relevance. *Studies in Natural Products Chemistry.* 1998; 20: 3-24.

Habib N., Honoré M., Genta S., Sánchez S. Hypolipidemic effect of *Smallanthus sonchifolius* (yacón) roots on diabetic rats: Biochemical approach. Chem Biol Interact. 2011;194:31–39.

Naranjo A., Torres M.A. Evaluación de la toxicidad aguda de la especie colombiana de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón) en rata. Trabajo de grado. Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. Junio 2015.

Organización Mundial de la Salud (OMS). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza, 2013.

Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud (OPS/OMS) Chile. [en línea]. Diabetes. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Regional para las Américas. Santiago de Chile, 2017. [consulta: 27 de octubre 2017] Disponible en: http://www.paho.org/chi/index.php?option=com_content&view=article&id=178:diabetes&Itemid=1005.

Ornelas G., Pereira C., Henrique A. Improvement of biochemical parameters in type 1 diabetic rats after the roots aqueous extract of yacon [*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.& Endl)] treatment. Food Chem Toxicol. 2013;59:256–260.

Rodrigues A., Mancini J., Parisi E., Cocato M., Coli C. Effects of dietary lipid composition and inulin-type fructans on mineral bioavailability in growing rats. Nutrition. 2009;25:216–225.

Serra C., Cabrera W., Honoré S., Mercabo M., Sánchez S., Genta S. Safety assessment of aqueous extract from leaf *Smallanthus sonchifolius* and its main active lactone, enhydrin. J Ethnopharmacol. 2012;144:362–370.

Shoaib M., Shehzad A., Omar M., Rakha A., Raza H., Rizwan H., Shakeel A., Ansari A., Niazi S. Inulin: Properties, health benefits and food applications. Carbohydr Polym. 2016;147:444–454.

Sousa S., Pinto J., Rodriguez C., Gíao M., Pereria C., Tavaría F., Malcata F., Gomes A., Pacheco B., Pintado M. Antioxidant properties of sterilized yacon (*Smallanthus sonchifolius*) tuber flour. Food Chem 2015;188:504–509.