

Centro de Investigaciones del Ozono

OZONOTERAPIA: EFECTOS GENOTÓXICOS EN SANGRE PERIFÉRICA DE RATÓN

Lic. Yousy González Carvajal, Lic. Antonia Remigio Montero, Dra. 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 sangre periférica, a través del análisis y la comparación de las frecuencias de micronúcleos en reticulocitos en ratones de la línea C57BL/6J de uno y otro sexos; ensayo que constituye una determinación indirecta de la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales o numéricas. El tratamiento: 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 aplicó por vía intragástrica durante 5 administraciones consecutivas. 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 reticulocitos para el índice de peróxido estudiado.

Descriptor DeCS: TESTS DE MUTAGENICIDAD; TESTS DE MICRONUCLEOS; OZONO/ uso terapéutico; RATONES.

Los micronúcleos formados en la médula ósea del ratón pueden ser detectados en sangre periférica,¹ razón por la cual los eritrocitos de la sangre periférica pueden ser utilizados en lugar de las células de la médula ósea sin reducción en la sensibilidad del ensayo.² Teniendo en cuenta las propiedades terapéuticas del aceite ozonizado y con el objetivo de detectar sus posibles efectos genotóxicos, realizamos el ensayo de micronúcleos en sangre periférica en ratones tratados.

Se utilizaron ratones de la línea C57BL/6J de uno y otro sexos, con 7 y 8 semanas de edad y 30 g de peso corporal.

Estos fueron mantenidos en condiciones estándar de temperatura, humedad y fotoperíodo, con una dieta comercial EMO 1001 para roedores y agua *ad libitum*. Se conformaron 3 grupos de tratamiento: ciclofosfamida (40 mg/kg de peso corporal), aceite de girasol (0,1 mL) y aceite ozonizado (índice de peróxidos de 617: 0,1 mL). A cada grupo compuesto por 10 animales, 5 hembras y 5 machos, se le aplicó 5 administraciones consecutivas por vía intragástrica. El método seguido fue el descrito por Hayashi en 1990,² realizándose 2 tiempos de muestreo: 48 y 72 horas.

Se analizaron 2 láminas por animal y se registraron 500 reticulocitos por lámina (1 000 por animal) para determinar la frecuencia de micronúcleos. Todas las mediciones se realizaron en un microscopio de fluorescencia con excitación azul (488 nm) y filtro amarillo (515 nm) con objetivo de 100x. Se empleó el *test* estadístico de Kruskal-Wallis para el procesamiento estadístico de los datos.

En la tabla se indican los valores correspondientes a las frecuencias de reticulocitos micronucleados en sangre periférica para los 3 grupos de tratamiento, en los dos sexos y teniendo en cuenta los tiempos de muestreo de 48 y 72 horas.

La frecuencia de reticulocitos micronucleados en los grupos de tratamiento de aceite de girasol y aceite ozonizado

no arrojó diferencias significativas en los 2 tiempos de muestreo estudiados para uno y otro sexos, resultado que constituye una respuesta negativa en la inducción de aberraciones cromosómicas de estos tratamientos. Estos resultados difieren de los obtenidos con el grupo de ciclofosfamida, agente clastogénico que incrementa significativamente la frecuencia de micronúcleos en los dos sexos y para los 2 tiempos de muestreo estudiados.

Del presente estudio se puede concluir que, bajo nuestras condiciones experimentales, el tratamiento con aceite ozonizado no provocó efectos mutagénicos en la línea eritrocítica estudiada al cuantificar los micronúcleos presentes en los reticulocitos de los ratones tratados.

TABLA. Valores de las frecuencias de micronúcleos en reticulocitos en sangre periférica para los 3 grupos de tratamiento y en uno y otro sexos

Tratamientos	Sexo	Aceite girasol 0,1 mL		Aceite ozonizado 0,1 mL		Ciclofosfamida 40 mg/kg de peso corporal	
		Total de RET	MN/RET (%)	Total de RET	MN/RET (%)	Total de RET	MN/RET (%)
48	Machos	5 000	0,36 ± 0,32	5 000	0,44 ± 0,28	5 000	1,26 ± 0,71*
	Hembras	5 000	0,16 ± 0,18	5 000	0,18 ± 0,20	5 000	1,62 ± 0,43
72	Machos	5 000	0,2 ± 0,15	5 000	0,1 ± 0,14	5 000	0,82 ± 0,13*
	Hembras	5 000	0,18 ± 0,08	5 000	0,04 ± 0,04	5 000	0,8 ± 0,33*

RET - reticulocitos

MN - micronúcleos

* significativo para $p < 0,05$

SUMMARY

The genotoxic activity of oleozon was studied by the micronucleus test in peripheral blood through the analysis and comparison of the frequencies of micronuclei in reticulocytes in mice of the Cenp:NMRI line of both sexes. This test is an indirect determination of the induction of chromosomal structural or numerical aberrations. Ozonized sunflower oil with index of peroxides between 617 and 680 and the controls sunflower oil and cyclophosphamide (40 mg/kg of body weight), a substance with clastogenic properties that provokes an increases in the chromosomal breakages were used in the treatment. Five consecutive intragastric doses were administered. No toxic effects

were observed in the erythrocytic population studied. Negative results were obtained in the induction of clastogenicity (induction of chromosomal aberrations) on quantifying the amount of micronuclei present in reticulocytes for the peroxide index studied.

Subject headings: MUTAGENICITY TESTS; MICRONUCLEUS TESTS; OZONE/ therapeutic use; OILS/ therapeutic use; 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. Hayashi M, Kodama Y, Sofuni T, Ishidate M. The micronucleus assay with mouse peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides. *Mutat Res* 1990;245:245-9.

Recibido: 24 de septiembre de 1997. Aprobado: 24 de septiembre de 1998.

Lic. *Yousy González Carvajal*. Reparto XX Aniversario. Edificio 3, apto 5. La Lisa. Ciudad de La Habana, Cuba.