

Influencia de *Morinda citrifolia* en el perfil hematológico de *Sus scrofa*

Javier D. Cevallos G.¹, Marco A. Villavicencio & Juan C. Giacometti V.²

Escuela Politécnica del Ejército, Departamento de Ciencias de la Vida,
Carrera de Ciencias Agropecuarias (IASA I). Sangolquí-Ecuador. PO Box.
171-5-231-B. E-mail: ¹nonipigs@yahoo.com ²jcggiacometti@espe.edu.ec

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el programa porcino del Departamento de Ciencias de la Vida, Carrera de Ciencias Agropecuarias IASA I, en cerdos en período de crecimiento a los que se suministró diferentes dosis de jugo de *Morinda citrifolia* (Noni) estudiando el efecto sobre el perfil hemático de los animales experimentales. Se estableció tres tratamientos experimentales con dosis de: 20, 40 y 60 cc, de extracto de *Morinda citrifolia* por día y por cerdo, desde los 15 kg, de peso promedio al inicio del experimento hasta alcanzar los 35 kg, frente a un tratamiento testigo. Cada tratamiento tuvo cuatro unidades experimentales.

El análisis de regresión presentó un coeficiente $R = 0,676$ en relación al incremento de peso total con los elementos constitutivos de la sangre: Leucocitos (linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos), hematocritos y plaquetas, obteniendo un coeficiente R positivo (+0,24) de los linfocitos y R negativo (-0,27) en neutrófilos. Esta tendencia se registró a partir de la segunda evaluación durante el transcurso de la investigación, resultado que indica una posible influencia de *M. citrifolia* sobre los parámetros hematológicos que refuerzan el sistema inmunológico de los cerdos.

Palabras clave: Sangre, Leucocitos, Hematocrito, Plaquetas, Inmunología.

ABSTRACT

Current investigation was realized in Pig's Program of Life Science Department, Agropecuary Science Career, IASA I, in pigs in growth period, different doses from *Morinda citrifolia* (Noni) was supplied in they in order to study on hematic profile's effect from experimental animals. It was studied three experimental treatments with doses of 20, 40 and 60 cc/animal/day from Noni extract, from 15 kg to 35 kg compared to witness treatment without Noni. Each treatment had four experimental

animals. According to obtained results about regression test with a coefficient $R= 0,676$, to relate with total weight increase and constituent elements of blood Leucocytes (lymphocytes, neutrophyles, monocytes, eosinophyles) red corpuscles and platelets, where it was obtained a R coefficient positive (+0,24) from lymphocytes in first evaluation and R negative coefficient (-0,27) from neutrophyles in second evaluation, this result has showed a possible *Morinda* influence on hematic profile to reinforce the immunological system from pigs.

Key words: Blood, Leucocytes, parameters red corpuscles, platelets, immunology.

ISSN 1390-3004

Recibido: 12-12-2006

Acceptedo: 27-05-2007

INTRODUCCIÓN

Morinda citrifolia Linn. es una planta perteneciente a la familia de las Rubiaceae (Fig. 1), cuyo fruto ha sido objeto de un sin numero de investigaciones para tratar afecciones humanas y sobre su utilización para reforzar el sistema inmune. No obstante, son muy pocos los estudios avalados científicamente y la mayoría de información que se posee tiene un interés netamente comercial. (González 2003, Hiramatsu 1993; Elkins 2002).



Figura 1. *Morinda citrifolia* Linn. (Foto: J. Giacometti).

Desde principios del primer siglo los curanderos polinesios tradicionales han usado la fruta para muchos propósitos incluyendo trastornos intestinales (estreñimiento y diarrea), inflamación de la piel, infección, fuegos labiales, fiebre, contusiones y esguinces, pero se dice que sólo la gente enferma y desesperada lo tomaba, debido a su desagradable olor y sabor amargo. Siendo el principal uso indígena para esta planta, las hojas como un tratamiento tópico para sanar heridas (Ditmar, 1999).

Una de las sustancias que cabe destacar que se encuentra dentro de los componentes del noni son los terpenos, que son hidrocarburos insaturados de ciertas especies vegetales, considerados como antioxidantes. Esta sustancia ha sido probada en varios estudios como un mecanismo para fortalecer el estado inmunológico en gente sana y enferma inmunodepresiva (Vásquez 2003).

Reportes internacionales indican efectos benéficos del noni en ratones de laboratorio, principalmente por el reforzamiento de la inmunidad contra diversas enfermedades. En una investigación realizada por Furusawa en 1999, determinó que el jugo de *M. citrifolia*, tenía una alta actividad antitumoral principalmente por la presencia de un polisacárido modulador del sistema inmunitario que lo activaba sin la presencia de ningún efecto tóxico (Furusawa, 2003).

Investigadores hawaianos provocaron el crecimiento de tumores en ratones y estudiaron las reacciones de las células tumorales ante la inyección de preparados de jugo del noni. Los ratones así tratados mostraron una supervivencia un 123% más larga que los animales testigo. Se sospecha que el resultado se debe a una estimulación inmunitaria sobre los linfocitos T, aumentando la cantidad y actividad de macrófagos y linfocitos en los tejidos cancerosos (Scot, 2006).

No se han reportado trabajos serios sobre la utilización de noni en cerdos, ni se han realizado ensayos en humanos, los mayores estudios se los ha realizado en ratas, conejillos de indias y ratones, cuya asimilación y reacción inmuno-hematológica es muy diferente a la de los humanos (D'raye, 1998; Elkins, 2002). Siendo el cerdo un animal con cierta histocompatibilidad con el humano se condujo la presente investigación con el fin de determinar la influencia de *M. citrifolia* en el perfil hematológico de los cerdos, investigando los posibles cambios o repercusiones sobre diferentes parámetros sanguíneos.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el Programa Porcino de la Carrera de Ciencias Agropecuarias de la ESPE (Hacienda "El Prado"), ubicada en la parroquia San Fernando, Cantón Rumiñahui, Provincia de Pichincha, Ecuador (78°24'44" O; 0°23'20" S, 2748 m s.n.m.).

El extracto de noni se lo preparó en el laboratorio de plantas medicinales y alelopáticas del IASA I, tomando frutos maduros provenientes del cantón Puerto Quito, los cuales fueron macerados sobre gasas mediante presión mecánica evitando la ruptura de semillas para no liberar sustancias laxantes y afectar el sistema digestivo de los animales, luego el

macerado se almacenó en recipientes oscuros para reducir el proceso de oxidación.

El jugo obtenido se suministró a 16 cerdos en período de crecimiento con dosis experimentales de: 20, 40 y 60 cc, de extracto de noni por día y por cerdo, desde los 15 kg, de peso promedio al inicio del experimento hasta alcanzar los 35 kg, frente a un tratamiento testigo. Se estableció un total de tres tratamientos con cuatro unidades experimentales cada uno. La determinación de la dosis *M. citrifolia* en los cerdos, fueron realizadas sobre la base de las dietas administradas en humanos (Allende, 2004) por poseer un aparato digestivo similar.

El estudio del perfil sanguíneo de los animales experimentales, se lo realizó al inicio, a mediados y al final del experimento, mediante la toma de muestras de sangre, con el empleo de catéteres calibre 21 realizando una incisión sobre la vena marginal de la oreja de los cerdos, para inmediatamente a la extracción sanguínea colocar 3ml de la sangre en tubos vacutainer con Etildietanolamina (EDTA) como anticoagulante, y posteriormente se lo trasladó a los laboratorios de Investigación de la Carrera Ciencias Agropecuarias, para los siguientes análisis hematológicos: hematocrito, leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y plaquetas.

Para determinar el hematocrito la sangre extraída en agitación continua, se traspasó a tubos capilares heparinizados los cuales se centrifugaron a 3400 r.p.m., por diez minutos, afín de separar el plasma de los elementos figurados de la sangre, y proceder a la lectura en el hematocitómetro (Fig. 2a).

El número de leucocitos se lo realizó con una dilución de la muestra de sangre 1:20 en solución de ácido acético al 5% con colorante Wright al 0,01% para su conteo en la cámara de Neubauer, multiplicando por 50 el conteo de leucocitos con lente de 10X de los cuatro cuadrantes laterales de 0,1 mm³. La diferenciación leucocitaria se determinó, mediante un extendido de la muestra en la placa portaobjetos, aplicando una coloración pancrómica con Wright para su posterior observación en el lente de 100x, registrando el porcentaje de linfocitos, neutrófilos, monolitos y eosinófilos presentes en cada campo visualizado (Fig. 2b).

El número de plaquetas se determinó en lente de 100x, contando en diferentes campos del frotis de la placa coloreada, el número de plaquetas presentes en relación a mil hematíes, el resultado se multiplicó por el hematocrito y por cincuenta, obteniendo el número de plaquetas por mililitro de sangre.

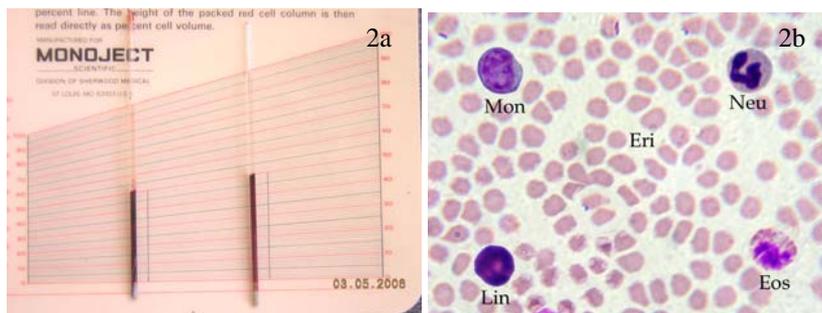


Figura 2. a) Determinación del hematocrito capilar. b) Diferentes tipos de células sanguíneas del cerdo

RESULTADOS

Hematocrito.- El porcentaje de hematocrito, no fue afectado por las diferentes concentraciones del noni y es así que en la tercera evaluación semanal, se encuentra un similar contenido tanto en los que se suministraron dosis de 60 cc/animal/día con relación al testigo, al cual no se suministró ninguna cantidad de noni (Tabla 1).

Tabla 1. Promedio del % hematocrito en tres evaluaciones (1^a, 2^a y 3^a) de cada tratamiento.

TRATAMIENTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
T1 60 cc/animal/día	40.00	42.75	44.00
T2 40 cc/animal/día	40.00	42.25	45.25
T3 20 cc/animal/día	40.75	39.75	46.50
T4 testigo	46.50	41.25	44.00

Leucocitos.- El nivel de leucocitos más altos, se presentó en el testigo durante la tercera evaluación. Cabe indicar que los leucocitos varían cuando se presenta enfermedades o infecciones. En el tratamiento T3 (20cc de noni) y el testigo se presentaron animales con abscesos, uno en cada tratamiento, el de T3 se quedó con un absceso pequeño que tendía a desaparecer, mientras que el testigo presentó un absceso que se desarrolló con el tiempo se reventó posteriormente, esto dio lugar a un número elevado de leucocitos superior a lo normal, debido a la infección, mientras que en T3 los leucocitos se mantuvieron en un valor dentro del rango de los parámetros normales, ya que el nivel de infección se redujo paulatinamente durante el transcurso del tiempo hasta la reabsorción del absceso. Se puede concluir que los tratamientos con una mayor dosis presentaron un conteo de leucocitos más bajo por ausencia de procesos infecciosos (Tabla 2).

Formas leucocitarias.- Comprenden eosinófilos, monocitos, neutrófilos y linfocitos, en la primera evaluación, no guardan ninguna tendencia definida en relación a las dosis, debido a que todavía no se manifiesta los efectos de *Morinda citrifolia*. Sin embargo en la segunda evaluación, 3 semanas después de la primera, ya se manifiesta ciertas tendencias de los

diferentes componentes de los leucocitos en relación a las dosis de noni y fue así que al incrementar las dosis del noni, aumentan los linfocitos, monocitos, mientras disminuyen los neutrófilos y los eosinófilos. En la última evaluación se manifestó una tendencia más clara del cómo actúa el suministro de las dosis de noni, en términos generales los linfocitos y monocitos se incrementaron en cerdos que recibieron una mayor dosificación de esta fruta, mientras que los neutrófilos y eosinófilos, disminuyeron (Fig. 3).

Tabla 2: Promedio de leucocitos por mm³ en diferentes dosis y evaluaciones (1^a, 2^a y 3^a).

TRATAMIENTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
T1 60 cc/animal/día	16800,00	22025,00	19537,50
T2 40 cc/animal/día	19025,25	17870,75	19250,00
T3 20 cc/animal/día	14212,50	19487,50	20300,00
T4 testigo	21337,50	22100,00	24200,00

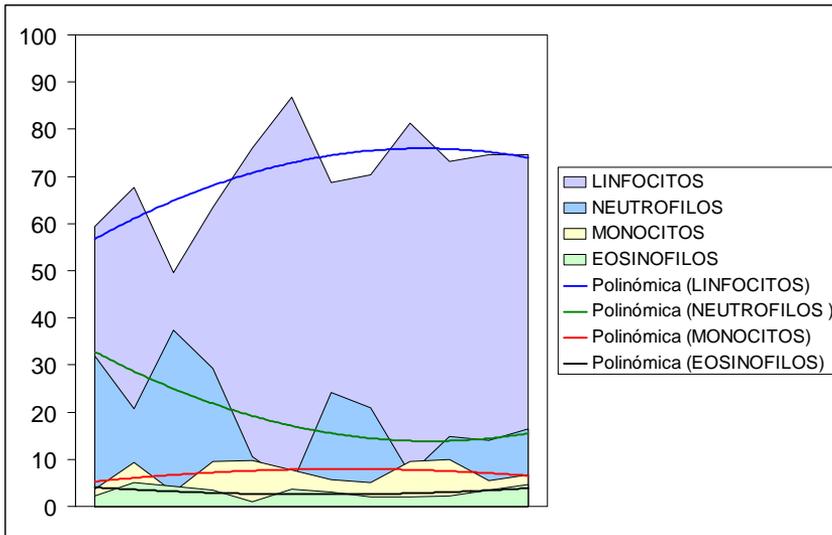


Figura 3. Tendencia polinomial de las formas leucocitarias en las tres evaluaciones.

Plaquetas.- En términos generales se puede observar que en cada una de las evaluaciones se registró un mayor número de plaquetas en la sangre de los cerdos a los que se suministro 60 cc de *M. citrifolia* / día, existiendo una disminución en el número de plaquetas al transcurrir el tiempo dentro del tratamiento testigo, partiendo del hecho de que en la evaluación inicial no mostró diferencias en cada uno de los tratamientos, donde el efecto del Noni aun no manifiesta una tendencia clara en relación a la dosis. (Tabla 3).

Tabla 3: Promedio de plaquetas por mm³ en las tres evaluaciones de cada tratamiento.

TRATAMIENTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
T1 60 cc/animal/día	871500 a	623000	563750
T2 40 cc/animal/día	560000 c	353250	380000
T3 20 cc/animal/día	348750 d	381750	396250
T4 testigo	770000 b	634250	315000

Regresiones.- Al realizar una selección de variables dentro de la regresión múltiple según el método Backward comparando el incremento de peso con variables sanguíneas, se estableció el incremento total del peso se relaciono con las variables independientes de Leucocitos, Plaquetas y Hematocrito en las evaluaciones 1, 2 y 3.

Estableciendo la siguiente ecuación: $Y = 64,26a - 3,39 \times 10^{-4} X_1 - 0,739 X_2 - 1 \times 10^{-2} X_3$ con un coeficiente R de 0,629, donde:

X1= Leucocitos en evaluación 1

X2= Plaquetas en evaluación 2

X3= Hematocrito en evaluación 3

De lo que se desprende que a menor presencia de leucocitos en la primera evaluación, y de plaquetas y hematocritos a partir de la segunda evaluación, esta ligado a un mayor incremento de peso por la posible acción del Noni. Los leucocitos en niveles inferiores en la primera evaluación manifiesta un buen estado sanitario de los cerdos, estos se mantuvieron dentro de los parámetros normales. En cambio las plaquetas y su relación con *M. citrifolia* llegan a manifestar un mayor efecto en la tercera evaluación, ya que en algunos animales a los que se les suministro el extracto y que presentaron abscesos inicialmente, durante el proceso de cicatrización fue notoria su mejoría con un tiempo menor de cicatrización en relación a cerdos que presentaron abscesos a los que no se les suministro el extracto de noni. La disminución del hematocrito en fases iniciales posiblemente esta relacionado a un menor requerimiento de intercambio de oxígeno por la adaptación por parte de los animales al ambiente en el cual se desarrolló la investigación.

Igualmente al analizar las diferentes formas leucocitarias (linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos), conjuntamente con los parámetros de hematocrito y plaquetas que presentaron una relación dependiente el incremento de peso total durante las tres evaluaciones, se presento de acuerdo a la ecuación: $Y = -5,55a + 0,52 X_1 - 3 \times 10^{-2} X_2 + 0,24 X_3 - 0,27 X_4 + 0,33 X_5 - 0,35 X_6 + 1,41 X_7 + 0,761 X_8$, que existe un coeficiente R = 0,6765, donde:

X1: Hematocritos en evaluación 1

X2: Plaquetas en evaluación 3

- X3: Linfocitos en evaluación 1
- X4: Neutrófilos en evaluación 2
- X5: Monocitos en evaluación 2
- X6: Monocitos en evaluación 3
- X7: Eosinófilos en evaluación 1
- X8: Eosinófilos en evaluación 2

La ecuación manifiesta que existió una mayor relación de hematocrito, linfocitos y eosinófilos en la primera evaluación, de neutrófilos, monocitos y eosinófilos en la segunda evaluación, plaquetas y monocitos en la tercera evaluación lo cual influyo para un mayor incremento de peso ligado a la posible acción del noni. Hematocrito en niveles más altos en la primera evaluación expresa el mayor intercambio de oxígeno por parte de los cerdos en el inicio de la fase de investigación, las plaquetas llegan a manifestar un mayor efecto en la tercera evaluación por una mejoría en los procesos de cicatrización, los linfocitos en niveles altos en la primera evaluación manifiesta una mayor actividad inmunológica al inicio de la investigación luego de ingesta de la primera dosis de noni, al contrario que en los neutrófilos se da una regresión negativa a partir de la segunda evaluación en la que se manifiesta una leve mejoría en el proceso de reabsorción de abscesos posiblemente ligado a la disminución de la carga bacteriana. El incremento de monocitos en la segunda evaluación supone la manifestación crítica de la infección, la cual decrece y con notable mejoría durante la tercera evaluación en los cerdos con a los que se les suministró el extracto. El aumento de eosinófilos en la primera evaluación y disminución de los mismos a partir de la segunda evaluación, sugiere la adaptación del organismo al cambio de dieta, sin embargo esta logra estabilizarse durante el transcurso de la investigación volviendo a parámetros normales.

DISCUSIÓN

Con el presente estudio se corrobora la información de Ditmar (1999), la cual refiere que los aborígenes polinesios utilizaban las hojas de noni para la pronta cicatrización de heridas, lo que se evidencio con un aumento de plaquetas y pronta cicatrización y reabsorción de abscesos en los cerdos que estuvieron bajo tratamiento de noni.

Según Vásquez (2003) los terpenos presentes en el fruto de noni ejercen una acción fitoquímica sobre sistema inmunológico, mejorando las defensas del organismo, este hecho estuvo ligado al aumento de linfocitos y disminución de neutrofilos durante los procesos infecciosos, donde la estimulación inmunitaria sobre los linfocitos T (Scot, 2006), posiblemente influyó positivamente en el tratamiento de abscesos.

El presente estudio además demuestra la importancia de realizar futuras investigaciones con animales inmunodeprimidos, tomando datos a mayor escala con prolongación de dieta y periodo de suministro de noni, analizando diferentes componentes sanguíneos entre los que se sugiere incorporar el sistema de células CD4, CD8, Interleuquina L-12 y demás componentes de la cadena del sistema inmune, esto nos brindara un nivel de confiabilidad mayor del comportamiento del principio activo de *M. citrifolia* sobre el sistema inmunitario de un organismo animal.

CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos se establece que *Morinda citrifolia* refuerza el sistema inmunológico aumentando las defensas en animales, mismas que en una edad temprana son más altas y tienden a disminuir con el transcurso del tiempo a medida que el animal sigue avanzando en edad y peso, no obstante se observa una tendencia favorable en los animales a los que se les suministró mayor cantidad de *M. citrifolia*, manifestado por disminución del tiempo de cicatrización y recuperación de abscesos lo que sugiere un refuerzo inmunológico en comparación a los tratamientos testigo.

Existió una relación positiva del noni en el número de plaquetas, demostrado con un mejor nivel de cicatrización de heridas de los cerdos bajo tratamiento (60cc/animal/día), manteniendo cantidades mas altas frente al grupo de control.

Si bien existió una relación directa entre el aumento de peso, el hematocrito y la cantidad de linfocitos, la disminución de neutrófilos y menores niveles de infección en los cerdos con suministro de *M. citrifolia*, conllevan ha pensar en la respuesta positiva del noni al fortalecimiento de la inmunidad celular, caracterizada por la baja incidencia de microorganismos patógenos presentados en cerdos a los que se les suministro el extracto en relación a los testigos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el aporte incondicional del cuerpo docente y laboratorios de la Carrera de Ciencias Agropecuarias, especialmente para Dr. Carlos Cárdenas T., Dr. Oswaldo Albornoz, Ing. Gabriel Suárez, Dr. Joar García, Ing. Juan Ortiz, quienes desinteresadamente brindaron su aporte y valioso conocimiento para llevar acabo con el presente estudio.

REFERENCIAS

- Allende, S.** 2004. Mito y realidad de *Morinda citrifolia*. Facultad de ciencias médicas. Laboratorio Central de Farmacología, revista cubana Plant-Med.
- Dittmar, A.** 1999. *Morinda citrifolia* use in Indigenan Samoan. *Medicine Journal of Herbs and Medicinal Plants*: 45-51.
- D'raye, T.** 1998. *Simply noni - ancient health miracle for modern times*. Awieca Publishing. 2nd edition. Hawaii-USA.
- Elkins, R.** 2002. *The noni revolution: the tropical wonder that can fight disease boost energy and revitalize your health*. Woodland Publishing. Hawai-USA.
- Furusawa, E.** 2003. *Anti-cancer activity of noni fruit juice against tumors in mice*. Department of Pharmacology. John A. Burns School of Medicine. University of Hawai'i at Manoa. College of Tropical Agriculture and Human Resources.
- González, N. Y González, J.** 2003. *Morinda citrifolia* Linn: Potencialidades para su Utilización en la Salud Humana. *Rev. Cubana Farm* 37(3): 27-42.
- Hiramatsu T, Imoto M, Koyano T, Umezawa K.** 1993. Induction of Normal Phenotypes in Ras-transformed Cells by Damnacanthol from *Morinda citrifolia*. *Cancer Letters*. 73(2): 161-166.
- Scot, N.** 2006. Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. College of Tropical Agriculture and Human Resources. (CTAHR). Hawaii-USA. Web site: http://www.ctahr.hawaii.edu/noni/fruit_elements.asp. Consultado 2006.
- Vásquez, E.** 2003. Terpenos. Facultad de Medicina. UNAM. México Df-México. Web site: <http://bq.unam.mx/~evazquez> Consultado 2007.
- Wang M, Kikuzaki H, Csiszar K, Boyd C, Maunakea A, Fong S.** 1999. Novel Trisaccharide Fatty Acid Ester Identified from the Fruits of *Morinda citrifolia* (Noni). *J Agric Food Chem* 47(12):4880-4882.