

## Efecto hepatoprotector del Noni-C® en la intoxicación experimental inducida por tetracloruro de carbono

### Noni-C® hepatoprotective effect in experimental intoxication induced by carbon tetrachloride

MSc. María del Carmen Jiménez Martínez, DraC. Teresita Montero González, MSc. Sara M. Martínez Martín, MSc. Maura García Sánchez, DrC. José Luis Pérez de Alejo

Hospital Militar Central " Dr. Luis Díaz Soto". La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** las enfermedades hepáticas son un serio problema de salud y la carencia de un tratamiento efectivo en la medicina moderna hace que aumenten los esfuerzos por hallar medicamentos naturales apropiados.

**Objetivo:** determinar el efecto hepatoprotector del producto natural Noni-C® en la intoxicación experimental por tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>).

**Métodos:** estudio experimental en ratas Wistar macho; se emplearon cuatro grupos de trabajo, uno control negativo, uno control positivo tratado con CCl<sub>4</sub> y dos experimentales tratados con Noni-C® a las dosis 200 y 400 mg/kg de peso corporal durante 21 días, más CCl<sub>4</sub> postratamiento con Noni-C® por 3 días a la dosis 0,5 mL/kg intraperitoneal. Se determinaron los niveles de transaminasa glutámico pirúvica y glutámico oxalacética. Se realizó análisis histopatológico para determinar lesión hepática y renal de diferente grado.

**Resultados:** se obtuvo reducción significativa de la transaminasa glutámico pirúvica al comparar las dosis de 200 y 400 mg/kg. Se observó disminución de las lesiones histopatológicas hepáticas y renales, de esteatosis hepática severa a leve y moderada, y de necrosis tubular aguda a tumefacción celular moderada, respectivamente, a la dosis 400 mg/kg de Noni-C®.

**Conclusión:** el tratamiento preventivo con Noni-C® a la dosis 400 mg/kg reduce la gravedad del daño hepático resultante de la intoxicación por CCl<sub>4</sub>. Por las características químico-físicas del producto y la variedad de compuestos identificados en el fruto, entre ellos vitaminas y minerales que contribuyen con su capacidad antioxidante, se recomienda su estudio en la prevención de enfermedades hepáticas.

**Palabras clave:** Noni-C®, transaminasa glutámico oxalacética, transaminasa glutámico pirúvica, CCl<sub>4</sub>, hígado, riñón, modelo experimental.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** liver diseases are a serious health problem and the lack of effective treatment in modern medicine drives up efforts to find suitable natural medicines.

**Objective:** determine the hepatoprotective effect of Noni-c® natural product in experimental poisoning carbon tetrachloride (CCL<sub>4</sub>).

**Methods:** an experimental study was conducted in wistar male rats; four working groups were formed: one negative control, a positive control treated with CCL<sub>4</sub> and two experimental Noni-c® treated at doses 200 and 400 mg/kg body weight for 21 days, plus CCL<sub>4</sub> after treatment with Noni-C® for 3 days in 0.5 mL/kg dose intraperitoneally. Levels of glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase were determined. Histopathological analysis was performed to determine liver and kidney damage at different levels.

**Results:** significant reduction in glutamic pyruvic transaminase was observed when comparing 200 and 400 mg/kg doses. Decrease liver and kidney histopathological lesions, severe to mild and moderate hepatic steatosis were observed; acute tubular necrosis or moderate cell swelling, respectively, at 400 mg/kg Noni-c® dose was also observed.

**Conclusion:** preventive treatment at 400 mg/kg Noni-c® dose reduced the severity of liver damage resulting from CCl<sub>4</sub> poisoning. Due to the chemical-physical product features and variety of compounds identified in this fruit, including vitamins and minerals which contribute as antioxidant, its study is recommended in preventing liver diseases.

**Keywords:** Noni-C®, glutamic oxaloacetic transaminase, glutamic pyruvic transaminase, CCl<sub>4</sub>, liver, kidney, experimental model.

---

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas son un serio problema de salud y la carencia de un tratamiento efectivo en la medicina moderna hace que aumenten los esfuerzos por hallar medicamentos naturales apropiados. Se ha prestado especial interés a agentes hepatoprotectores de origen natural, pues muchas plantas medicinales ya son utilizadas como tales en el folclor médico.<sup>1</sup>

La planta medicinal *Morinda citrifolia* Linn, de la clase Magnoliopsida y la familia Rubiaceae, tiene amplia distribución en el mundo y es una de las numerosas plantas medicinales que se han usado desde hace más de 2 000 años. Aunque el nombre noni es el más popular, otras culturas le dan diversas denominaciones, por ejemplo: nhau, mengkudum, manzana de los cerdos, nonu, fruta del queso, nono, mora India, lada, árbol que quita el dolor, nigua, entre otros.<sup>2,3</sup>

Se han identificado variedad de compuestos, fundamentalmente en el fruto: terpenos, alcaloides (xeronina, proxeronina), enzimas (proxeronasa, broncalina), flavonoides (quercetin), polisacáridos (damnacanthal), morindona, morindina, antraquinonas, aminoácidos, fitonutrientes, selenio, escopoletina, acubina, alzarina, ácido caproico, ácido caprílico, norepinefrina, 5 vitaminas y 3 minerales, antibióticos naturales, 17 aminoácidos de los 20 conocidos (incluidos los 9 esenciales), entre otros,<sup>3-5</sup> a los que se le han atribuido numerosos efectos beneficiosos.

Estudios etnomédicos revelan muchas cualidades beneficiosas del fruto del noni y un amplio rango de propiedades medicinales, entre estas: actividades antibacterianas; para afectaciones pulmonares como asma; inhibe la formación de coágulos en la sangre; antihelmíntico, analgésica, úlceras gástricas, dolores menstruales, antitumoral (cáncer) y alergias; disuelve cálculos en riñón; reversa los efectos del envenenamiento de pescado e intoxicación de otras hierbas; ayuda contra la tuberculosis; ha disminuido los síntomas de VIH, esclerosis múltiple y parálisis.<sup>2,3</sup>

La presencia de estudios de toxicidad de *Morinda citrifolia* (noni) en ratas Sprague Dawley<sup>6,7</sup> y del producto Noni-C® (no se encontraron signos de toxicidad a las dosis de 2 g/kg),<sup>8</sup> demuestra la reducción del daño hepático como resultado de la administración de tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>).<sup>9</sup> Estos hallazgos constituyen la principal motivación para realizar otro estudio con el objetivo de determinar el efecto hepatoprotector del Noni-C® ante el daño causado por CCl<sub>4</sub>, en modelo experimental en ratas.

## MÉTODOS

Se realizó un estudio experimental en el Departamento de Investigaciones Médico Militares del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto", entre enero y junio de 2013.

Se utilizó el producto natural Noni-C®, un preparado en polvo 100 % puro obtenido a partir del fruto maduro del noni (*Morinda citrifolia*), por la Planta Procesadora Especial ubicada en la carretera al Dique y Rotonda Naval, en Habana del Este, Habana, con número de lote 61103.

El análisis de varias muestras de lotes del producto reveló poca variación entre estas y mostró que el producto Noni-C® posee una composición químico-física adecuada para sus características. Se expone como promedio una humedad de  $7,44 \pm 0,10$ ; el contenido de sólidos totales en %:  $92,57 \pm 0,10$ ; de sólidos insolubles:  $91,72 \pm 0,12$  y de sólidos solubles:  $0,85 \pm 0,04$ ; así como pH (10 %):  $3,87 \pm 0,08$  y pH (1 %):  $4,08 \pm 0,03$ . Los resultados microbiológicos de muestras de lotes del producto reflejaron conteo de mesófilos en el orden de  $10^2$ ; y de levaduras, mohos y coliformes menores que 10 ufc/g.

Se utilizó como animal de experimentación 24 ratas Wistar macho, producidas por el Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), con un peso promedio de  $230 \pm 15$  g.

Los animales se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos de trabajo. Los animales de los grupos de experimentación se trataron por un período de 21 días con el producto natural (Noni-C®) y posteriormente se expusieron a una intoxicación por el CCl<sub>4</sub> intraperitoneal durante 3 días.

El daño hepático se indujo por CCl<sub>4</sub> a la dosis de 0,5 mL/kg de peso por vía intraperitoneal según Procedimientos Normalizado de Operación del Departamento de Investigaciones del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".

Se administró 1 mL por vía oral de una preparación que contenía agua estéril para inyección y la dosis de 200 y 400 mg de Noni-C® por kg de peso corporal, según grupo.

Los grupos de trabajo se formaron por seis animales cada uno:

I control negativo, tratado con agua estéril para inyección.

- II control positivo, tratado con CCl<sub>4</sub> a la dosis de 0,5 mL/kg.
- III experimental, tratado con Noni-C® a la dosis de 200 mg/kg de peso + CCl<sub>4</sub>.
- IV experimental, tratado con Noni-C® a la dosis de 400 mg/kg de peso + CCl<sub>4</sub>.

El sacrificio de todas las ratas se realizó previa anestesia con Halotano por vía inhalatoria para obtener muestra de sangre a través de la vena femoral. Inmediatamente a la muerte se extrajo el hígado y los riñones para análisis histopatológico.

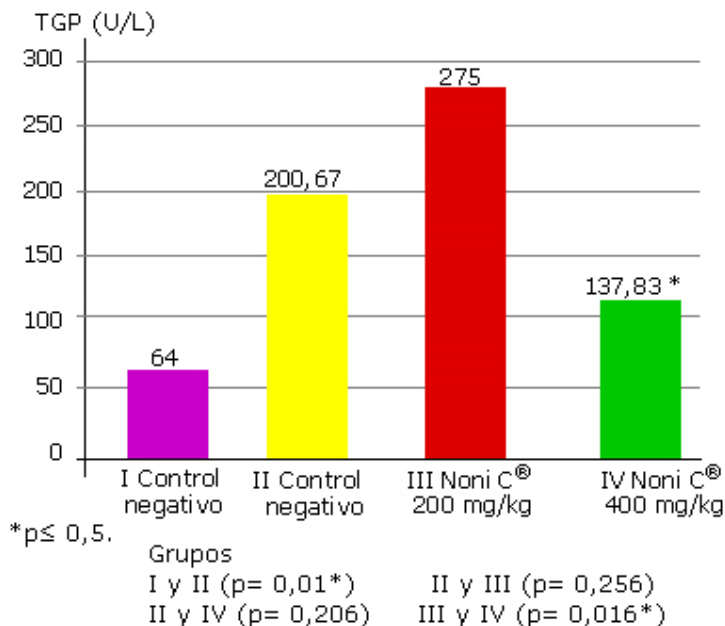
La sangre se recolectó en tubos de 13 x 10 sin anticoagulante, para la obtención de suero mediante centrifugación a 3 000 rpm durante 15 min en centrifuga MLW 54. El suero obtenido fue separado y cuantificado para la determinación de transaminasa glutámico pirúvica (TGP) y transaminasa glutámico oxalacética (TGO) en el equipo analizador automático de química clínica Hitachi modelo 705.

Para el estudio histopatológico los órganos fueron recortados en bloques pequeños de  $\pm 1$  cm, colocados en un procesador de tejido, lavados e incluidos en parafina para realizar cortes más finos. Se utilizó la tinción de hematoxilina-eosina y finalmente las láminas se observaron en un microscopio óptico marca Leica; las lesiones a evaluar fueron: presencia de tumefacción celular, esteatosis y necrosis en hígado; tumefacción celular y necrosis tubular aguda (NTA) en riñón.

Los datos se recolectaron en una base de datos elaborada en Excel. Se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS 11.5 para Windows. Para detectar diferencias significativas entre grupos se utilizó la prueba no paramétrica de *Mann-Whitney*. El nivel de significación se fijó en  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Entre los valores de las TGP de los grupos de estudio no se encontró diferencia significativa al comparar el grupo de intoxicación por  $\text{CCl}_4$  a la dosis de 0,5 mL/kg de peso con los grupos tratados con Noni-C®. Sin embargo, se obtuvo reducción significativa de este parámetro al comparar las dosis de 200 y 400 mg/kg. (Fig. 1).

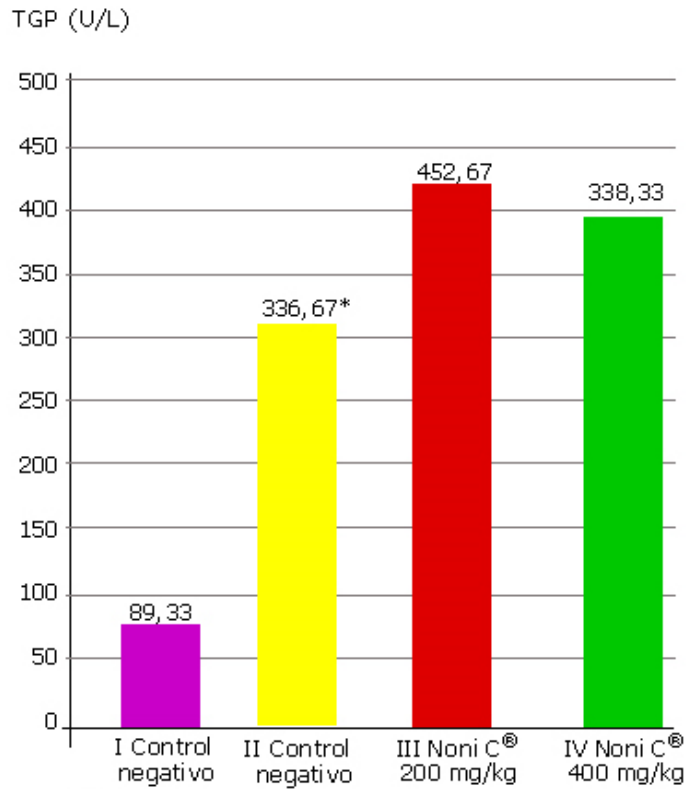


**Fig. 1.** Valores de la transaminasa glutámico pirúvica (TGP), expresados como media, por grupos.

Al comparar los valores de las TGO de los grupos de estudio tampoco se observó disminución significativa de este parámetro en los grupos tratados con Noni-C® (Fig. 2).

Los resultados obtenidos en el estudio histopatológico de los grupos II, III y IV (tabla) son:

- Grupo II: esteatosis hepática severa con mayor grado de desorganización del lobulillo hepático y en el riñón necrosis tubular aguda (NTA) en grado leve de lesión, es decir, afectando solo aislados túmulos renales, con la presencia de cilindros hialinos y descamación de células al epitelio renal.
- Grupo III: esteatosis hepática macro y micronodular, así como áreas de necrosis hepatocelular y hepatitis reactiva; en el riñón NTA leve.
- Grupo IV: esteatosis hepática entre leve y moderada, y en riñón tumefacción celular moderada.



\*p ≤ 0,5.

Grupos

I y II (p= 0,007\*)      II y IV (p= 0,983)

II y III (p= 0,238)    III y IV (p= 0,084\*)

**Fig. 2.** Valores de la transaminasa glutámico oxalacética (TGO), expresados como media, por grupos.

**Tabla.** Resultado del análisis histopatológico

Lesión histopatológica	Grupo		
	II	III	IV
<b>Hígado</b>			
Tumefacción celular	No	No	No
Hepatitis reactiva	No	Sí	No
Esteatosis	Severa	Marcada	Leve y moderada
Necrosis	No	Sí	No
<b>Riñón</b>			
Tumefacción celular		No	moderada
NTA	Leve	Menos Leve	No

NTA: necrosis tubular aguda.

## DISCUSIÓN

El daño hepático causado por  $\text{CCl}_4$  (halógeno alifático) en animales de experimentación simula la hepatitis viral en el humano. El efecto tóxico del  $\text{CCl}_4$  es debido a su conversión en radicales libres de tetraclorometilo ( $\text{CCl}_3$ ) altamente tóxicos por el sistema citocromo P450, que inician la peroxidación lipídica cuando se combinan con los lípidos y proteínas de la célula en presencia de oxígeno para formar el radical tetraclorometil peroxil ( $\text{CCl}_3\text{O}^\cdot$ ), el cual ataca a las células.<sup>10-12</sup>

La liberación de productos de la peroxidación lipídica causa daño de la membrana plasmática a causa del incremento de su permeabilidad. Seguido de la hinchazón progresiva de la célula con entrada masiva de calcio que conduce a la célula a la muerte. El incremento de los niveles de TGP y TGO es una clara expresión de presencia de células dañadas y pérdida de la integridad funcional de la membrana celular.<sup>10-13</sup> lo cual se observó en el grupo tratado con  $\text{CCl}_4$ .

Estudios encaminados a determinar el efecto hepatoprotector de derivados de productos naturales señalan que esta propiedad en modelo de daño hepático inducida por  $\text{CCl}_4$ , está relacionada con la propiedad antioxidante o inhibición de la generación de radicales libres.<sup>12,14</sup>

En estudio realizado por *Wang* y otros<sup>15</sup> se encontró necrosis micro-centrilobular en daño hepático inducido por  $\text{CCl}_4$ , así como disminución significativa de los niveles de transaminasas y de las lesiones hepáticas con la administración de un jugo de noni posintoxicación.

Los flavonoides, compuestos fenólicos, polifenoles, vitaminas C y E, entre otros son sustancias aisladas en productos naturales con capacidad antioxidante y hepatoprotectora y que sugieren protección tisular frente al estrés oxidativo.<sup>16</sup> En la fruta de noni se destaca su alto contenido en vitamina C, así como minerales (manganeso, selenio), flavonoides, alcaloides (proxeronina), entre otros.<sup>17</sup> Estos compuestos son importantes en los mecanismos que involucran radicales libres como es el daño hepático inducido por  $\text{CCl}_4$  y en la regeneración tisular posterior.

A pesar que la TGP tiene un elevado grado de especificidad hepática ante el daño celular, la TGO responde a la agresión celular en otros tejidos y órganos como músculo cardíaco, cerebro, riñones y músculo esquelético, de aquí sus valores más elevados. Es por esto que también se realiza estudio histopatológico de los riñones para el efecto protector del Noni-C® sobre este órgano y la evolución de las lesiones ocasionadas por  $\text{CCl}_4$ .

A partir del ensayo realizado se concluye que el tratamiento preventivo con Noni-C® a la dosis 400 mg/kg reduce la gravedad del daño hepático resultante de la intoxicación por  $\text{CCl}_4$ .

Al conocer las características químico-físicas del producto y la variedad de compuestos identificados en el fruto, entre ellos vitaminas y minerales que contribuyen con su capacidad antioxidante, se recomienda su estudio en la prevención de enfermedades hepáticas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malgorizata Kujaswska, Jadwiza JL. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* L. on carbon tetrachloride- induced oxidative stress in rats. IJEB. 2007; 45(8):702-11.
2. Nirda E, González Lavaut JA. *Morinda citrifolia* Linn.: potencialidades para su utilización en la salud humana. Rev Cubana Farm. 2003;37(3):1-7.
3. Mian-Ying W, West Brett J, Jensen CJ, Nowicki D, Chen Su Palu Afa K, Anderson G. *Morinda citrifolia* (Noni): A literature review and recent advances in Noni research. Acta Pharmacol Sin. 2002;23(12):1127-41.
4. Farine JP, Legal L, Moreteau B, Le Quere JL. Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on drosophila. Phytochemistry. 1996;41(2):433-8.
5. Wang M, Kikuzak H, Jin Y, Nakatani NI, Zhu N, Csiszar K. Novel glycosides from noni (*Morinda citrifolia*). J Nat Prod. 2000;63(8):1182-3.
6. Mancebo A, Scull I, González Y, Arteaga ME, González BO, Fuentes D, et al. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. Rev Toxicol. 2002;19(2):73-8.
7. West BJ , Su CX, Jensen CJ. Hepatotoxicity and subchronic toxicity tests of *Morinda citrifolia* (noni) fruit. J Toxicol Sci. 2009;34(5):581-5.
8. Arteaga Pérez ME, Pérez Alejo JL, González Triana C, Bada Barro AM, González Navarro BO. Clasificación toxicológica aguda del fruto seco pulverizado de *Morinda citrifolia* L.(NONI-C)® en ratas Cenp: SPRD. Rev Cubana Plant Med [revista en la Internet]. 2009 Dic [citado 2014 Oct 08];14(4). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962009000400006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000400006&lng=es)
9. Jiménez Martínez MC, Maceira Cubiles MA, Martínez Martín SM, Pérez de Alejo JL, Montero González T. Efecto de Noni C sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratas. Rev Cubana Plant Med. 2013;18(1):92-9.
10. Wang MY, Nowicki D, Anderson G, Jensen J, West B. Liver protective effects of *Morinda citrifolia* (Noni). Plant Foods Hum Nutr. 2008 Jun;63(2):59-63.
11. Vidya SM, Krishnar V, Manjunatha BK. Evaluation hepatoprotective activity of *Clerodendrum serratum* L. IJEB. 2007;45(6):538-42.
12. Agarwal M, Srivastava VK, Saxena KK, Kumar A. Hepatoprotective activity of Beta vulgaris against CCl4-induced hepatic injury in rats. Fitoterapia. 2006;77(2):91-3.
13. Pramod Kumar Deval Rao G, Lakshmayya Ramachandra Setty S. Antioxidant and hepatoprotective activity of tubers of *Momordica tuberosa* Cogn. Against CCL<sub>4</sub> induced liver injury in rats. IJEB. 2008;46(7):510-3.
14. Rao GM, Rao GV, Pushpangadan P, Shriwaikar A. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of *Rubia cardifolia* Linn. J Ethnopharmacol. 2006;103(3):484-90.



15. Deng JS, Chang YC, Wen CL, Liao JC, Hou WC, Amagaya S, et al. Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Vitis thunbergii* on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats through anti-oxidative activities. *Ethnopharmacol.* 2012; 142(3): 795-803.
16. Sandoval M, Lazarte K, Arnao I. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). *An Fac Med (Lima)*. 2008; 69(4): 250-9.
17. West Brett J, Deng S, Jarakae Jensen C. Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. References and further reading may be available for this article. To view references and further reading you must purchase this article. *Food Research International*. 2011 August; 44(7): 2295-301.

Recibido: 1 de octubre de 2014.

Aprobado: 11 de octubre de 2014.

*María del Carmen Jiménez Martínez*. Departamento de Investigaciones Médico Militares. Hospital Militar Central " Dr. Luis Díaz Soto". Ave. Monumental y Carretera del Asilo, CP 11700, La Habana, Cuba. Correo electrónico: [navaldimm@infomed.sld.cu](mailto:navaldimm@infomed.sld.cu), [mcarmenjm@infomed.sld.cu](mailto:mcarmenjm@infomed.sld.cu)