

Efecto del aceite de teobroma ozonizado sobre la respuesta inflamatoria inducida en el modelo de edema en la oreja del ratón (Effect of ozonized theobroma oil on induced inflammatory response by croton oil in the model of ear oedema in mouse)

Díaz Maritza F., Romay Cheila, Rojas Enis, González Ricardo

Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Calle 230 y ave 15, Siboney, Playa, C. de La Habana, Cuba. maritza.diaz@cnic.edu.cu

RECVET: 2008, Vol. III, Nº 9

Recibido 05.04.2008 / Referencia provisional K006_RECNET / Revisado: 22.06.2008 / Referencia definitiva 090901_RECNET / Aceptado 22.07.2008 / Publicado: 01.09.08

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n090908.html> concretamente <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n090908/090901.pdf>

Revista Electrónica de Clínica Veterinaria RECNET® está editada por Veterinaria Organización® Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con RECNET®-<http://www.veterinaria.org/revistas/recvet>

Resumen

El aceite de teobroma ozonizado presenta actividad antimicrobiana *in vitro* contra la *Candida albicans* y es utilizado como materia prima en la elaboración de supositorios y cremas. Es objetivo de este trabajo evaluar el efecto del aceite de teobroma ozonizado sobre la respuesta inflamatoria inducida por aceite de croton en el modelo de la oreja del ratón. Los animales fueron divididos en seis grupos: El primero recibió, aceite de croton; el segundo recibió acetona como vehículo del aceite de croton; el tercero aceite de croton con dexametasona como fármaco de referencia; al cuarto grupo se le aplicó aceite de croton con aceite de teobroma virgen, al quinto grupo se le aplicó aceite de croton con aceite de teobroma ozonizado 1 mg y el sexto se le aplicó aceite de croton con aceite de teobroma ozonizado 3 mg. Después de transcurridas cuatro horas de tratamiento, a los animales se les practico la eutanasia por dislocación cervical, se extrae una porción de oreja de 6 mm, y se determina el peso mediante una balanza analítica. Los resultados mostraron que los animales que tuvieron tratamiento con aceite de

teobroma ozonizado 1 mg tuvieron una reducción significativa en el peso del tejido, con un 20 % de inhibición de la inflamación, mientras que con 3 mg la reducción fue no significativa con un 10 % de inhibición de la inflamación. Estos resultados constituyen la primera evidencia del efecto antiinflamatorio del aceite de teobroma ozonizado.

Palabras claves: Aceite de teobroma ozonizado | efecto antiinflamatorio | ratones | aceite de crotón.

Abstract

Ozonized theobroma oil shows antimicrobial activity *in vitro* against *Candida albicans* and it is used raw material in the manufacturing of pessaries and creams. The aim of this work is evaluate the effect of ozonized theobroma oil on the inflammatory response induced by croton oil in the model of ear oedema in mouse. The mice were divided into six groups; first group received croton oil; second one acetone as vehicle of croton oil; the third one, croton oil plus dexamethasone; the fourth, croton oil plus theobroma oil; fifth group, croton oil plus ozonized theobroma oil 1 mg and sixth group, croton oil plus ozonized theobroma oil 3 mg. Four hour thereafter, the euthanasia was performed to the animals by cervical dislocation, and 6 mm section of ears were obtained and weighed in analytical balance. These results showed, that the animals treatment with ozonized theobroma oil 1mg significantly reduced the weight of the tissue and the inflammation response (20 %), while that the treatment with ozonized theobroma oil 3 mg did not induced significant antiinflammatory effect. These results provide the first evidence that the antiinflammatory effects of ozonized theobroma oil.

Keys Words: Ozonized theobroma oil | antiinflammatory effect | mice | croton oil.

Introducción

El aceite de teobroma ozonizado presenta acción germicida y un fuerte poder fúngico contra la *Candida albicans*¹, por lo que es utilizado en la fabricación de supositorios vaginales y en la elaboración de cremas cosméticas^{2,3}. Al ser una materia prima de gran importancia para las industrias farmacéutica y cosmetológica sería de gran utilidad conocer su efecto antiinflamatorio lo cual proporcionaría una propiedad importante para este aceite ozonizado.

Entre las enfermedades que se manifiestan en la población mundial, las que involucran procesos inflamatorios representan un importante grupo. La mayoría de las infecciones ocurridas en la piel involucran procesos

Efecto del aceite de teobroma ozonizado sobre la respuesta inflamatoria inducida en el modelo de edema en la oreja del ratón. 2

inflamatorios como respuesta natural ante traumas físicos y alergias, las que en muchos casos incapacitan a quienes la padecen. Como consecuencia, existe una gran necesidad de descubrir y desarrollar nuevos agentes antiinflamatorios más seguros y eficaces⁴⁻⁷. El uso de los aceites vegetales ozonizados representa una alternativa cada vez más explorada y promisoría para el tratamiento de numerosos desórdenes inflamatorios^{8,9,10}. Sin embargo, la limitada evidencia científica con respecto a la eficacia como antiinflamatorios de los aceites ozonizados, conjuntamente con la falta de explicación de los mecanismos de acción involucrados, ha limitado su incorporación en la práctica clínica como agentes antiinflamatorios.

Por todo lo antes expuesto, es objetivo de este trabajo conocer el efecto antiinflamatorio del aceite de teobroma ozonizado en el modelo de edema en la oreja del ratón inducido por aceite de crotón.

Materiales y Métodos

Animales

Se utilizaron en este estudio ratones de la línea OF1 hembras de peso corporal de 20-25 g procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Estos ratones fueron mantenidos en condiciones de temperatura (20-22^o C) y humedad relativa entre 50-55 % y fueron alimentados con dieta para ratones suministrada por CENPALAB. El agua fue suministrada *ad libitum* y se cumplió con el ciclo de luz/oscuridad de 12 h.

Materiales

Se utilizó aceite de teobroma ozonizado elaborado en el Centro de Investigaciones del Ozono con un índice de peróxido de 1200 mmol-equi/kg, acetona reactivo p.a. de la firma Merck, aceite de crotón de la firma Sigma y la dexametasona procedente de IMEFA, Cuba.

Diseño experimental

Los animales fueron divididos en seis grupos de 10 animales cada uno; grupo 1 se induce la inflamación con aceite de crotón 0,6 mg/oreja en 20 µL de acetona; grupo 2 se aplica 20 µL de acetona solo como vehículo del aceite de crotón; grupo 3, se aplica como fármaco de referencia 0,05 mg de dexametasona/oreja en 20 µL de acetona y a los 30 minutos se aplica el aceite de crotón 0,6 mg/oreja; grupo 4 se aplica el aceite de teobroma virgen 3 mg/oreja en 20 µL de acetona y a los 30 minutos se aplica el aceite de crotón 0,6 mg/oreja; grupo 5 se aplica el aceite de teobroma ozonizado 1 mg/oreja en 20 µL de acetona y a los 30 minutos se aplica el aceite de crotón 0,6 mg/oreja; grupo 6 se aplica el aceite de

teobroma ozonizado 3 mg/oreja en 20 μ L de acetona y a los 30 minutos se aplica el aceite de crotón 0,6 mg/oreja.

Inducción del edema por aceite de crotón

Se mezclan 0,6 mg de aceite de crotón con 20 μ L de acetona, cuya disolución es aplicada tópicamente en la oreja derecha del ratón, mientras que la oreja izquierda fue tomada como control. A los ratones se les practicó la eutanasia 4 horas después, mediante dislocación cervical y se le realizó un ponche en la oreja de 6 mm de diámetro. El edema fue expresado como la diferencia entre el peso del ponche de la oreja inflamada y el control ¹¹.

Determinación del edema producido

La porción de ponche de cada una de las orejas, fue pesada y se expresó como la diferencia entre el peso de la oreja derecha y la oreja izquierda que fue el control expresada en miligramos.

Análisis estadístico

Los datos fueron expresados como las medias \pm las desviaciones estándar. Las diferencias entre las medias de los grupos fueron comparadas utilizando el sistema NCSS y la prueba de Mann-Whitney. Se tomó como nivel de significación estadística $p < 0,05$.

Resultados y Discusión

En la tabla 1 se muestran los pesos de los tejidos (medida de formación de edema), observándose que para el grupo 4 el aceite de teobroma virgen aplicado 30 minutos antes que el aceite de crotón no reduce la respuesta inflamatoria inducida por este último. Sin embargo el aceite de teobroma ozonizado a las dos concentraciones evaluadas redujo la respuesta inflamatoria en los grupos 5 y 6. Esta reducción en la respuesta inflamatoria fue significativa para el grupo 5 donde se aplicó aceite de teobroma ozonizado 1 mg y fue no significativa para el grupo 6 donde se utilizó aceite de teobroma ozonizado 3 mg. Esta diferencia en los resultados obtenidos cuando se aplican diferentes concentraciones de aceite de teobroma ozonizado, pudiera ser debido a que cuando se utiliza mayor dosis aparentemente ocurre un efecto proinflamatorio adverso. El grupo 3 donde se aplica la dexametasona control positivo también redujo la respuesta inflamatoria siendo esta significativa al ser comparada con el grupo control 1.

Tabla 1. Resultados de la actividad antiinflamatoria en tejido de la oreja de ratón.

Grupos	Peso (mg) Media ± DE	p	% Inhibición
Grupo 1 Aceite de Croto	10,66 ± 0,78	-	-
Grupo 2 Acetona	6,80 ± 0,28	0,0006	-
Grupo 3 Dexametasona	8,10 ± 0,59	0,02	24,01
Grupo 4 Aceite de teobroma virgen	10,36 ± 0,53	0,6240	-
Grupo 5 Aceite de teobroma ozonizado 1 mg	8,45 ± 0,37	0,0494	20,7
Grupo 6 Aceite de teobroma ozonizado 3 mg	9,51 ± 0,56	0,307	10,8

p < 0,05 estadísticamente significativo respecto al grupo 1

Sin embargo, el grupo 4 de aceite de teobroma virgen no presenta efecto antiinflamatorio, mientras que la respuesta antiinflamatoria obtenida en los grupos 5 y 6 al aplicar el aceite de teobroma ozonizado aplicado 30 minutos antes de la inducción de la respuesta inflamatoria con el aceite de croton presentó poco efecto antiinflamatorio obteniéndose a la dosis de 1 mg (20,7 % de reducción) y a la dosis de 3 mg (10,8 % de reducción) respecto al grupo 1 que utiliza aceite de croton.

Conclusiones

Ha sido demostrado para el modelo de edema en la oreja del ratón que el aceite de teobroma ozonizado al ser aplicado en la dosis de 1 mg presenta efecto antiinflamatorio el cual es significativo estadísticamente al ser comparado con el grupo control de aceite de croton con un 20,7 % de inhibición antiinflamatoria, mientras que el aceite de girasol ozonizado a la dosis de 3 mg no tuvo una respuesta antiinflamatoria significativa con un 10,8 % de reducción de la inflamación. Podemos concluir que estos resultados constituyen la primera evidencia del efecto antiinflamatorio del aceite de teobroma ozonizado.

Bibliografía

1. Fernández I, Curtiellas P, Sánchez E, Gómez M. In vitro antimicrobial activity of ozonized theobroma oil against *Candida albicans*. *Ozone Sci. Eng.* 2006; 28(3): 187-19
2. Díaz M, Fernández H, Gómez M, Rosa I. Meneau, García K, Sánchez Y, Dennis P, Piña Y, Manet B, García L, Dayana Gil. Renovación de la Materia Prima ozonizada para cosmético. Marca OZONOL 2007; No. 2R-069/04 XII.
3. Díaz M, Fernández H, Gómez M, Rosa I. Meneau, García K, Sánchez Y, Dennis P, Piña Y, Manet B, García L. Renovación del registro sanitario Crema Revitalizadora Ozonizada OZONOL 2006; No. R-097/03 XXIV.
4. Franco L, Matiz G, Calle J, Pinzón R, Ospina L. Actividad antiinflamatoria de extractos y fracciones obtenidas de cálices de *Physalis peruviana* L. *Biomédica* 2007; 27:110-105.
5. Sautebin L. Prostaglandins and nitric oxide as molecular targets for anti-inflammatory therapy. *Fitoterapia*, 2000; 71(Suppl. 1): S48-57.
6. Kochkov V, Leitinger N. Anti-inflammatory properties of lipid oxidation products. *J. Mol. Med.* 2003; 14: 421-430.
7. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol* 2003; 14: 421-430.
8. Zamora Z, González Y., Ledon N. Efecto del aceite de girasol ozonizado sobre la actividad de la Mieloperoxidasa en el modelo de edema en la oreja de ratón. *REDVET* 2006; VII(12):1-6.
9. Miura T, Yamazaki A, Noji H, Tamoto H. Mechanism on antiinflammatory effects of ozonated oil. *Proceeding of Fifth Congress of Japan Research Association for the Medical & Hygienic Use of Ozone* 2004:25-33.
10. Nakamuro K, Sakazaki H, Okuno T, Ueno H. Suppressive effects on immune cells and oxidative cytotoxicity of ozonated olive oil. *IOA 17th World Ozone Congress-Stranburg* 2005.
11. Ledon N, Casacó A, González R, Merino N, González A, Tolón Z. Antisoriatic antiinflammatory and analgesic effects of an extract of red propolis. *Acta pharmacol. Sin.* 1997; 18:274-276.