

Efecto cicatrizante en incisiones periodontales por extracto hidroalcohólico de *Morinda citrifolia*



Healing effect on periodontal incisions by hydroalcoholic extract of *Morinda citrifolia*

Efeito cicatrizante do extrato hidroalcoólico de *Morinda citrifolia* em incisões periodontais

Ramos Meza, Carlos Samuel; Corzo Palomo, Erika Eleana; Olivera Trujillo, Luis Alberto; Valencia Martinez, Juan Carlos; Gutierrez Acuña, Yeni

 **Carlos Samuel Ramos Meza**
carlos.ramos@vrin.uandina.edu.pe
Universidad Andina del Cusco, Perú

 **Erika Eleana Corzo Palomo**
ecorzo@uandina.edu.pe
Universidad Andina del Cusco, Perú

 **Luis Alberto Olivera Trujillo**
013200500c@uandina.edu.pe
Universidad Andina del Cusco, Perú

 **Juan Carlos Valencia Martinez**
jvalenciam@uandina.edu.pe
Universidad Andina del Cusco, Perú

 **Yeni Gutierrez Acuña**
ygutierrez@uandina.edu.pe
Universidad Andina del Cusco, Perú

Revista de Investigación en Salud VIVE
Centro de Estudios Transdisciplinarios, Bolivia
ISSN: 2664-3243
ISSN-e: 2664-3243
Periodicidad: Cuatrimestral
vol. 6, núm. 17, 2023
editor@revistavive.org

Recepción: 08 Abril 2023
Aprobación: 25 Abril 2023
Publicación: 08 Mayo 2023

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/541/5414364007/>

DOI: <https://doi.org/10.33996/revistavive.v6i17.238>

Resumen: Los tratamientos periodontales implican cortes y sangrado de la mucosa gingival; la *Morinda citrifolia*, específicamente sobre los fragmentos encargados de la cicatrización (plaquetas), tiene un efecto más significativo en los procesos curativos de las lesiones. **Objetivo.** Identificar el potencial cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de *Morinda citrifolia* (noni peruano) en los procesos regenerativos de las incisiones periodontales al 70% a diversas concentraciones (1%; 5; y 10%) y su efecto coadyuvante acelerador en la vía oral como curación de tejidos. **Materiales y Métodos.** Se realizó una investigación aplicada, bajo el diseño experimental. Para ello, se llevó a cabo un estudio previo para el análisis farmacognóstico, porcentaje de humedad, pruebas de solubilidad y el análisis fitoquímico cualitativo para garantizar que el análisis farmacológico y la prueba experimental se completaran adecuadamente. Se administraron dosis a cinco ratas albinas macho Holtzman divididas en cuatro grupos a los cuales se les aplicó las concentraciones en cantidades de 0,5 ml dos veces al día en la incisión, la cual se evaluó durante siete días para obtener parámetros específicos, como infección, tono de piel gingival, cierre de heridas, reducción del tamaño de la incisión y porcentaje de curación. **Resultados.** Indicaron que todos los grupos que se le suministró el extracto hidroalcohólico al 70% en varias concentraciones mejoró su actividad curativa al reducir el tamaño de la incisión en la encía al séptimo día, donde resultó que la mejor concentración fue del 5% en comparación con las otras concentraciones (1% y 10%). Investigación que indica la eficacia de la *Morinda citrifolia* peruana como acelerador del proceso de curación en la terapia periodontal.

Palabras clave: Morinda, Incisión Quirúrgica, Enfermedades Periodontales, Efecto cicatrizante.

Abstract: Periodontal treatments involve cuts and bleeding of the gingival mucosa; *Morinda citrifolia*, specifically on the fragments in charge of healing (platelets), has a more significant effect on

the healing processes of the lesions. **Objective.** To identify the healing potential of hydroalcoholic extracts of *Morinda citrifolia* (Peruvian noni) in the regenerative processes of periodontal incisions at 70% at various concentrations (1%; 5; and 10%) and its accelerating coadjuvant effect in the oral route as tissue healing. **Materials and Methods.** An applied research was carried out under an experimental design. For this purpose, a previous study was carried out for pharmacognostic analysis, moisture percentage, solubility tests and qualitative phytochemical analysis to ensure that the pharmacological analysis and experimental test were properly completed. Doses were administered to five male Holtzman albino rats divided into four groups to which the concentrations were applied in 0.5 ml amounts twice daily to the incision, which was evaluated for seven days for specific parameters, such as infection, gingival skin tone, wound closure, incision size reduction and percentage healing. **Results.** They indicated that all groups that were given the 70% hydroalcoholic extract in various concentrations improved their healing activity by reducing the size of the gingival incision on the seventh day, where it turned out that the best concentration was 5% compared to the other concentrations (1% and 10%). **Conclusion.** Research indicating the efficacy of Peruvian *Morinda citrifolia* as an accelerator of the healing process in periodontal therapy.

Keywords: Morinda, Surgical Wound, Periodontal Diseases, Healing activity, Healing effect.

Resumo: Os tratamentos periodontais envolvem corte e sangramento da mucosa gengival; a *Morinda citrifolia*, especificamente sobre os fragmentos responsáveis pela cicatrização (plaquetas), tem um efeito mais significativo nos processos de cicatrização das lesões. **Objetivo.** Identificar o potencial cicatrizante de extratos hidroalcolólicos de *Morinda citrifolia* (noni peruano) nos processos regenerativos de incisões periodontais a 70% em diversas concentrações (1%; 5; e 10%) e seu efeito coadjuvante acelerador na via oral como cicatrizante tecidual. **Materiais e métodos.** Foi realizada uma pesquisa aplicada sob um desenho experimental. Para esse fim, foi realizado um pré-estudo para análise farmacognóstica, porcentagem de umidade, testes de solubilidade e análise fitoquímica qualitativa para garantir que a análise farmacológica e o teste experimental fossem adequadamente concluídos. Cinco ratos albinos Holtzman machos divididos em quatro grupos foram dosados e as concentrações foram aplicadas em quantidades de 0,5 ml duas vezes ao dia na incisão, que foi avaliada por sete dias quanto a parâmetros específicos, como infecção, tônus gengivais da pele, fechamento da ferida, redução do tamanho da incisão e porcentagem de cicatrização. **Resultados.** Eles indicaram que todos os grupos que receberam extrato hidroalcolólico a 70% em várias concentrações melhoraram sua atividade de cicatrização ao reduzir o tamanho da incisão gengival no sétimo dia, sendo que a melhor concentração foi de 5% em comparação com as outras concentrações (1% e 10%). **Conclusão.** A pesquisa indica a eficácia da *Morinda citrifolia* peruana como um acelerador do processo de cicatrização na terapia periodontal.

Palavras-chave: Morinda, Ferida Cirúrgica, Doenças Periodontais, Efeito de cura.

INTRODUCCIÓN

Durante varios siglos, diversas culturas de todo el mundo han empleado productos herbales y naturales como parte de su medicina tradicional, y solo recientemente diferentes científicos y profesionales médicos han centrado su atención en este campo, reconociendo los numerosos beneficios. La utilidad terapéutica del reino vegetal se deriva de sus componentes fitoquímicos bioactivos, que tienen efectos fisiológicos tanto en especies humanas como animales. Estos constituyentes incluyen alcaloides, aceites esenciales, flavonoides, taninos, terpenos, saponinas y químicos fenólicos, entre otros (1).

Morinda citrifolia es un arbusto importante nativo de la India de la familia Rubiaceae, pero ampliamente distribuido en Australia desde el sudeste asiático (2,3). En Malasia, también se le conoce como gran morinda, nonu, morera india o mengkudu, en el sudeste asiático como nhaut, en el Caribe como arbusto analgésico o fruto del queso, en Australia como canario (4), y en Perú como noni peruano. *Morinda citrifolia* incluye valores nutricionales como minerales, vitaminas, carbohidratos y otros nutrientes que ayudan a metabolizar los nutrientes directa o indirectamente y son apropiados para el crecimiento de células y tejidos (5). Existen efectos antimicrobianos, reductores del colesterol, inmunes y que mejoran la digestibilidad de varios compuestos biológicos identificados en diferentes partes de la planta (6,7). *Morinda citrifolia* tiene valiosos componentes fitoquímicos que mejoran la curación, como los taninos y los flavonoides (8). Por lo tanto, la acción de la *Morinda citrifolia*, específicamente sobre los fragmentos encargados de la cicatrización (plaquetas), tiene un efecto significativo en los procesos curativos de las lesiones, lo que resulta en una recuperación en menos tiempo del tejido, en donde se produce una reacción inflamatoria después de un daño o condición patológica de la mucosa oral.

La cicatrización de heridas es una reacción biológica que requiere tres momentos de respuesta en el cuerpo, es decir, inflamación, proliferación y remodelación (9), las cuales se asocian con la expulsión de microorganismos infecciosos, acompañado de una proliferación marcada por angiogénesis, que es la formación de nuevos vasos sanguíneos, depósito de colágeno, formación de tejido de granulación, epitelización y contracción de la herida.

El proceso de regeneración tisular restaura la integridad y función de los tejidos (10). Es importante mencionar que las heridas necesitan una terapia adecuada para que puedan sanar rápidamente y sin complicaciones. Un fuerte indicador en la cicatrización de heridas es la cantidad de fibroblastos que se muestran en la mucosa oral. A medida que se sintetizan las fibras de colágeno, la proliferación de células de fibroblastos disminuye en la fase de remodelación de la cicatrización de heridas. Una porción de la planta de noni, la hoja de noni (*Morinda citrifolia*), se usa tradicionalmente para curar heridas de tejidos blandos (11) porque las hojas poseen compuestos orgánicos potenciales útiles en el proceso de regeneración de tejidos. La velocidad y la calidad de la cicatrización de las heridas dependen de muchos aspectos específicos, como los factores genéticos y las características de la lesión, así como su ubicación, como las áreas húmedas o fricción continua,

y la profundidad de la lesión por pérdida de tejido que luego evolucionará más lentamente que una herida limpia, por lo que tendrá un mejor pronóstico (12).

El uso de animales de granja en la investigación científica, la enseñanza y los estudios de laboratorio también se divide en usos biomédicos y usos agrícolas debido a las restricciones gubernamentales sobre AWR (animals welfare regulations), políticas institucionales, marcos administrativos, fuentes de financiamiento y objetivos del consumidor. Esta distinción condujo a un marco dual con parámetros separados para determinar procedimientos, niveles de vida y tratamiento para animales de la misma especie, dependiendo de los objetivos de investigación biomédica o agrícola buscados (13). Esta distinción es evidente en algunos estudios. Por ejemplo, los modelos animales de enfermedades humanas, el trasplante de órganos y cirugías mayores son considerados para usos biomédicos; los experimentos de procesamiento de alimentos y fibras, como los ensayos de alimentación, generalmente se consideran para usos agrícolas. Sin embargo, como ocurre en algunas investigaciones sobre dietas y enfermedades, esta distinción tampoco es clara. Los legisladores, gerentes y miembros de CICUAL (Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales) también enfrentan la cuestión de cómo manejar dichos informes (14).

En base a las propiedades establecida en la justificación de este estudio se plantea como propósito identificar el potencial cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de *Morinda citrifolia* (Noni peruano) en los procesos regenerativos de las incisiones periodontales al 70% a diversas concentraciones (1%; 5; y 10%) y su efecto coadyuvante acelerador en la vía oral como curación de tejidos. Bajo la hipótesis que el extracto hidroalcohólico al 70% de frutos de *Morinda citrifolia* (noni) acelera el efecto curativo a diferentes concentraciones en las incisiones periodontales inducidas en ratas albinas de la raza Holtzman.

MATERIALES Y MÉTODOS

Previo al análisis establecido en este estudio, se llevó a cabo la intervención como una prueba cuasiexperimental con cuatro grupos de cinco muestras cada una, a los cuales se le aplicaron los tratamientos correspondientes al grupo de ratas albinas macho de la cepa Holtzman. Quedando establecida la investigación de tipo aplicada, bajo el diseño experimental porque se manipularon las variables específicas, con la diferencia de que no existe un control completo sobre todas las variables, como los aspectos relacionados con el tipo de muestra presentada al experimento (15). En la Figura 1 se observa el diagrama de flujo establecido para el estudio experimental.

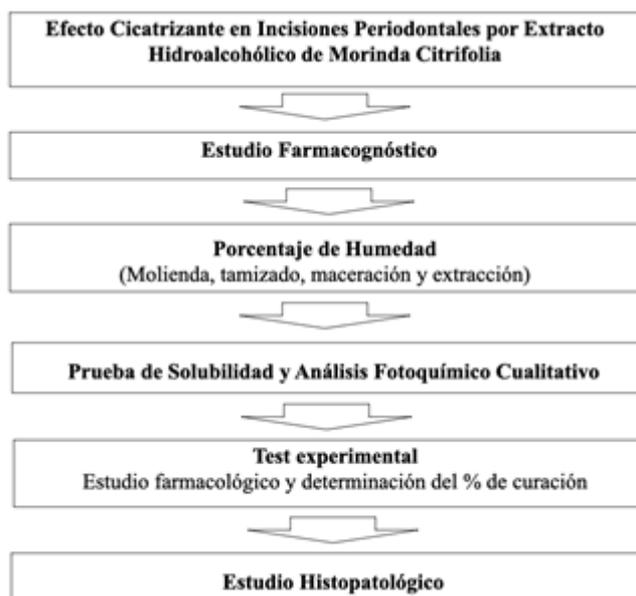


Figura 1
Diagrama de flujo completo del estudio

Estudio farmacognóstico

El área de acopio se realizó en el mercado modelo de la Provincia de Calca, departamento de Cusco en Perú. Para la selección, se eligió cuidadosamente el material recolectado, teniendo en cuenta que los frutos estuvieran totalmente libres de partículas de polvo, manchas, insectos y hongos. Una vez recolectada la muestra seleccionada, hasta el momento del secado en bolsas de papel, la especie se mantuvo en óptimas condiciones como se muestra en la Figura 2.



Figura 2
Recolección, selección y secado de Morinda citrifolia

Después de eso, para el proceso de secado, la muestra de la planta se cortó en láminas de aproximadamente 0,5 cm. Durante un período promedio de 20 días, se secó dentro de un cobertizo de malla plástica en un área ventilada y sombreada, a temperatura ambiente. Utilizando un molino de grano limpio y seco, después de la desinfección con etanol al 70%, se llevó a cabo la transformación del material vegetal (frutos) en partículas gruesas.

Porcentaje de humedad

Después de los pasos anteriores (secado), esto permitió que la muestra en el proceso de maceración tuviera contacto con el solvente. La muestra se cosió en una malla de 3 mm por 3 mm después de haber sido triturada. Finalmente, el material vegetal estuvo listo para el siguiente paso, que fue poner en frascos oscuros debidamente etiquetados con el nombre de la planta y la fecha del tamizado. Se eligió el método de maceración simple en el que, utilizando una botella de color ámbar con tapón hermético, en donde el material vegetal (frutos) estuvo en contacto con un volumen de solvente durante un tiempo determinado, en una proporción de 1:10. El etanol al 70% se mantuvo en agitación constante durante 15 días a temperatura ambiente con el material el cual se sometió a maceración con el disolvente como se muestra en la Figura 3.



Figura 3

Secado, molido, tamizado, maceración y extracción de *Morinda citrifolia*

Para obtener la extracción en seco, los filtrados obtenidos se concentraron hasta un tercio en un rotavapor (40 °C en el baño de agua y 37°C en el globo del rotavapor), de 70 a 100 rpm y de 100 a 300 mbar, para finalmente obtener el extracto seco. Luego se concentró a sequedad en una estufa a 37 °C. Posteriormente se filtraron cada tres días hasta su agotamiento. Luego se concentró a 37 °C en un horno para que se seque en su totalidad.

Para determinar el porcentaje de humedad se utilizó el método gravimétrico (el método o análisis gravimétrico es una técnica mediante la cual se puede determinar la cantidad de un analito; el ion que se analiza, mediante la medición de la masa. Los análisis gravimétricos dependen de comparar las masas de dos compuestos que contienen el analito, en donde el precipitado debe ser un compuesto puro), determinando la pérdida de agua por secado en estufa.

La determinación del porcentaje de humedad se realizó por triplicado, en placas Petri con 5 g de muestra fresca (frutos de Noni), cortados en trozos pequeños, los cuales se introdujeron en un horno a una temperatura de 50 °C durante 24 horas, hasta obtener la muestra seca. El porcentaje de humedad se determinó mediante la siguiente relación:

$$\% H = \frac{PMF - PMS}{PMF} * 100$$

Dónde: PMF: Peso de la muestra fresca

PMS: Peso de la muestra seca

Esta prueba se realizó en el laboratorio especializado de Farmacognosia de la Carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. En la Tabla 1 se muestra que la prueba se realizó con tres muestras diferentes (muestra I, II y III), donde luego se obtuvo un promedio de 78.49% de humedad.

Tabla 1
Prueba de porcentaje de humedad

Peso de la muestra	I	II	III
Fresco	5 g	5 g	5 g
Seco	1.069 g	1.0655 g	1.0915 g
%H	78.62%	78.69%	78.17%

La humedad presente en la planta es considerablemente elevada, por lo que en el proceso de secado y conservación de esta especie debe tener mucho cuidado en su manipulación. El proceso de secado es importante; mediante este proceso se interrumpen los procesos de degradación de los metabolitos provocados por las enzimas, lo que impide el desarrollo de bacterias, hongos y la producción de reacciones enzimáticas y químicas. (16) El porcentaje de extracción o rendimiento (% E.E.S) del extracto hidroalcohólico al 70% de los frutos de *Morinda citrifolia* (Noni) se obtuvo de la siguiente manera:

$$\% \text{ EES} = \frac{PF}{PI} * 100$$

Dónde: PF: Peso final del extracto seco

PI: Peso inicial de la muestra seca molida

EES: Extracción del extracto seco

Esta prueba se realizó en el laboratorio especializado de farmacognosia de la carrera profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, obteniendo los siguientes datos, como se aprecia en la Tabla 2, donde se muestra que la prueba se realizó utilizando tres tipos diferentes de muestras (muestra I, II y III), donde luego se obtuvo un promedio de extracción del extracto seco del 41.61%.

Tabla 2
Porcentaje de extracción del extracto seco

Peso de la Muestra	I	II	III
Peso inicial	10 g	10 g	10 g
Peso final	4.263 g	3.804 g	4.418 g
%E.D.E.	42.63%	38.04%	44.18%

Ensayo de solubilidad (extracto hidroalcohólico al 70% de los frutos de Morinda citrifolia-noni peruano)

Para realizar la prueba de solubilidad se tomaron aproximadamente 100 mg del extracto vegetal en diferentes tubos de ensayo, luego se adicionó 1 ml del solvente de diferentes polaridades (de la más apolar a la más polar), en caso de que no se disolviera en frío, se procedió a calentar ligeramente el agua en baño María (17,18).

Los disolventes utilizados para esta prueba fueron: éter etílico [1], hexano [2], acetato de etilo [3], acetona [4], etanol al 70% [5], etanol al 96% [6], metanol [7], Agua destilada [8] y Suero fisiológico [9] como se muestra en la Figura 4.

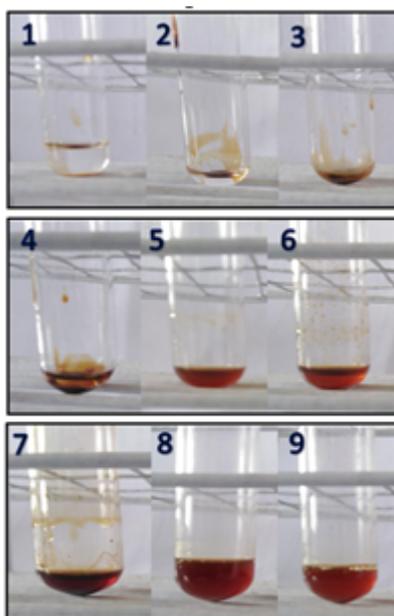


Figura 4

Ensayo de solubilidad en diferentes materiales

Se encontró si los solventes eran solubles (++), parcialmente solubles (+/-) o insolubles (-). Esta prueba se realizó en el laboratorio de química orgánica de la carrera de Química de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC). En esta prueba se utilizaron disolventes de diferentes polaridades para determinar la solubilidad del extracto, de apolar a polar, obteniendo los siguientes datos.

El extracto hidroalcohólico al 70% de los frutos de *Morinda citrifolia* (Noni) mostró una naturaleza polar y fue insoluble (-) en éter etílico, hexano, acetato de etilo y acetona (apolar); parcialmente soluble (+/-) en etanol al 70%, etanol y metanol al 96%, y soluble (++) en agua destilada y solución salina al 0,9% (polar).

Debido a la naturaleza polar del extracto, se utilizó suero fisiológico al 0,9% como vehículo para la administración oral. Se utilizó suero fisiológico al 0,9% por ser una sustancia biocompatible. Después de todo, es una sustancia isotónica en la sangre y para la limpieza de heridas.

Análisis fitoquímico cualitativo

El extracto obtenido fue sometido a pruebas fitoquímicas cualitativas para identificar los grupos de metabolitos primarios y secundarios. Para ello, se utilizaron pruebas de coloración y/o precipitación para identificar estos metabolitos en el extracto. El análisis fitoquímico cualitativo se realizó siguiendo las metodologías y criterios de evaluación propuestos (19,20).

En esta prueba, se utilizaron reactivos específicos para la identificación cualitativa completa de estos metabolitos. Se realizaron ensayos de coloración y/o precipitación, donde la leyenda presentó abundante presencia (+) de monosacáridos (1; resorcinol), glucósidos (2; Benedict), taninos (5; 5% quetato de plomo, y 6; cloruro férrico), saponinas (9; espuma) y alcaloides (12; Dragendorff); presencia moderada (+/-) de compuestos fenólicos (3; cloruro férrico), flavonoides (4; Shinoda), cumarinas (7; Baljet) y lactonas sesquiterpénicas (8; Baljet), y ausencia (-) de triterpenos y esteroides (10 y 11; Liebermann-Burchard) como se muestra en la Figura 5.

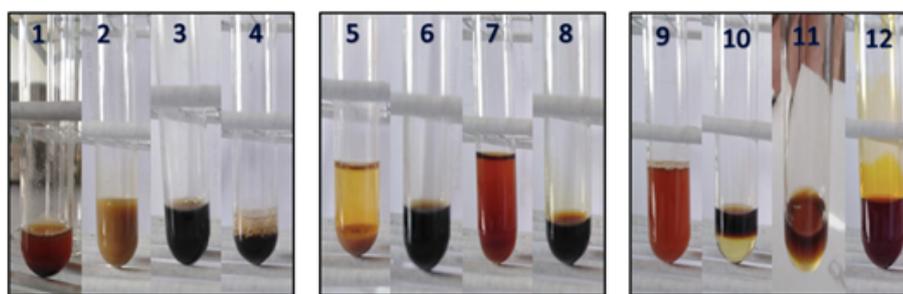


Figura 5
Resultado de los materiales fitoquímicos

Prueba experimental

Estudio farmacológico

En el protocolo experimental se utilizaron 20 ratas Holtzman macho con un peso promedio de 250 g, con un tiempo de adaptación de dos días. Las ratas se mantuvieron a temperatura ambiente (25 a 30 °C) en grupos de cinco por jaula, alimentadas con una dieta balanceada, agua ad libitum y condiciones ambientales controladas. El material biológico se distribuyó aleatoriamente en cuatro grupos de cinco animales cada uno (cinco ratas como grupo control que recibieron solución salina fisiológica al 0,9% y los otros grupos de cinco que recibieron extracto hidroalcohólico de *Morinda citrifolia* al 1%, 5% y 10%) en dosis de 0,5 ml en cada tratamiento, realizándoles dos tratamientos por día.

Con cuatro plumones indelebles (rojo: control; azul: extracto al 1%; negro: extracto al 5%; verde: extracto al 10%), cada grupo se identificó marcando las colas de las ratas. Se utilizaron técnicas asépticas antes del procedimiento quirúrgico para evitar la contaminación durante el procedimiento quirúrgico, y todo el material utilizado se desinfectó con una solución de etanol al 70%. Para evaluar posibles lesiones, todos los animales experimentales se sometieron a un examen oral antes de la experimentación. Los extractos se disolvieron en suero

fisiológico al 0,9%, con un volumen de 50 ml a las dosis correspondientes para cada grupo. Para inducir la anestesia, en el día cero (inicio de los tratamientos), se administraron por vía intraperitoneal 0,1 ml/kg de Dormi-xil 2 (clorhidrato de xilacina) 20 mg/ml y 0,5 ml/kg de ketamina 500 mg/10 ml por vía intraperitoneal a todos los animales de experimentación con la ayuda de una jeringa de 1 ml como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3
Calendario de las pruebas de *Morinda citrifolia*

Día	Grupo Control	Experimento 1 (1%)	Experimento 2 (5%)	Experimento 3 (10%)
Día 1 (tratamiento)	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 2	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 3	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 4	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 5	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 6	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)
Día 7	Suero fisiológico 0.9%	0.5 ml; MC 1% (twice a day)	0.5 ml; MC 5% (twice a day)	0.5 ml; MC 10% (twice a day)

Luego se colocaron en el área quirúrgica inmediatamente después de 20 minutos. Se hizo la incisión periodontal; la incisión lineal se realizó con el mango de bisturí n° 3 con hojas de bisturí n° 21 horizontalmente en la zona posterior superior izquierda de la mandíbula superior de unos 10 mm y una profundidad de 2 mm. El sangrado se limpió con un hisopo de algodón después de la incisión. Luego, con la ayuda de una jeringa de 1 ml (suero fisiológico al 0,9%, solución de extracto al 1%, solución de extracto al 5%, solución de extracto al 10%), una vez pasado el efecto de la anestesia, se colocaron en sus respectivas jaulas. Las soluciones se administraron dos veces al día con una jeringa de 0,5 ml a cada grupo.

RESULTADOS

Determinación del porcentaje de curación (%C)

Las incisiones se observaron diariamente durante siete días; las aplicaciones de los tratamientos se realizaron dos veces al día; la primera aplicación consistió en administrar las dosis establecidas; la segunda aplicación consistió en administrar las mismas dosis y observar clínica y fotográficamente la evolución de las incisiones. En la observación clínica de las incisiones se evaluaron los siguientes parámetros: inflamación, signos de infección, color de la encía regenerada y cierre de la encía. En la Tabla 4 se muestra la evolución del proceso de cicatrización de heridas.

Tabla 4
Resultados de porcentaje de escala (mn)

Grupo	No Rata	Días de Tratamiento (mm)						
		0	1	2	3	4	5	6
Control	1	10	9.5	8	7.5	6	5.5	4
	2	10	9	8	7	6.5	5.5	3.5
	3	10	9.5	8.5	7.5	6.5	5	4
	4	10	9.5	8	7	6	5	4
	5	10	9	8.5	7.5	6	5	3.5
	Avg.	10	9.3	8.2	7.3	6.2	5.2	3.8
Experimento 1 (MC 1%)	1	10	8	7	6.5	5.5	3.5	2
	2	10	8.5	7	6	5	3	1.5
	3	10	8.5	7.5	6	5.5	3.5	2
	4	10	8	7	6.5	5	3.5	2
	5	10	8	7	6	5	3.5	2
	Avg.	10	8.2	7.1	6.2	5.2	3.4	1.9
Experimento 2 (MC 5%)	1	10	7	5.5	3.5	1.5	1	0
	2	10	6.5	5.5	3	2	0.5	0
	3	10	6.5	5	3.5	1.5	0.5	0
	4	10	7	5	3.5	2	1	0
	5	10	6.5	5	3	2	0.5	0
	Avg.	10	6.7	5.2	3.3	1.8	0.7	0
Experimento 3 (MC 10%)	1	10	7.5	6	4	2.5	1	0
	2	10	7	6	4.5	2.5	1	0
	3	10	7.5	6.5	4	2.5	1	0.5
	4	10	7	6	4.5	1.5	1	0
	5	10	7.5	6.5	4	2.5	1	0
	Promedio	10	7.3	6.2	4.2	2.3	1	0.1

La curación se midió usando una regla milimétrica de metal. La siguiente ecuación determinó el porcentaje de curación:

$$\%C = \frac{H1 - H2}{H1} * 100$$

Dónde: H1: tamaño inicial de la herida (mm)

H2: tamaño final de la herida (mm)

Por lo tanto, el porcentaje promedio del grupo control en el sexto día fue de 62% de recuperación, mientras que el grupo experimental 1 fue de 89% de recuperación, el grupo experimental 2 fue de 100% de recuperación y el grupo experimental 3 fue de 99% de recuperación.

Análisis estadístico

Para la prueba estadística se utilizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov, puesto que esta prueba compara la función de distribución acumulativa empírica de los datos de la muestra con la distribución esperada, ya que los datos resultaron ser normales.

La Tabla 5 muestra que el p-valor fue mayor a 0.05 (0.200, 0.200 y 0.102, se acepta que no hay diferencias significativas entre los grupos) en los días uno, dos y tres de los tratamientos, sin embargo, el p-valor fue menor a 0.05 (0.001, 0.000 y 0.001) en los días cuatro, cinco y seis de tratamiento, lo que significa que existen diferencias significativas entre los grupos, esto significa que los valores no tienen una distribución normal (no hay homogeneidad de los datos y las

variaciones no son homogéneas). El p-valor p fue inferior a 0,05, teniendo en cuenta el sexto día de tratamiento (0,001). También se acuerda que no existen variaciones sustanciales entre las clases.

Tabla 5
Prueba de normalidad para el porcentaje de escala (%C)

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test		% Día de curación					
		1	2	3	4	5	6
Normal Parameters ^{a,b}	N	20	20	20	20	20	20
	Media	21,250	33,250	47,500	61,250	74,250	85,500
	Desv. Vest.	10,3714	11,6161	16,4237	19,3904	19,0066	16,0509
Most Extreme Differences	Absolute	,151	,123	,177	,261	,296	,267
	Positive	,111	,123	,176	,219	,149	,183
T-statistic	Negative	-,151	-,119	-,177	-,261	-,296	-,267
	Asymp. Sig. (2-tailed)	,151	,123	,177	,261	,296	,267
a. Test distribution is Normal		,200c,d	,200c,d	,102c	,001c	,000c	,001c
b. Calculated from data.							
c. Lilliefors Significance Correction.							
d. This is a lower bound of the true significance.							

Si $p < 0.05$ = se acepta que no existen diferencias significativas entre los grupos.

Si $p > 0.05$ = se acepta que existen diferencias significativas entre los grupos.

Demostrar que los valores del porcentaje de curación en ratas se distribuyen de forma no normal y sus variaciones son homogéneas en cada grupo experimental; no se aplica la prueba ANOVA, sino que se aplica la prueba de Kruskal-Wallis de los valores del porcentaje de curación en ratas de los grupos experimentales. La Tabla 7 muestra que, en el séptimo día de tratamiento, en la columna Sig. el p-valor fue menor que 0,05 (0,000); por tanto, se rechazó la hipótesis nula (H_0), aceptando la hipótesis alternativa (H_1). Es decir, se acepta que existen importantes diferencias entre los tratamientos.

Tabla 7
Prueba de Kruskal Wallis

Prueba estadística ^{a,b}							
	% Día de curación						
	1	2	3	4	5	6	7
Chi-square	,000	17,704	18,199	18,130	17,261	17,713	17,967
df	3	3	3	3	3	3	3
Asymp. Sig.	1,000	,001	,000	,000	,001	,001	,000
a. Kruskal Wallis Test							
b. Grouping Variable: Equivalent to group							

Si $p < 0.05$ = se acepta que existen diferencias significativas entre el tamaño medio.

Si $p > 0.05$ = se acepta que no existen diferencias significativas entre el tamaño medio.

Estudio histopatológico

Las muestras de encía de todos los grupos experimentales se extrajeron con cirugía menor una vez finalizado el proceso de cicatrización. Para eliminar trazas de sangre, secreciones y materiales extraños, las muestras obtenidas se lavaron con una solución salina fisiológica al 0,9%. Para la toma de muestras fotográficas, cada muestra obtenida se colocó sobre papel blanco absorbente. Todas las muestras se colocaron con formalina al 10% en un recipiente apropiado y previamente etiquetadas. Finalmente, todas las muestras formalizadas fueron remitidas para su respectivo estudio histopatológico al Instituto de Patología de la Universidad Mayor de San Marcos del Hospital Arzobispo Loayza.

En la Figura 6, se muestran los cuatro grupos. Se puede observar que el grupo control a escala microscópica de 40X, 100X y 400X presentó inflamación leve, ausencia de infección, epidermis fina, presencia de células fagocíticas, pequeña cantidad de colágeno y ausencia de úlcera.

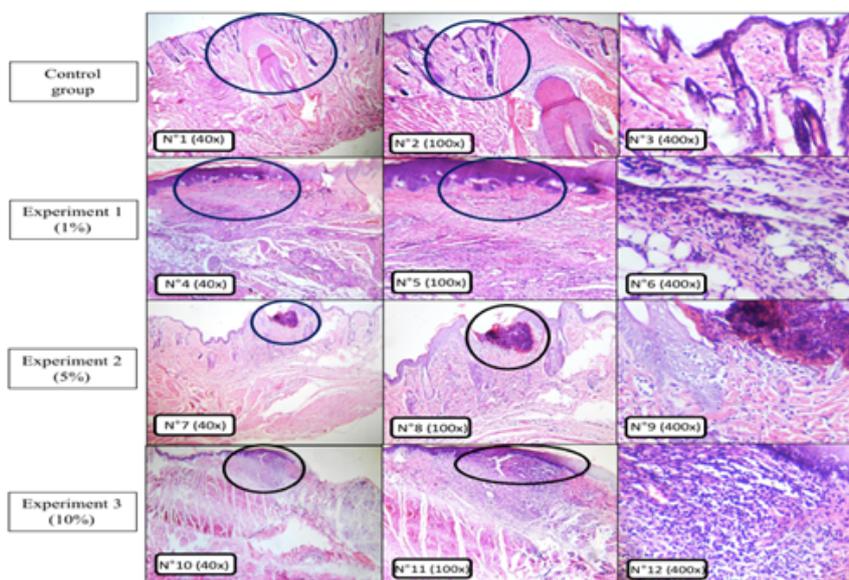


Figura 6

Proceso histopatológico de todos los grupos de estudio

En el grupo experimental 1, hubo una reacción inflamatoria muy leve, epidermis más gruesa, presencia de células fagocíticas, una cantidad mínima de colágeno y úlceras. En el grupo experimental 2 se observa poca respuesta inflamatoria, ausencia de infección, epidermis fina, presencia de células fagocíticas, una cantidad más significativa de colágeno y presencia de una pequeña úlcera, mientras que en el grupo experimental 3, reacción inflamatoria, ausencia de Infección, se observa epidermis gruesa, presencia de células fagocíticas, una cantidad importante de colágeno y presencia de úlceras.

DISCUSIÓN

El estándar de la investigación científica biomédica y el desarrollo del conocimiento de la biología se aplica tanto a los seres humanos como a los animales. El uso de animales como modelos experimentales durante el siglo XX ha contribuido a los principales conocimientos científicos y médicos (21). Si bien los científicos también han producido modelos no animales para estudios científicos educación superior y pruebas de control (22), estos modelos a menudo no pueden replicar el complejo cuerpo humano o animal y continuar el desarrollo de la salud y el bienestar de las personas y que los animales requieren con el uso de animales vivos. Sin embargo, se deben seguir realizando esfuerzos para crear y utilizar alternativas científicamente viables y perfeccionar la investigación experimental en animales.

Dentro de este estudio, se cumplieron las normas de los principios del gobierno de EE. UU. para la utilización y el cuidado de animales vertebrados utilizados en pruebas, investigación y capacitación (23).

La restricción física se utilizó en el estudio experimental, y es el uso de medios manuales o mecánicos para restringir algunos o más de los movimientos naturales del animal con el fin de estudiarlo, tomar muestras, administrar medicamentos y otras manipulaciones terapéuticas o experimentales. En la mayoría de las situaciones, cuando se utilizan, los animales se retienen por períodos breves, generalmente minutos u horas (24,25).

El estudio aporta valor a la literatura sobre la contribución del extracto de *Morinda citrifolia* en la aceleración de procesos regenerativos de la mucosa gingival o procesos periodontales, contribuyendo a los escasos estudios realizados a nivel mundial sobre el uso de dicha sustancia. Este artículo contribuye enormemente a otros investigadores en el proceso regenerativo de las lesiones bucales. Este estudio es relevante en otros contextos, aumentando así el uso de *Morinda citrifolia* en diferentes realidades.

El análisis presenta una limitación principal: el número de muestra utilizado en el siguiente artículo, por lo que se recomienda a futuras investigaciones ampliar la muestra para obtener datos más robustos que serían similares a los hallazgos y ser replicables en diversos contextos y realidades. Otra limitación podrían ser los días de tratamiento para evaluar la parte histopatológica del estudio, sin embargo, se alinea con los resultados donde el primer tratamiento alcanzó una curación completa con el extracto de *Morinda citrifolia* al 5%.

CONCLUSIONES

A lo largo del desarrollo del estudio realizado con un 70% de extracto hidroalcohólico de *Morinda citrifolia* (noni) a diferentes concentraciones se logró identificar que el 70% de extracto hidroalcohólico de *Morinda citrifolia* aplicadas en ratas macho Holtzman, demostraron un efecto terapéutico eficaz a una dosis del 5%; además que el contenido de humedad de *Morinda citrifolia* (noni peruano) y su porcentaje de rendimiento de la especie fue del 41,61%; las pruebas de solubilidad y el análisis fitoquímico cualitativo completo del extracto hidroalcohólico al 70% del fruto de *Morinda citrifolia*, demostró que el primer segmento es polar.

Según el estudio fitoquímico cualitativo completo, los metabolitos primarios y secundarios detectados estaban presentes en abundantes cantidades de monosacáridos, glucósidos, taninos, saponinas y alcaloides y pequeñas cantidades de flavonoides, cumarinas, lactonas sesquiterpénicas y compuestos fenólicos; en la eficacia del extracto hidroalcohólico de *Morinda citrifolia* al 70%; cabe señalar que la dosis del 10% logró cerrar las incisiones en un 99%, pero con una reacción inflamatoria debido a una dosis inapropiada o baja toxicidad; la incisión de la encía fue probada macroscópicamente durante el tratamiento a los siete días de tratamiento con un extracto hidroalcohólico al 70% de fruto de *Morinda citrifolia*, se observaron los siguientes parámetros: indicando que se alcanza un cierre completo de la incisión de la encía con seis días de tratamiento, y las encías fueron probadas microscópicamente en el séptimo día de tratamiento. Las lesiones provocadas por la incisión han sido probadas histopatológicamente, lo que indica que el extracto hidroalcohólico del 70% de la fruta de *Morinda citrifolia* (noni) tiene un efecto cicatrizante óptimo en las encías a una dosis del 5%.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ribeiro-Neto J, Pimenta-Tarôco B, Batista dos Santos H, Thomé R, Wolfram E, Maciel de A, Ribeiro R. Using the plants of Brazilian Cerrado for wound healing: From traditional use to scientific approach. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume, 5 October 2020; 260(5):112547. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112547>
2. Chan-Blanco Y, Vaillant F, Perez A, Reynes M, Brillouet J, Brat P. Review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006; 19: 645-654. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.10.001>.
3. Dixon A, Mcmillen H, Etkin N. Ferment This: The transformation of Noni, a traditional Polynesian medicine (*Morinda citrifolia*, Rubiaceae). *Economic Botany*, 1999; 53:51-68. <https://doi.org/10.1007/BF02860792>
4. Potterat O, Hamburger M. *Morinda citrifolia* (Noni) fruit--phytochemistry, pharmacology, safety. *Planta Med.* 2007 Mar;73(3):191-9. doi:10.1055/s-2007-967115. Epub 2007 Feb 7. PMID: 17286240.
5. Abou A, Darwis Y, Abdulbaqi I, Khan A, Vuanghao L, Laghari M. *Morinda citrifolia* (noni): A comprehensive review on its industrial uses, pharmacological activities, and clinical trials. *Arabian Journal of Chemistry*, 2017;10(5):691–707. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.06.018>.
6. Hong Y, Yi Y, Han S, Aziz N, Kim H, Park S, Hossain M, Baik K, Choi S, Lee J, Kim J, Cho J. *Morinda citrifolia* noni water extract enhances innate and adaptive immune responses in healthy mice, ex vivo, and in vitro. *Phytotherapy Research*, 2019;33(3), 676- 689. DOI: 10.1002/ptr.6256
7. Yang J, Paulino R, Janke-Stedronsky S, Abawi F. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. *Food Chem.*, 2007; 102:302–308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.05.020>
8. Siddiqui BS, Sattar FA, Begum S, Gulzar T, Ahmad F. Chemical constituents from the stems of *Morinda citrifolia* Linn. *Arch. Pharm. Res.* 2007; 30: 793-798. <https://doi.org/10.1007/BF02978826>
9. García-Salinas S, Evangelopoulos M, Gámez-Herrera E, Arruebo M, Irusta S, Taraballi F, Mendoza G, Tasciotti E. Electrospun anti-inflammatory patch loaded with essential oils for wound healing. *International Journal of Pharmaceutics*, 2020; 119067. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119067>
10. Hai Trieu Ly, Minh Trang Pham Nguyen, Thi Kim Oanh Nguyen, Thi Phuong Quynh Bui, Xu Ke, Van Minh Le. Phytochemical Analysis and Wound-Healing Activity of Noni (*Morinda Citrifolia*) Leaf Extract, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 2020;26(4): 379-393, DOI: 10.1080/10496475.2020.1748159
11. Sabirin IP, Yuslianti ER. Benefits of Ethanol Based Noni Leaf (*Morinda citrifolia* L.) Extract on Oral Mucosal Wound Healing by Examination of Fibroblast Cells. *J Dent Indones.* 2016;23(3): 59-63. <https://scholarhub.ui.ac.id/cgi/viewcontent.cgi?article=1040&context=jdi>
12. Nayak BS, Sandiford S, Maxwell A. Evaluation of the Wound-Healing Activity of Ethanolic Extract of *Morinda citrifolia* L. Leaf. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2009;6(3), 351–356. <https://doi.org/10.1093/ecam/nem127>

13. Stricklin W, Mench J. Oversight of the use of agricultural animals in university teaching and research. *ILAR Journal*. 1994; 36(1), 9-14. https://www.adsa.org/Portals/_default/SiteContent/docs/AgGuide3rd/Ag_Guide_3rd_ed.pdf
14. Stricklin W, Purcell D, Mench J. Farm animals in agricultural and biomedical research in: The well-being of agricultural animals in biomedical and agricultural research. Pp. 1-4 in *Agricultural Animals in Research, Proceedings from a SCAW-sponsored conference, September 1990*;6-7. Scientist's Center for Animal Welfare. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/b/b6/Animal_Welfare_Information_Center_newsletter_%28IA_CAT10401495015%29.pdf
15. Larsen AK, Holtermann A, Mortensen OS, Punnett L, Rod MH, Jorgensen MB. Organizing workplace health literacy to reduce musculoskeletal pain and consequences. *BMC Nursing*. 2015;14:46. <https://doi.org/10.1186/s12912-015-0096-4>
16. Garnier L, Mounier J, Lê S, Pawtowski A, Pinon N, Camier B, Chatel M, Garric G, Thierry A, Coton E, Valence F. Development of antifungal ingredients for dairy products: From in vitro screening to pilot scale application. *Food Microbiology*, 2018; 81: 97-107. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.11.003>
17. Dhawan D, Gupta J. Comparison of Different Solvents for Phytochemical Extraction Potential from *Datura metel* Plant Leaves. *International Journal of Biological Chemistry*, 2016; 11:17-22. <https://doi.org/10.3923/ijbc.2017.17.22>.
18. Usman H, Abdulrahman F, Usman A. Qualitative phytochemical screening and in vitro antimicrobial effects of methanol stem bark extract of *Ficus thonningii* (Moraceae). *African journal of traditional, complementary, and alternative medicines. AJTCAM*, 2009; .(3), 289–295. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v6i3.57178>
19. Khattak U, Ullah, R, Khan SA, Barkatullah Ullah S, Saima. Pharmacognostic evaluation and analgesic efficacy of ethanolic extract of *Euphorbia dracunculoides* L. *Pharmacognosy Journal*, 2017; 9(5), 644-653. <https://doi.org/10.5530/pj.2017.5.102>
20. Yero-Espinosa L, Rodríguez-Fernández Y, Pérez-Sosa N. Caracterización fitoquímica y bromatológica de la *Thalassia testudinum* usada en alimentación de ovinos pelibuey de Cuba (*Ovis aries*). *Ciencia & Futuro*, 2017. 7(3):25-36.
21. Leader R, Stark D. The importance of animals in biomedical research. *Perspectives in Biology and Medicine*, 1987; 30(4):470-485.
22. NRC (National Research Council). The Future of Animals, Cells, Models, and Systems in Research, Development, Education, and Testing. Proceedings of a Symposium of the Institute of Laboratory Animal Resources. National Academy of Sciences. 1977; 341 pp.
23. IRAC (Interagency Research Animal Committee). U.S. Government Principles for Utilization and Care of Vertebrate Animals Used in Testing, Research, and Training. Federal Register, May 20, 1985. Office of Science and Technology Policy
24. Reinhardt V. Training adult male rhesus monkeys to actively cooperate during in home cage venipuncture. *Anim. Technol*. 1991;42(1):11-17.
25. Reinhardt V. Restraint methods of laboratory non-human primates: a critical review. *Anim. Welf*. 1995;4: 221-238.