

Efecto de la Yerba Mate (*Ilex Paraguariensis* St. Hil.) sobre la Eritropoyesis y la Absorción Intestinal del Hierro en la Rata

Abraham GUTNISKY, Gustavo GIBERTI y María A. DEL PERO MARTINEZ*

CEFAYBO (Centro de Estudios Farmacológicos y Botánicos), CONICET,
Serrano 669. (1414) Buenos Aires, Argentina

RESUMEN. *Ilex paraguariensis* St. Hil. es un árbol de la familia *Aquifoliaceae*, cuyas hojas y ramitas jóvenes se industrializan y comercializan con el nombre de yerba mate. Es ampliamente usado para preparar una infusión que es adoptada por un alto porcentaje de la población en Argentina, Paraguay, Uruguay y Sur de Brasil. En menor escala también en Chile y algunos países de oriente. Sus cualidades alimenticias, sus componentes y su acción sobre diferentes sistemas (circulatorio, digestivo, nervioso) han sido estudiadas pero no existen referencias sobre su acción en el metabolismo del hierro. En el presente estudio se ha investigado la influencia de la yerba mate en la absorción intestinal del hierro en ratas bajo condiciones experimentales distintas. Se realizaron básicamente dos grupos de protocolos: a) uno con ingestión oral de infusión de yerba mate, con tres variantes: sin administración de hierro marcado (tipo I), con administración de hierro marcado en un segmento del intestino (tipo II) y con administración oral de hierro marcado (tipo IV) y b) otro sin ingestión oral de yerba mate pero con administración de la infusión junto con hierro marcado en el loop intestinal (tipo III). La medición de los valores de la ferremia y de la incorporación de hierro en hígado, bazo y fémur, mostraron que la absorción del hierro es drásticamente disminuída cuando éste es incorporado en el loop intestinal, ya sea que el hierro se administrase en el loop con agua destilada en el grupo que tenía infusión oral de yerba mate (tipo II) o en el loop diluído en infusión de yerba mate, en el grupo que no tenía ingestión oral de la infusión (tipo III). En cambio, los casos en que se usó la vía oral para la infusión de yerba mate no modificaron los valores indicadores de eritropoyesis (tipo I) o de absorción de hierro marcado administrado por vía oral (tipo IV). Los resultados obtenidos indican que el pasaje de la infusión de yerba mate por el estómago impide que la infusión tenga un efecto depresor sobre la absorción de hierro intestinal. Se sugiere la posibilidad de una acción de los fenoles en este proceso.

SUMMARY. "Effect of mate herb (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) on erythropoiesis and intestinal absorption of iron in rats". Yerba mate is the commercial name for the leaves and young stems from *Ilex paraguariensis* St. Hil. (*Aquifoliaceae*). It is widely consumed as infusion in Argentina, Paraguay, Uruguay and Southern Brasil, in lesser extend in Chile and some of the Middle East Countries. Yerba mate's chemical components, nutritional qualities and some of its physiological actions on different systems (circulatory, digestive and

PALABRAS CLAVES: *Ilex paraguariensis*, Yerba mate, Absorción del hierro, Eritropoyesis.

KEY WORDS: *Ilex paraguariensis*, Yerba mate, Iron absorption, Erythropoiesis.

* Autora a quien dirigir la correspondencia.

nervous) are fairly known. However there is no data on the influence that yerba mate may have on the iron metabolism. In the present study it was investigated the influence of the ingestion of yerba mate on the iron intestinal absorption in rats under different experimental conditions. Basically two types of treatment were followed, a) with oral ingestion of the infusion and without administration of ^{59}Fe (type I), with administration of ^{59}Fe in an intestinal loop (type II) and with oral administration of ^{59}Fe (type IV) and b) without oral ingestion of the infusion, but with administration of it together with the ^{59}Fe in the intestinal loop (type III). The haematologic values and those of the iron incorporation in femur, liver and spleen, shown that the iron absorption is drastically diminished when it is injected in the intestinal loop, whether the iron is diluted in distilled water, for the group of rats with oral ingestion of infusion (type II), or diluted in the infusion, for the group of rats without oral ingestion of the infusion (type III). In contrast, in those groups where oral infusion of mate herb, was administered, the haematologic values (type I) and the values of iron incorporation on femur, liver and spleen (type IV) appeared unmodified. The results obtained show that the passage of the mate herb through the stomach inhibits its depressing action on the iron intestinal absorption. The influence of phenolic compounds in this process is suggested.

INTRODUCCION

Lo que comercialmente se conoce como yerba mate son hojas y ramitas jóvenes de un árbol (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) que se procesan industrialmente y se presentan en los comercios para su venta masiva.

Se usa como infusión en diferentes formas de preparación, como mate, mate cocido o tereré. En cualquiera de estas formas es adoptado por un alto porcentaje de la población en la zona sudeste de Sudamérica, en especial en la Argentina, Paraguay, Uruguay y Sur de Brasil, y por exportación también en menor cantidad en otros países del mundo.

Los componentes químicos de la yerba mate, sus cualidades alimenticias y su acción fisiológica sobre los diferentes sistemas (circulatorio, digestivo y nervioso) fueron estudiados por diferentes autores ¹⁻⁴. Una compilación bibliográfica del tema fue preparada por Rosovsky de Cernadas ⁵. En la mayoría de estos trabajos se destaca la acción benéfica que produce su consumo pero no obtuvimos datos respecto a la influencia que pudiera tener la yerba mate sobre los valores hematológicos.

Sobre la base de estos antecedentes nos propusimos estudiar, en diferentes condiciones experimentales, el efecto de la infusión de yerba mate sobre la absorción intestinal del hierro y su relación con los valores hematológicos en la rata.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó este trabajo con ratas Wistar, hembras y machos, con diferentes pesos de iniciación según el diseño experimental. A fin de eliminar diferencias en los resultados atribuibles al sexo en algunos casos se incluyó en el mismo protocolo experimental ratas de ambos sexos. La yerba mate usada fue *Ilex paraguariensis* St. Hil. *var. paraguariensis* (cultivada en Argentina), única variedad de yerba mate legítima conocida hasta ahora como la única que se planta y explota para su posterior industrialización. La industria yerbatera argentina, dentro de las prescripciones del Código Alimentario Argentino, produce algunas yerbas de diferentes cualidades organolépticas según las exigencias de la demanda de distintas zonas del

país. La yerba que utilizamos en nuestros experimentos procede de Las Marías, establecimiento ubicado en Virasoro (Corrientes, Argentina).

En cada una de las muestras de yerba mate utilizada en los experimentos descriptos se llevó a cabo un estudio del contenido de compuestos fenólicos presentes. Se realizó una extracción con metanol 60% en agua. Los extractos obtenidos se analizaron cromatográfica y espectrofotométricamente con las técnicas estándar ^{6,7}. Se detectó la presencia dominante de los ácidos fenólicos identificados como clorogénico e Isoclorogénico. La presencia de estos fenoles ya fueron previamente citados por otros autores ⁸⁻¹⁰. No se observó la presencia de taninos y sólo mínimas trazas de los flavonoides citados previamente ⁴, que probablemente fueron eliminados en el proceso de industrialización de la muestra.

En los ensayos se realizaron cuatro modelos experimentales, diseñados con el propósito de determinar los efectos de la yerba mate sobre la eritropoyesis y la absorción intestinal del hierro. En todos los casos se usó una infusión de yerba mate, preparada con 30 g de yerba en un litro de agua corriente a punto de ebullición.

Protocolo Experimental Tipo I

Se utilizaron ratas machos y hembras recién destetadas de 22 días de edad alimentadas con una dieta balanceada de Purina ad libitum pero suministrándoles como única bebida la infusión de yerba mate, preparada diariamente. Un grupo control tuvo como bebida agua. Se mantuvieron los animales con esta dieta durante 60 días, durante los cuales se les realizó un control hematológico cada 10 a 15 días, analizando la hemoglobina, el volumen globular (hematocrito) y el recuento de reticulocitos. Al cumplirse los 60 días se sacrificaron los animales y se determinaron los valores de peso, hematocrito, hemoglobina, porcentaje de reticulocitos en sangre y porcentaje de normoblastos en médula ósea. La ferremia y la concentración de transferremia libre se determinó en un animal control y uno tratado.

Protocolo Experimental Tipo II

Se usaron ratas machos destetadas a los 22 días de edad y puestas en las mismas condiciones que en el experimento anterior, administrándoles como única bebida la infusión de yerba mate durante 60 días, preparada en la forma ya mencionada. Se controló periódicamente el peso, la hemoglobina y el hematocrito, hasta el día final del experimento. Se realizó entonces un "loop" intestinal y se procedió de la siguiente manera: bajo anestesia etérea se exteriorizó el píloro y se pasó a esta altura una ligadura sin ajustarla; a 6 cm en la porción intestinal se efectuó otra ligadura bien ajustada. A continuación se introdujo por el estómago una aguja hasta el duodeno y se inyectó a través de la misma 1 µc. de ⁵⁹Fe, ajustando la ligadura en el momento de retirar la aguja. De esta manera quedó formada una cavidad cerrada de 6 cm de longitud, manteniéndose intacta su circulación e inervación, que finalmente se introdujo en el abdomen y se cerró la pared. Se dejaron transcurrir 20, 40 y 120 minutos del momento en que se introdujo el ⁵⁹Fe en la cavidad y se procedió a abrir nuevamente el abdomen; se extrajo la sangre por punción aórtica, luego se extrajo el loop, se quitaron las ligaduras y se realizó un lavado de su interior con 10 ml de solución salina. Finalmente se secó en estufa a 90 °C durante 24 h, se pesó y se determinó la incorporación del ⁵⁹Fe remanente en sus paredes.

En este experimento también se extrajeron el bazo, el hígado y un fémur. Se pesaron cada uno de estos órganos y luego en un contador de pozo se determinó el % de incorporación del ^{59}Fe . Los valores fueron normalizados por peso seco de tejido para bazo (100 mg) hígado (1 g) e intestino (1 mg). En todos los casos se realizaron los controles hematológicos descriptos en el experimento anterior.

Protocolo Experimental Tipo III

Se realizó con ratas machos Wistar de 180 a 220 g de peso a las que sometió a una depleción de hierro produciendo anemia mediante la extracción por punción cardíaca de 2 ml de sangre por cada 100 g de peso, tres veces por semana. De esta manera se favorece la posterior absorción del Fe, con el objeto de evidenciar mejor los resultados. Una vez conseguida la anemia deseada se procedió a preparar un loop intestinal en la forma descripta precedentemente en el Protocolo Experimental II y se introdujo en su interior 1 μC de ^{59}Fe vehiculizado en la infusión de yerba mate. A los 120 minutos de efectuado esto se determinó la incorporación del ^{59}Fe en la sangre, hígado, bazo, fémur e intestino en la forma descripta anteriormente.

Protocolo Experimental Tipo III

Se realizó con ratas machos Wistar de 180 a 200 g de peso a las que se les administró la infusión de yerba mate por sonda gástrica, dos veces al día durante 10 semanas. En la octava semana, se les administró 2 μC de ^{59}Fe , tanto a las ratas tratadas como a los controles a las que sólo se les administró solución salina por sonda durante el tratamiento. Dos semanas después, bajo anestesia con eter sulfúrico se les extrajo sangre, bazo, hígado, fémur e intestino y se calculó la captación del ^{59}Fe en la forma descripta precedentemente.

RESULTADOS

Protocolo I

Los resultados obtenidos en las ratas machos están expresados en la Tabla 1, con valores promedios ± 1 error estándar del promedio. Se puede observar que no existen diferencias significativas en el peso corporal, el hematocrito, la hemoglobinemia, y el % de reticulocitos entre el grupo control y el que recibió la infusión de yerba mate durante todo el transcurso del experimento. Al sacrificar los animales, luego 60 días de tratamiento, el % de normoblastos en médula ósea no fue diferente en el grupo control ($13,9 \pm 1,5$) con respecto al tratado ($16,9 \pm 1,9$). Tampoco difirieron los valores de ferremia (180 vs. 202 $\mu\text{g} \%$) y de transferrina libre (304 vs. 322 $\mu\text{g} \%$) determinados en un animal control y un animal tratado.

Los resultados del mismo protocolo aplicado a ratas hembras están expresados en la Tabla 2. Como puede observarse no se hallan diferencias significativas entre los grupos control y tratado con infusión de yerba mate en ninguno de los parámetros estudiados durante todo el transcurso del experimento. Los valores de % de normoblastos al final del experimento fueron similares para el grupo control ($13,7 \pm 1,1$) y para el tratado con infusión de yerba mate ($14,6 \pm 1,3$). Tampoco difirieron los valores de ferremia (354 vs. 340 $\mu\text{g} \%$) y de transferrina libre (592 vs. 696 $\mu\text{g} \%$) determinados en un animal control y un animal tratado.

	Peso g				
	Destete	15 días	30 días	45 días	60 días
tratados	53,5±2	113,8±5	177,8±7	242±7	259±9
controles	54,5±3	120,0±7	171,0±10	241±9	259±11

	Hemoglobina %				
	Destete	15 días	30 días	45 días	60 días
tratados	10,4±0,4	11,8±0,6	11,9±0,4	13,1±0,2	13,3±0,2
controles	10,9±0,6	11,0±0,3	12,1±0,4	13,4±0,6	13,0±0,5

	Hematocritos %				
	Destete	15 días	30 días	45 días	60 días
tratados	34,1±1,1	34,4±1,1	33,6±0,6	36,0±0,4	35,8±0,6
controles	34,5±1,0	33,0±1,0	33,9±0,5	35,2±0,4	34,6±0,5

	Reticulocitos %				
	Destete	15 días	30 días	45 días	60 días
tratados	1,7±0,2	2,3±0,2	1,1±0,2	1,8±0,2	1,5±0,2
controles	1,5±0,3	1,8±0,3	0,9±0,3	1,6±0,2	1,0±0,2

Tabla 1. Valores hematológicos periódicos de las ratas machos que ingieren la infusión de mate desde el destete hasta los 60 días siguientes.

	Peso g	Ht %	Hb %	Reticulocitos %	Normoblastos en M. Osea %	Ferremia kg x 100	Transferrina total
tratadas	191±4,9	37±0,9	13,4±0,3	0,8±0,2	14,6±1,3	340	696
controles	192±3,8	36±1,2	12,7±0,5	0,4±0,07	13,7±1,1	354	592

Tabla 2. Valores hematológicos de ratas hembras luego de beber desde el día del destete durante 60 días una infusión de yerba mate.

Protocolo II

Como ya fue expresado, luego de permanecer en este experimento los animales crónicamente alimentados con la infusión de yerba, se les administró en el loop intestinal ⁵⁹Fe vehiculizado en agua destilada. Los resultados de la absorción a los 20, 40 y 120 minutos están expresados en la Tabla 3, resultando que la absorción del ⁵⁹Fe en los animales tratados es significativamente menor con respecto a los controles medidos en sangre e hígado a los 20 minutos, en sangre, hígado y fémur a los 40 minutos y en sangre, hígado, bazo y fémur a los 120 minutos. Los valores de la hemoglobina y del hematocrito son iguales en ambos grupos, tratados y no tratados.

		% peso sangre	% 1000 mg/peso Hígado	% 100 mg/peso Bazo	% Fémur	% x 1 mg/peso Intestino	Hb g/%	Ht %
20'	T	0,002±0,004	0,03	0,00	0,00	0,05	13,0	41,4
	C	0,25±0,03	0,07	0,00	0,02	0,04	13,8	41,8
		P= <0,001						
40'	T	0,13±0,02	0,09±0,03	0,01±0,003	0,06±0,001	0,06	13,3	41,5
	C	0,33±0,04	0,24±0,05	0,01±0,006	0,14±0,03	0,05	14,0	41,7
		P <0,005	P <0,005	NS	P=<0,05			
120'	T	0,03±0,01	0,07±0,05	0,01±0,004	0,11±0,02	0,06±0,01	14,2	45,0
	C	0,22±0,04	0,44±0,04		1,13±0,03	0,09±0,02	14,6	44,0
		P= <0,005	P= <0,005	P= <0,005	P <0,005	NS		

Tabla 3. Datos de la valoración de la absorción del Fe en diferentes períodos de tiempo posteriores a la introducción del mismo en el loop intestinal (20, 40 y 120 min), realizada en ratas recién destetadas con administración continuada de la infusión de yerba mate durante 60 días, al término del cual se inyectó ^{59}Fe . T: Tratados, C: Control

Protocolo III

Con el objeto de intensificar la absorción intestinal del Fe, tanto a los grupos tratados como a los controles se los sometió a las sangrías previas en la forma ya expuesta anteriormente. Preparados los animales con un loop intestinal, se le inyectó en el mismo ^{59}Fe vehiculizado en la infusión (animales tratados) o en agua destilada (controles). Luego de 120 minutos de permanencia en el loop se determinó la cantidad de ^{59}Fe absorbido. Los resultados expuestos en la Tabla 4 revelan una marcada inhibición de la absorción en los animales tratados.

	Sangre	Bazo	Hígado	Fémur	Intestino	Hb %	Ht %
Mate + ^{59}Fe	0,00	0,00	0,00	0,00	0,08	8,1	23
Sali + ^{59}Fe	0,51	0,42	0,3	1,41	0,07	8,4	24

Tabla 4. Valoración de la absorción del hierro en ratas anemizadas previamente y que no recibieron infusión de yerba mate por vía oral. Se realizó una inyección en el loop de hierro con infusión en el grupo tratado y con solución salina en el control. Los valores se midieron después de 120 min.

Protocolo IV

Como fue descripto, a los grupos tratados y controles se les administró crónicamente, dos veces por día, por sonda gástrica la infusión de yerba mate y 15 días antes de finalizar el experimento se les administró 2 μC de ^{59}Fe también por sonda gástrica con infusión en los animales tratados y solución salina en los controles. Los resultados de la incorporación de ^{59}Fe están expresados en la Tabla 5, en la que se puede observar que no existen diferencias significativas entre ambos grupos.

	Sangre	Hígado	Bazo	Fémur	Intestino
Tratados	0,23±0,05	0,33±0,09	0,03±0,01	0,03±0,01	0,00
Control	0,29±0,08	0,31±0,10	0,02±0,01	0,04±0,02	0,00

Tabla 5. Datos obtenidos en ratas con administración diaria por sonda gástrica de la infusión de yerba mate durante 10 semanas. En la octava semana se incorporó ⁵⁹Fe junto con la infusión.

DISCUSION

La influencia de la infusión de la yerba mate sobre la eritropoyesis y la absorción del hierro resultó diferente en los dos tipos de protocolos experimentales realizados: a) suministro de la infusión yerba mate y hierro marcado por vía oral y b) suministro de la infusión de la yerba mate por vía oral o en el loop intestinal, en ambos casos inyectando el hierro marcado directamente en el loop intestinal.

La obtención de valores hematológicos normales, tales como contenido de hemoglobina, hematocrito, reticulocitos, normoblastos de la médula ósea, ferremia y transferremia (que son expresiones de la eritropoyesis) en las ratas tratadas en el Protocolo I, muestran que el aporte de hierro, como el de otros factores también necesarios para la eritropoyesis, no se vieron afectados por la administración crónica de la infusión de yerba mate y fueron absorbidos normalmente.

Los valores medidos en sangre, hígado, bazo, fémur e intestino demuestran una marcada disminución de la absorción del hierro en los animales tratados en los protocolos II y III en los que el hierro marcado fue directamente administrado en el loop intestinal. Este resultado parece ser independiente de si la infusión de yerba mate fue administrada oralmente (II) o en el loop (III) y en ambos casos la disminución de los valores se incrementan a partir de los 20 a 120 min de permanencia del ⁵⁹Fe en el loop. Estos resultados sugieren que la infusión de yerba mate modifica la disponibilidad de hierro para ser absorbido en el intestino salvo si ha pasado previamente por el estómago junto con el hierro.

Los animales del Protocolo IV, a los que se les administró la infusión y el ⁵⁹Fe por una sonda gástrica, no muestran diferencias significativas en los valores medidos con respecto a los controles. Esto nos permite comprobar que cuando el ⁵⁹Fe incorporado a la infusión es administrado oralmente y pasa por el estómago, la absorción es normal.

De acuerdo a lo observado en los diferentes experimentos podemos concluir que cuando la infusión de yerba mate es ingerida y pasa por el estómago no tiene ningún efecto sobre la absorción del Fe; en cambio cuando se deposita directamente en el duodeno por medio de un loop intestinal, ya sea que el ⁵⁹Fe esté vehiculizado en solución acuosa o en la infusión de la yerba mate, se encuentra una significativa disminución de la absorción.

Interpretamos estos resultados como debidos a una modificación de la solubilidad del Fe al ser incorporado directamente en el duodeno posteriormente a la administración de la infusión. Estas alteraciones impedirían que el Fe se mantenga en estado iónico, forma química requerida para su absorción, a la vez que los receptores, que están preparados para ligar el Fe en determinadas condiciones, no

reaccionarían con la especificidad normal. Existe además la posibilidad de transformaciones en las proteínas mediadoras en el duodeno, descritas como factores necesarios para la absorción del Fe. No es improbable que los polifenoles que se encuentran en la infusión, especialmente el ácido clorogénico detectado en los extractos de yerba mate utilizados en los experimentos, tengan alguna participación en lo observado. Este aspecto es objeto de estudios en curso.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ishikura, N. (1971) *Phytochemistry* **10**: 2513-17
2. Filip R., D.I. De Iglesias, R.V.D. Rondina & J.D. Coussio (1983) *Acta Farm. Bonaerense* **2**: 87-90
3. Alikaridis, F. (1987) *J. Ethnopharmacol.* **20**:121-44
4. Ricco, R.A., M.L. Wagner & A.A. Gurni (1991) *Acta Farm. Bonaerense* **10**: 29-35
5. Rosovsky de Cernadas, R. (1983) *Contribución a la bibliografía de la yerba mate*. Departamento de Tecnología de Alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Industrial SUBCYT. Bs. As., 122 pp.
6. Markham, K.R. (1982) *Biological Techniques Series*. Academic Press. London - New York
7. Harborne, J.B. (1991) *Phytochemical Methods*. Ed. Chapman and Hall. London - New York
8. Descartes R de García P. (1956) *Rev. Brasil. Quim.* (Sao Paulo). **42**: 202-94
9. Roberts, E.A.H. (1956) *Chem. Ind.* **37**: 37-85