

Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio

¿INFLUYE LA OZONOTERAPIA SOBRE LA MÉDULA ÓSEA DE RATONES TRATADOS?

Lic. Antonia Remigio Montero, Lic. Yousy González Carvajal, Zullyt Zamora Rodríguez y Lic. Gladys Fonseca López

RESUMEN

Se realizó el estudio de la actividad genotóxica del oleozón, mediante el ensayo de micronúcleos en médula ósea, en ratones de la línea C57BL/6J de uno y otro sexos; este ensayo constituye una determinación indirecta de la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales o numéricas. La evaluación genotóxica del oleozón se llevó a cabo a través del análisis y la comparación de las frecuencias de micronúcleos en eritrocitos policromáticos en la médula ósea obtenidos para el tratamiento con aceite de girasol ozonizado con índice de peróxidos entre 617 y 680 y los controles aceite de girasol y ciclofosfamida (40 mg/kg de peso corporal), sustancia con propiedades clastogénicas que provoca un incremento en las roturas cromosómicas. Se realizaron 5 administraciones consecutivas por vía intragástrica con intervalos de 24 horas de una dosis correspondiente a las dosis límite (2 g/kg/día) basada en la no evidencia de toxicidad en los estudios subcrónicos por vía oral del producto. No se evidenciaron efectos tóxicos en la población eritrocítica estudiada y se obtuvieron resultados negativos en la inducción de clastogenicidad (inducción de aberraciones cromosómicas) al cuantificar la cantidad de micronúcleos presentes en eritrocitos policromáticos para el índice de peróxido estudiado.

Descriptores DeCS: OZONO/ toxicidad; MEDULA OSEA/ efectos de drogas; ERITROCITOS/ efectos de drogas; TESTS DE MICRONUCLEOS, RATONES.

Entre los ensayos genéticos con mamíferos el ensayo de micronúcleos con ratón ha sido ampliamente utilizado como un indicador de la genotoxicidad de clastógenos químicos *in vivo*,^{1,2} ya que resulta relativamente simple en comparación con el análisis cromosómico convencional.³ Teniendo en cuenta las propiedades terapéuticas del aceite ozonizado en diversas afecciones digestivas como la giardiasis⁴ y la úlcera gastrointestinal,⁵ nos propusimos evaluar su posible efecto citotóxico y

clastogénico (inductor de aberraciones cromosómicas) utilizando el ensayo de micronúcleos en médula ósea.⁶

Se utilizaron ratones de la línea C57BL/6J de uno y otro sexos, distribuidos en 3 grupos de tratamiento: ciclofosfamida (40 mg/kg de peso corporal), aceite de girasol (0,1 mL) y aceite de girasol ozonizado (índice de peróxidos de 617: 0,1 mL) aplicándoles 5 administraciones consecutivas por vía intragástrica. Los animales son sacrificados por dislocación cervical a las

24 horas después de la última administración; este tiempo de muestreo está basado en la cinética de maduración de los eritrocitos en ratones.⁷ El proceso para obtener las muestras de médula ósea fue realizado de acuerdo con la metodología propuesta por Schmid en 1975.⁶ Se registran 500 eritrocitos policromáticos por lámina (1 000 por animal) para determinar el índice de citotoxicidad y el porcentaje de micronúcleos.

Las comparaciones entre la relación de eritrocitos policromáticos (PCE) y eritrocitos normocromáticos (NCE) en las preparaciones de médula ósea a través del *test* estadístico Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) no arrojaron diferencias significativas entre los grupos de tratamiento de aceite ozonizado y aceite de girasol, resultados que indican que no existen perturbaciones en la hematopoyesis como resultado de estos tratamientos para los dos sexos.

La frecuencia de micronúcleos en PCE en los grupos tratados con aceite de girasol y aceite ozonizado para machos fue de 0,08 y 0,12 y para hembras, de 0,19 y 0,17 respectivamente, resultados que evidencian que el aceite ozonizado no tiene efecto genotóxico si lo comparamos con los grupos (machos y hembras) de ciclofosfamida (0,64 y 0,72 respectivamente), agente clastogénico que incrementa significativamente la incidencia de aberraciones cromosómicas.

El tratamiento con aceite ozonizado no provocó daño citotóxico en la línea eritrocítica estudiada, lo que fue determinado por el análisis de la relación de eritrocitos normocromáticos/policromáticos; de igual forma, al cuantificar los micronúcleos presentes en eritrocitos policromáticos no se evidenciaron efectos clastogénicos en la médula ósea de los animales tratados bajo nuestras condiciones experimentales.

TABLA. Valores de los índices de toxicidad y de genotoxicidad en eritrocitos policromáticos en médula ósea para los 3 grupos de tratamiento y en los dos sexos

Tratamiento	Sexo	n	Total de PCE observados	Índice de toxicidad PCE/NCE	Índice de genotoxicidad MN/PCE
Aceite de girasol	Machos	5	5 000	1,91 ± 0,28	0,08 ± 0,13
	Hembras	5	5 000	2,54 ± 0,63	0,19 ± 0,25
Aceite ozonizado	Machos	5	5 000	2,12 ± 0,56	0,12 ± 0,16
	Hembras	5	5 000	2,99 ± 0,91	0,17 ± 0,11
Ciclofosfamida	Machos	5	5 000	1,90 ± 0,24	0,64 ± 0,21*
	Hembras	5	5 000	1,35 ± 0,25*	0,72 ± 0,19*

PCE - Eritrocitos policromáticos
 NCE - Eritrocitos normocromáticos
 MN - Micronúcleos
 * Significativo para $p < 0,05$

SUMMARY

The genotoxic activity of oleozone was studied by the bone marrow micronucleus test in mice of the C57BL/6J line of both sexes. This assay is the indirect determination of the induction of chromosomal structural or numerical aberrations. The genotoxic evaluation of oleozone was carried out through the analysis and comparison of the frequencies of micronuclei in polychromatic erythrocytes in bone marrow obtained for the treatment with ozonized sunflower oil with index of peroxides between 617 and 680 and with the controls sunflower oil and cyclophosphamide

(40 mg/kg of body weight), a substance with clastogenic properties that produces an increase in the chromosome breakages. Five consecutive intragastric doses were administered with intervals of 24 hours from a corresponding dose to the maximum doses (2 g/kg/day) based on the absence of toxicity in the oral subchronic studies of the product. No toxic effects were observed in the erythrocytic population studied. Negative results were obtained in the induction of clastogenicity (induction of chromosome aberrations) on quantifying the number of micronuclei present in polychromatic erythrocytes for the index of peroxide studied.

Subject headings: OZONE/ toxicity; BONE MARROW/ drug effects; ERYTHROCYTES/ drug effects; MICRONUCLEUS TESTS; MICE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mac Gregor JT, Wehr CM, Gould DH. Clastogen induced micronuclei in peripheral blood erythrocytes: the basis of an improved micronucleus test. *Environ Mutagen* 1980;2:509-14.
2. Moore FR, Urda GA, Krishna G, Theiss JC. An *in vivo/in vitro* method for assessing micronucleus and chromosome aberration induction in rat marrow and spleen 1- Studies with cyclophosphamide. *Mutat Res* 1995;335:191-9.
3. Bhaskar BG, Mac Fadden LG. Sample size for the estimation of polychromatic to normochromatic erythrocyte ratio in the bone marrow micronucleus test. *Mutat Res* 1995;347:97-9.
4. Sardiñas JO, Behar R, García CE, Gómez M. Tratamiento de la giardiasis recidivante con ozono. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* 1989;20:1-3.
5. Behar R, García CE, Sardiñas J, Menéndez S, Gómez M, Lemagne C, et al. Tratamiento de la úlcera gastroduodenal con ozono. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* 1989;20:1-3.
6. Schmid W. The micronucleus test. *Mutat Res* 1975;31:9-15.
7. Hayashi MT, Mac Gregor J, Anderson D, Blacky D, Kirsh-Volders M, Oleson F, et al. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay. *Mutat Res* 1994;312:293-304.

Recibido: 26 de diciembre de 1997. Aprobado: 10 de mayo de 1998.

Lic. *Antonia Remigio Montero*. Avenida Ceiba No. 1523 entre 2da. y Entrada, Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba.