

EVALUACIÓN DEL EFECTO CITOTÓXICO DE DOXICICLINA SOBRE LA LÍNEA CELULAR CHO-K1

Autores: De Luca, J.C.; Daniele, M.; Dadé, M.; Mestorino, N.;

Resumen

Doxiciclina (DOX) es un antimicrobiano semisintético perteneciente al grupo de las tetraciclinas, muy utilizado en medicina veterinaria en aves de corral y en cerdos, para el tratamiento de enfermedades infecciosas del tracto digestivo y respiratorio. Si bien están establecidos los límites máximos de residuos (LMRs) permitidos en tejidos comestibles de origen animal (100 ng/g en músculo, 300 ng/g en hígado y grasa; y 600 ng/g en riñón), los efectos nocivos del antimicrobiano en concentraciones subresiduales a nivel celular y genético aún no están del todo dilucidados. Se evaluó el índice mitótico en células CHOK1 tratadas con diferentes concentraciones de DOX cercanas e inferiores al LMR establecido en animales de consumo. Las células se cultivaron en medio F10 de Ham (Gibco BRL) suplementado con 10 % de suero fetal bovino y antibióticos (50 UI de penicilina y 50 µg/ml estreptomycin) en una atmósfera húmeda con 5 % de CO₂; en un matraz Falcon T-25 durante un ciclo de 18h. Las concentraciones evaluadas de DOX fueron: 0mc (Células sin tratar control –medio de cultivo-); 0sd (Células tratadas con solución de dilución del antimicrobiano); 10; 20; 100; 225 y 300 ng/ml de DOX. El ensayo fue realizado por triplicado. Dos horas antes de proceder a la evaluación del índice mitótico, las células fueron expuestas a la acción de la colchicina (0,1 mg/ml) (Sigma Chemical Co). Las preparaciones cromosómicas se realizaron por goteo de la suspensión celular en solución de fijación fresca sobre portaobjetos limpios, y luego fueron teñidas con Giemsa al 5% durante 10 minutos. El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de χ^2 . Los resultados revelaron que la concentración más alta de DOX ensayada indujo una disminución estadísticamente significativa del índice mitótico ($P < 0.001$). Justamente esa concentración es coincidente con el LMR establecido en hígado y grasa de animales tratados con DOX. En estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación, ese nivel (300 ng/g) se alcanza recién a partir de los 9 días pos-tratamiento de los animales. Sin embargo se desconocen los efectos a nivel genético que pueden acontecer cuando los niveles residuales caen por debajo del LMR. A partir de este primer ensayo hemos determinado la concentración antimicrobiana que presenta efecto citotóxico, lo que nos permitirá continuar con la evaluación del efecto genotóxico, en la misma línea celular, inducido por DOX en concentraciones inferiores al LMR establecido.

Fecha de Recibido: 01-12-13

Fecha de Publicación: 20-12-13