

Efecto de Noni C sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratas

Effect of Noni C on the carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats

MSc. María del Carmen Jiménez Martínez, Lic. María Acelia Maceira Cubiles, MSc. Sara M. Martínez Martín, Dr. C. José Luis Pérez de Alejo, Dr. C. Teresita Montero González

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

RESUMEN

Introducción: las enfermedades hepáticas son un serio problema de salud. El estudio de agentes de origen natural que disminuyan el daño hepático inducido por sustancias químicas ha despertado un interés especial.

Objetivo: evaluar el efecto del Noni C sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono, en modelo experimental desarrollado en ratas Wistar machos.

Métodos: se realizó estudio experimental y se usó como control positivo el tetracloruro de carbono a dosis de 0,3 mL/kg de peso, intraperitoneal, durante 3 días; y como control negativo solución salina. Se utilizaron 4 dosis (85, 130, 170 y 215 mg/kg de peso) de Noni C durante 6 días, postratamiento con tetracloruro de carbono. Se determinaron niveles de transaminasa glutámico pirúvica y glutámico oxalacética; también lesión hepática como tumefacción celular, hepatitis reactiva, esteatosis y necrosis.

Resultados: se obtuvo reducción significativa de las transaminasas glutámico pirúvica y glutámico oxalacética a las dosis de 85 y 170 mg/kg de Noni C, y ausencia de necrosis y esteatosis en los grupos tratados con las dosis de 170 y 215 mg/kg de peso.

Conclusiones: en los grupos tratados con Noni C disminuyó el daño hepático inducido por el tetracloruro de carbono.

Palabras clave: noni, transaminasa glutámico pirúvica, transaminasa glutámico oxalacética, rata, tetracloruro de carbono, daño hepático, modelo experimental.

ABSTRACT

Introduction: liver diseases are a serious health problem. The study of natural agents that can reduce the chemical substance-induced hepatic damage has aroused a particular interest.

Objective: to evaluate the effect of Noni C on the carbon tetrachloride-induced hepatic damage in an experimental model developed in male Wistar rats. Methods: An experimental study was conducted in which the positive control was carbon tetrachloride at a dose of 0.3 mL/kg of weight, intraperitoneally administered for 3 days, and the negative control was saline solution. Four doses of Noni C (85, 130, 170 and 215 mg/kg of weight) were administered for 6 days, after treatment with the carbon tetrachloride. glutamic piruvic and glutamic oxaloacetic transaminase levels were determined, as well as hepatic lesions such as cell tumors, reactive hepatitis, steatosis and necrosis.

Results: glutamic piruvic and glutamic oxaloacetic transaminases levels significantly decreased at doses of 85 and 170 mg/kg of Noni C, and no necrosis or steatosis was observed in the groups treated with 170 and 215 mg/kg doses.

Conclusions: the carbon tetrachloride-induced hepatic damage diminished in the groups treated with Noni C.

Key words: Noni, glutamic piruvic transaminase, glutamic oxaloacetic transaminase, rat, carbon tetrachloride, hepatic damage, experimental model.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas son un serio problema de salud. La carencia de un tratamiento efectivo en la medicina moderna hace que se aumenten los esfuerzos por hallar drogas apropiadas. El estudio de agentes de origen natural que disminuyan el daño hepático inducido por sustancias químicas, ha despertado un interés especial.¹

La planta *Morinda citrifolia* L., de la clase Magnoliopsida y la familia Rubiaceae, de amplia distribución en el mundo, comúnmente conocida por noni, es una de las numerosas plantas medicinales cuyo uso viene desde hace más de 2 000 años. Aunque el nombre hawaiano noni es el más popular, otras culturas lo conocen por diferentes nombres, por ejemplo, en el sudeste asiático se conoce como nhau, en Malasia como mengkudum, en las islas Caimán como manzana de los cerdos, en Samoa Tonga como nonu, en Australia como fruta del queso, en Tahití como nono, en otros sitios como mora India, lada, árbol que quita el dolor, nigua, y otros.^{2,3}

Se le han identificado variedad de compuestos, fundamentalmente en el fruto: terpenos, alcaloides (xeronina, proxeronina), enzimas (proxeronasa, broncalina), flavonoides (quercetin), polisacáridos (damnacanthol), 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,³⁻⁵ a los que se le han atribuido numerosos efectos beneficiosos.

Estudios etnomédicos revelan muchas cualidades beneficiosas del fruto de noni y un amplio rango de propiedades medicinales originado de las diferentes partes de la planta. Entre estas, el fruto y las hojas ejercen actividad antibacteriana, la raíz es útil para las afectaciones pulmonares como asma, las hemorroides e inhibe la formación de coágulos en la sangre. Otras acciones y usos atribuidos son: antifúngico, antihelmíntico, analgésica, artritis, úlceras gástricas, dolores menstruales, antitumoral (cáncer), en la digestión, alergias, riñón (disuelve los cálculos), reversa los efectos del envenenamiento de pescado o de las mordeduras de pescado, cancela los efectos de intoxicación de otras hierbas, ayuda contra la tuberculosis, se han disminuido los síntomas de VIH, esclerosis múltiple y parálisis.^{2,3}

Las potencialidades para el empleo en medicina humana, sus muchos usos, la presencia de estudios de toxicidad de *Morinda citrifolia* (noni) en ratas *Sprague Dawley*^{6,7} y del producto Noni C[®], en los cuales no se encontraron signos de toxicidad a la dosis de 2 g/kg;⁸ así como su introducción en Cuba donde puede ser ampliamente cultivada y empleada con fines medicamentosos; son el impulso para realizar el presente estudio con el objetivo de determinar el efecto del Noni C, preparado en polvo del noni, sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono (CCl₄), en modelo experimental desarrollado en ratas *Wistar* macho.

MÉTODOS

Sustancia de ensayo

Se utilizó el Noni C, un preparado en polvo 100 % puro obtenido a partir del fruto maduro del noni (*Morinda citrifolia*), elaborado por la planta procesadora especializada ubicada en la carretera al Dique y Rotonda Naval, en Habana del Este, La Habana, con número de lote 61103. El fruto higienizado se fragmentó y secó en secadero solar durante un período de 5 a 7 días hasta alcanzar una humedad residual no mayor que 10 %, y pulverizado hasta obtener polvo fino que antes del envasado final se sometió a control físico químico y microbiológico para evaluar su calidad.

La administración se realizó por vía oral con previa preparación de una solución de la dosis del Noni C por kg de peso corporal en un 1 mL de agua estéril.

Animal de experimentación

Se utilizó como animal de experimentación rata *Wistar* macho proveniente del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), con un peso promedio de 250 ± 15 g, después de una semana de climatización en el vivario con condiciones de alimentación y hospedaje según las normas establecidas para el mantenimiento y la utilización de los animales de experimentación.

Modelo experimental

El daño hepático se indujo por CCl₄ a la dosis de 0,3 mL/kg de peso por vía intraperitoneal según procedimiento normalizado de operación del Departamento de Investigaciones del Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto".

Los animales se dividieron en 5 grupos. Los de los grupos de experimentación se expusieron a intoxicación por CCl₄ intraperitoneal durante 3 días y después, a partir del día 3, a tratamiento con Noni C por un período de 6 días.

Tratamiento por grupos

I: control negativo, agua estéril.

II: control positivo, agua estéril + CCl₄ (0,3 mL/kg de peso).

III: experimental, CCl₄ (0,3 mL/kg de peso) + noni a dosis de 85 mg/kg de peso.

IV: experimental, CCl₄ (0,3 mL/kg de peso) + noni a dosis de 130 mg/kg de peso.

V: experimental, CCl₄ (0,3 mL/kg de peso) + noni a dosis de 170 mg/kg de peso.

VI: experimental, CCl₄ (0,3 mL/kg de peso) + noni a dosis de 215 mg/kg de peso.

Obtención de las muestras

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 extrae hígado para análisis histopatológico.

Procesamiento de las muestras

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, Alemania. El suero obtenido se separó y cuantificó para la determinación de transaminasa glutámico pirúvica (TGP) y transaminasa glutámico oxalacética (TGO). Se utilizó el método de análisis del protocolo de trabajo del analizador de química clínica Hitachi 705.

Para el estudio histopatológico, los órganos se recortaron en bloques pequeños de ± 1 cm, se colocaron en un procesador de tejido, se lavaron e incluyeron 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; se evaluaron las lesiones de presencia de tumefacción celular, hepatitis reactiva, esteatosis y necrosis.

Análisis estadístico

Los datos se recolectaron en una base de datos 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 $p < 0,05$. Los resultados se reflejaron en tablas y gráficos.

RESULTADOS

En la tabla 1 se observa una disminución significativa de los valores alcanzados de TGP, con el empleo del Noni C a las dosis de 85 y 170 mg/kg de peso con respecto al grupo tratado con CCl₄. Se compararon las medias de los grupos como sigue:

I vs. II ($p = 0,623$), II vs. III ($p = 0,042$), II vs. IV ($p = 0,121$), II vs. V ($p = 0,013$), II vs. VI ($p = 0,119$).

Tabla 1. Comportamiento de transaminasa glutámico pirúvica

Grupos	N	Media	DE	Media ± DE	P1
I	10	65,4	18,88	46,52 ± 84,28	
II	9	62,4	9,16	53,24 ± 71,56	0,623
III	9	49,1	10,98	38,12 ± 60,08	0,042*
IV	9	63,2	33,66	29,64 ± 96,86	0,121
V	9	53,55	5,36	48,19 ± 58,91	0,013*
VI	10	56,1	8,17	47,93 ± 64,27	0,119

* significativo $p < 0,05$.

En la tabla 2 se observa una disminución significativa de los valores alcanzados de TGO, con el empleo de Noni C a las dosis 85 y 170 mg/kg de peso con respecto al grupo tratado con CCl_4 . Las medias de los grupos se compararon como sigue:

I vs. II ($p = 0,220$), II vs. III ($p = 0,030$), II vs. IV ($p = 0,157$), II vs. V ($p = 0,005$), II vs. VI ($p = 0,111$)

Tabla 2. Comportamiento de la transaminasa glutámico oxalacética

Grupos	N	Media	DE	Media ± DE	P1
I	10	100,8	33,66	67,14 ± 134,46	
II	9	114,55	37,5	77,05 ± 152,05	0,220
III	9	85,88	16,91	68,97 ± 102,79	0,030*
IV	9	97,55	27,22	70,33 ± 124,77	0,157
V	9	79,88	11,59	68,29 ± 91,57	0,005*
VI	10	91,2	19	72,2 ± 110,2	0,111

* significativo $p < 0,05$.

Se realizó estudio histopatológico a los grupos controles positivos y experimentales V y VI; se obtuvo lo siguiente:

Grupo II: se observó esteatosis hepática a microgotas y macrogotas, fundamentalmente perivenular, desorganización del parénquima y necrosis en algunos hepatocitos.

Grupo V: existió una tumefacción celular hepática moderada con abundante hepatitis reactiva y tendencia a la desorganización del parénquima.

Grupo VI: se observaron cambios más leves en la tumefacción celular y menor intensidad en la hepatitis reactiva.

Estos resultados se reflejaron de forma sintetizada en la tabla 3.

Tabla 3. Resultado del análisis histopatológico de hígado

Análisis histopatológico de hígado	Grupo		
	II	V	VI
Tumefacción celular		Moderada	Leve
Hepatitis reactiva		Marcada	Moderada
Esteatosis	Moderada		
Necrosis	Sí		

DISCUSIÓN

El daño hepático causado por CCl_4 en animales de experimentación simula la hepatitis viral en el humano. El efecto tóxico de CCl_4 es debido a su conversión en radicales libres de tiorometilo (CCl_3) altamente tóxicos, por la acción del complejo enzimático citocromo P450, que se combinan con los lípidos y proteínas de la célula en presencia de oxígeno para formar el radical triclorometil peroxil ($\text{CCl}_3\text{O}^\cdot$) el cual ataca a las células.^{9,10}

La formación de peróxidos orgánicos después de la reacción con oxígeno guía al retículo endoplásmico a la hinchazón, alisamiento de su estructura y disociación de los ribosomas que forman parte de él. Le sigue el cúmulo de lípidos, debido a la incapacidad de la célula de sintetizar proteínas a partir de los triglicéridos; lo cual conduce al hígado graso. La ulterior liberación de productos de la peroxidación lipídica causa daño de la membrana plasmática a causa del incremento de su permeabilidad. Esto es seguido de la hinchazón progresiva de la célula con entrada masiva de calcio que conduce la célula a la muerte. El incremento de los niveles de TGP y TGO es la clara expresión de presencia de células dañadas y pérdida de la integridad funcional de la membrana celular;⁹⁻¹¹ lo cual se vio en los grupos tratados con CCl_4 .

En un estudio¹² se encontró necrosis micocentrilobular en daño hepático inducido por CCl_4 y disminución significativa de los niveles de transaminasas y las lesiones hepáticas con la administración de un jugo de noni.

Aunque se han reportado casos de hepatitis^{13,14} por la ingestión de jugo de noni, otros estudios afirman que es improbable la producción de este efecto adverso sobre el hígado,^{7,12} que lo atribuyen al procesamiento, contaminantes microbianos o adulterantes peligrosos.⁷ Estudios en animales y humanos han demostrado que el jugo de Noni no es hepatotóxico.¹²

Los flavonoides, compuestos fenólicos, fitatos, 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.¹⁵ En la fruta de Noni C se destaca su alto contenido en vitamina C, así como minerales (manganeso, selenio), flavonoides, alcaloides (proxeronina), entre otros.¹⁶ Estos compuestos son importantes en los mecanismos que involucran radicales libres como es el daño hepático inducido por CCl_4 y en la regeneración tisular posterior.

En la investigación realizada con ratas previamente tratadas con CCl_4 , el efecto favorable de Noni C sobre el daño hepático inducido por el agente químico se vio en los niveles de transaminasa disminuidos de forma significativa con las dosis de 85 y 170 mg/kg de peso; y en las lesiones histopatológicas de menor gravedad que las descritas con el uso CCl_4 solo.

Se concluyó que en los grupos tratados con Noni C disminuyó el daño hepático inducido por CCl_4 .

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Malgorizata K, Jadwiza JL. Protective effect of *Aquilegia vulgaris* L. on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. IJEB. 2007;45(8):702-11.
2. González Lavaut NE, 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. 2009;14(4): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000400006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
9. Vidya SM, Krishnar V, Manjunatha BK. Evaluation hepatoprotective activity of *Clerodendrum serratum* L. IJEB. 2007;45(6):538-42.
10. Agarwal M, Srivastava VK, Saxena KK, Kumar A. Hepatoprotective activity of *Beta vulgaris* against CCl_4 -induced hepatic injury in rats. Fitoterapia. 2006;77:91-3.
11. Rao GM, Rao GV, Pushpangadan P, Shriwaikar A. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of *Rubia cardifolia* Linn. J Ethnopharmacol. 2006;103:484.
12. Wang MY, Nowicki D, Anderson G, Jensen J, West B. Liver protective effects of *Morinda citrifolia* (Noni). Plant Foods Hum Nutr. 2008;63(2):59-63.

13. Millonig G, Stadlmann S, Vogel W. Herbal hepatotoxicity: acute hepatitis caused by a Noni preparation (*Morinda citrifolia*). European J Gastroenterol Hepatology. 2005;17(4):445-7.
14. López-Cepero Andrada JM, Lerma Castilla S, Fernández Olvera MD, Amaya Vidal A. Hepatotoxicity caused by a Noni (*Morinda citrifolia*) preparation. Rev Esp Enferm Dig. 2007;99(3):179-81.
15. 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.
16. West Brett J, Deng Shixin, Jarakae Jensen C. Nutrient and phytochemical analyses of processed noni puree. Food Research International. 2011;44(7):2295-301.

Recibido: 1 de agosto de 2011.

Aprobado: 10 de octubre de 2012.

María del Carmen Jiménez Martínez. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto" . La Habana, Cuba. Avenida Monumental y Carretera del Asilo. Habana del Este. CP 11700. La Habana, Cuba. Correo electrónico: mcarmenjm@infomed.sld.cu