

Efectos de la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente sobre células mononucleares

Clara E Martínez, Irasema Pérez, Humberto Morris, Roberto Fontainer

Centro de Estudios de Biotecnología Industrial, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad de Oriente
AP 4011, CP 90400, Santiago de Cuba, Cuba
E-mail: clarita@cebi.uo.edu.cu

RESUMEN

Se estudia, por primera vez, la acción estimulante de la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente con campo estático, a una inducción magnética de 0.12 T y una velocidad de flujo de 0.3 m/s, sobre células mononucleares. El índice de estimulación de células mononucleares periféricas humanas cultivadas *in vitro*, en el grupo que recibió CM-95 tratada magnéticamente (GTM) resultó significativamente superior con respecto al resto de los grupos ensayados ($p < 0.05$). El conteo de macrófagos peritoneales en ratones Balb/c y la actividad de la enzima fosfatasa ácida lisosomal, mostraron valores similares entre los grupos GTM y control con BCG (8.6 y 9×10^6 macrófagos/ratón; 50 y 46 nmol de p-nitrofenol/ 1×10^5 células en 60 minutos, respectivamente) y mayores, respecto a los grupos que recibieron la solución sin tratar y el grupo control sin administrar ($p < 0.05$). El índice fagocítico y el por ciento de fagocitosis en las células fagocíticas peritoneales se determinó una hora después de la inoculación intraperitoneal de levaduras, mostrando valores superiores en el GTM, con 1.64 y 75.25%, respectivamente. Se demostró que la solución CM-95 tratada magnéticamente puede estimular células mononucleares humanas y de ratones Balb/c, activando su proliferación y funcionalidad fagocítica respectivamente, resultados que demuestran su acción potenciadora sobre poblaciones importantes involucradas en la respuesta inmune.

Palabras claves: magnetismo, inmunopotenciación, células mononucleares periféricas humanas (CMNPs), macrófagos peritoneales, fagocitosis

Biotecnología Aplicada 2004;21:224-228

ABSTRACT

Effects of magnetically treated CM-95 salts solutions on mononuclear cells. This is the first report of the stimulanting action of the magnetically treated CM-95 salt solution (GTM) with a static field of 0.12 T and a flow speed of 0.3 m/s on mononuclear cells. The stimulation index of human peripheral blood mononuclear cells *in vitro* cultivated in the CM-95 magnetically treated group was significantly higher than the others groups ($p < 0.05$). The peritoneal macrophage counts in Balb/c mice and the lisosomal enzyme acid phosphatase activity showed similar values between GTM and a positive control group with BCG, of 8.6 and 9×10^6 macrophages/mice and of 5.0 and 4.6 nmol of p-nitrophenyl $\times 10^5$ cells in 60 minutos, respectively. These values were higher than the groups that received the solution without the magnetic treatment ($p > 0.05$). One hour after the intraperitoneal inoculation of yeast, the phagocytic index and per cent of phagocytosis in peritoneal cells were higher in the GTM with 1.6 and 74.3 per cent respectively. It was demonstrated that the CM-95 magnetically treated solution can stimulate the proliferation of human mononuclear cells and increase the phagocytic function of mononuclear cells in Balb/c mice. These results make evident the immunopotentiating action of GTM on important populations involved in the immune response.

Keywords: magnetism, immunopotential, human peripheral blood mononuclear cell (PBMC), peritoneal macrophages, phagocytosis

Introducción

Constituye una prioridad la búsqueda de nuevas sustancias con actividad inmunopotenciadora; con este propósito se evalúan numerosas sustancias tanto de origen natural como sintético, para su uso en formulaciones vacunales y en inmunoterapia lo que requiere de potenciadores capaces de modificar o estimular la respuesta inmune [1]. En particular, la evaluación de la solución CM-95 tratada magnéticamente con estos fines constituye una novedad [2], aún cuando ya existen reportes de la sensibilidad del sistema inmune al campo magnético estático de frecuencia extremadamente baja y a sistemas acuosos tratados magnéticamente. Entre estos se destacan los efectos sobre células blancas de la sangre como macrófagos, linfocitos [3] y células NK [4], así como sobre la producción de citoquinas [5] y la estimulación de factores de diferenciación y adhesión celular [6]. También se han reportado estudios de toxicidad o genotoxicidad del campo magnético sobre linfocitos humanos [7, 8].

El efecto de la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente como potenciador inmunológico de la respuesta humoral ha sido demostrado en experimentos desarrollados con diferentes esquemas de inmunización en ratones Balb/c, en los cuales se inoculó la solución CM-95 tratada magnéticamente con inducciones magnéticas en el intervalo de 0.01-0.16 T junto a antígenos de *Bacillus cereus* [9] y *Pseudomonas aeruginosa* [10]. Estos resultados han permitido proponer su uso como adyuvante inmunológico para la obtención de sueros policlonales antibacterianos y sugerir su empleo en otros inmunobiológicos [2].

Con el objetivo de profundizar en su acción sobre la respuesta inmune celular, por primera vez, en este trabajo se investigan los efectos de la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente mononucleares humanas y sobre macrófagos peritoneales de ratones Balb/c, al conocer el índice de estimulación de células mononucleares periféricas humanas (CMNPs)

1. Aucouturier J, Dupuis L, Ganne V. Adjuvant designed for veterinarian human vaccines. *Vaccine* 2000;19:2666-72.

2. Martínez CE, Cano B, Cobas G, Pérez I, Hurtado A, Correa M. Solución Adyuvante. Patente Cubana 1999. Certificado No. 22583.

3. Jankovic BD, Maric D, Ranin T & Veljic. Magnetic Fields, brain and immunity effects of humoral and cell-mediated Immune Response. *Int Journal Neurosci* 1991;59:25-43.

4. Seze de R, Bouthet C, Tuffe T, Deschaux P, Caristan A, Moreau I, Veyret B. Effects of time-varying uniform magnetic fields on Natural Killer cell activity and antibody response in mice. *Bioelectromagnetic* 1993;14:405-12.

5. Sotang W. Modulation of cytokine production by interferential current in differentiated HL-60 cells. *Bioelectromagnetic* 2000;21:238-44.

cultivadas *in vitro* y la activación *in vivo* de macrófagos peritoneales murinos, resultados que abren nuevas perspectivas para el posible uso de esta sustancia en la inmunoterapia.

Materiales y métodos

Solución CM-95

Esta solución fue preparada a partir de sales de cloro y sodio a una concentración entre 0.1 y 2% en agua destilada, se envasó por filtración y se esterilizó en autoclave a 121 °C y 1 atm de presión [2].

Tratamiento magnético

La solución CM-95 se hizo pasar a una velocidad de flujo de 0.3 m/s por un equipo de imanes permanentes para sistemas acuosos, diseñado y construido por el Centro Nacional de Electromagnetismo Aplicado (CNEA, Santiago de Cuba). El equipo fue validado con el Gausímetro 6673-2, calibrado por la Norma Internacional ANSI 75401-94. La caracterización fue verificada por el sistema de calidad de la magnitud inducción magnética establecida por la Oficina Nacional de Normalización (ONN) y el CNEA. La solución recibió una inducción magnética de 0.12 T.

Animales

Se utilizaron 10 ratones Balb/c hembras, de 18-20 g de peso y 6 semanas de nacidos, en cada grupo experimental seleccionado, donde cada animal constituyó una réplica independiente. Estos fueron suministrados por el Laboratorio de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX[®], Santiago de Cuba). Los animales se mantuvieron en cajas plásticas en locales asépticos a una temperatura de 28 ± 2 °C y una humedad relativa de 60-65%. Se le suministró agua acidulada a un pH de 2.5-2.8 y pienso ratonina proveniente de CENPALAB (Cuba), ambos *ad libitum*. Su atención se realizó de acuerdo con las normas internacionales establecidas por la Comunidad Económica Europea para el cuidado y empleo de animales de laboratorio [11].

Para los experimentos se formaron diferentes grupos: uno que recibió CM-95 tratada magnéticamente (GTM), otro con CM-95 sin tratar magnéticamente (GSTM), un control con BCG (GCP), y como controles negativos animales sin inocular (GCN) y células sin tratamiento (GC).

Índice de estimulación en células mononucleares periféricas humanas

Separación de CMNPs humanas

La separación de células mononucleares periféricas (CMNPs) se realizó a partir de 20 mL de sangre periférica de 12 voluntarios sanos colectada en 2 mL de EDTA al 5% y diluida 1:10 en solución salina tamponada con fosfato (PBS) 10X. Se retiró el plasma por centrifugación a 300 g durante 10 minutos. El precipitado celular fue resuspendido en 30 mL de PBS 10X. Los linfocitos de la sangre periférica (PBL) fueron recuperados por centrifugación en un gradiente de densidad usando Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Inglaterra), formándose 6 pools con los PBL aislados los que constituyeron igual número de muestras. Estos fueron lavados y resuspendidos en 20 mL de

PBS conteniendo 5 mL de RPMI 1640 (GIBCO-BRL, EE.UU.) suplementado con suero fetal bovino y ajustándose su concentración a 5×10^6 células/mL. La viabilidad celular se estimó mediante conteo en cámara de Neubauer (Fein Optic, Jena, Alemania) en un Microscopio Olympus Modelo (DMLB y CH2, Alemania) a 1000X por el método de exclusión con azul tripano.

Cultivo de células *in vitro*

El cultivo de células se desarrolló en placas de 96 pocillos Nudon Surface (Maxisorb immunoplate Nunc Denmark) añadiendo 100 μ L de células en medio RPMI, 50 μ L de fitohemaglutinina (PHA) (Sigma, EE.UU.) y 50 μ L de CM-95 con tratamiento y sin tratamiento magnético (GTM, GSTM), respectivamente, para un volumen total de 200 μ L por pozo. En el grupo GC el volumen de CM-95 fue sustituido por medio RPMI 1640 (GIBCO-BRL, EE.UU.). Para el control correspondiente a cada grupo se sustituyó el volumen de PHA (50 μ L) por medio RPMI 1640. Todas las muestras fueron montadas en la placa por duplicado. La proliferación celular fue medida por incorporación de timidina tritiada (Amersham, Inglaterra). Se administró 1 μ Ci de [³H]-timidina/pozo 1 hora previa a la incubación de las células a 37 °C en atmósfera de 5% de CO₂ y 85% de humedad relativa durante 72 horas. El medio fue removido de cada pozo, las células lavadas y colectadas en papel de fibra de vidrio Whatman (SIGMA, EE.UU.) y secadas durante 2 horas a 37 °C. Se determinaron las cuentas por minutos de cada muestra en un Contador LKB 1209 Rackbeta (Alemania)[12]. Los resultados se expresaron como:

$$\text{Índice de estimulación} = \frac{\text{Cuentas/min (Cpm) de la muestra por grupo experimental}}{\text{Cuentas/min (Cpm) del control correspondiente sin PHA}}$$

Conteo de macrófagos en el exudado peritoneal

El esquema desarrollado en los ratones Balb/c para extraer los macrófagos peritoneales, constó de una inoculación cada 24 horas durante 3 días, con un volumen de 0.2 mL por animal en todos los grupos experimentales (GTM, GSTM, GCP). Se dejó reposar un día y al siguiente, se colectaron los macrófagos de la cavidad peritoneal con 5 mL de solución salina tamponada con fosfato, pH 7.4, suplementada con seroalbúmina bovina al 1% (PBS-BSA) (BDH, Inglaterra). Además, se utilizó como control negativo un grupo de animales que no fue inoculado (GCN). Las células obtenidas fueron lavadas 3 veces con PBS-BSA al 1% estéril a 4 °C y centrifugadas a 1 500 g por 10 minutos a 4 °C. Los precipitados obtenidos fueron resuspendidos en 50 μ L del mismo tampón. Las concentraciones fueron determinadas en cámara de Neubauer (Fein Optic, Jena, Alemania) [13].

Determinación de la actividad de la enzima fosfatasa ácida lisosomal en macrófagos peritoneales

Se ajustó la concentración de los macrófagos peritoneales obtenidos de cada muestra a 1×10^5 células/mL en RPMI 1640 (GIBCO-BRL, Estados Unidos) en todos los

6. Manni V, Lisi A, Pozzi D, Rieti S, Sefarino A, Livio G, Grimaldi S. Effects of extremely low frequency (50Hz) magnetic field on morphological and biochemical properties of human keratinocytes. *Bioelectromagnetic* 2002;24:298-305.

7. Thun-Battersby S, Westermann J, Loscher W. Lymphocyte subset analyses in blood, spleen and lymph nodes of female Sprague-Dawley rats after short or prolonged exposure to a 50 Hz 100-microT magnetic field. *Radiat Res* 1999; 152:436-3.

8. Heredia R, Rodríguez O, Velasco C, Leal G, et al. Cytological effects of 60Hz magnetic fields on human lymphocytes *in vitro*: sister chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic rate. *Bioelectromagnetic* 2001;22:145-49.

9. Martínez C, Pérez I, Infante J, Sierra G, Delgado L, Cobas G, Fontainer R, Almenares J. Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos particulados en ratones de la línea Balb/c por vía intraperitoneal. *Vaccinmonitor* 1999;8:2-6.

10. Martínez C, Cobas G, Lebeque Y, Fontainer R, Pérez I, Morris H, Almenares J. Evaluación de la sustancia CM-95 tratada magnéticamente como inmunopotenciador con antígenos de *Pseudomonas aeruginosa*. *Biotechnología Aplicada* 2003;20:160-3.

11. Comunidad Económica Europea. Líneas directivas relativa al alojamiento y a los cuidados de los animales. Diario oficial de las Comunidades Europeas. Editor CEE, Directiva 86/609 /CEE Anexo II 1986-95-102.

12. Dantos D, Queiroz M. Effects of *Chlorella vulgaris* on bone marrow progenitors cells of mice infected with *Listeria monocytogenes*. *Int J Immunopharmacol* 1999;21:609-11.

13. Edelson P, Cohn Z. *In vitro* methods in cells-mediated and tumour immunity. New York: Academic Press 1976. p.333.

grupos experimentales. Las suspensiones celulares así obtenidas fueron centrifugadas, añadiéndose a los precipitados 0.1 mL de tritón X-100 al 0.1% (SIGMA, EE.UU.) para su solubilización, 0.5 mL de nitrofenil fosfato (SIGMA, EE.UU.) como sustrato y 0.4 mL de tampón citrato 0.1 mol/L (pH 5.0). Las mezclas de reacción se incubaron a 37 °C durante 1 hora. A continuación se añadió 1 mL de tampón borato 0.2 mol/L (pH 9.8) (SIGMA, EE.UU.) y se determinó la absorbancia a 405 nm. La actividad enzimática se expresó como nmoles de p-nitrofenol liberados por 1×10^5 macrófagos en 60 minutos [14].

Fagocitosis

Se realizó una modificación a la técnica de Sherry, *et al* [15]. Dos grupos de diez ratones Balb/c cada uno, fueron inoculados por vía intraperitoneal con dosis de CM-95 con o sin tratamiento magnético, al tiempo 0 y a las 2 horas, recibiendo a las 2 ½ horas de la segunda inoculación 0.5 mL de una solución de *Saccharomyces cerevisiae* CB-09 suspendidas en NaCl 0.9% (Laboratorio Farmacéutico Oriente, Santiago de Cuba) y a una concentración de 4×10^6 células/mL. Transcurrida una hora se colectaron las células peritoneales con PBS-BSA 1% a 4 °C, las que fueron lavadas tres veces por centrifugación a 1500 g durante 10 minutos para eliminar las levaduras que no fueron fagocitadas. Luego, las células fueron fijadas en portaobjetos y teñidas con solución Giemsa. Se añadió un grupo control (GCN) para comparar los resultados. Se determinó el por ciento de fagocitosis y el índice fagocítico en 100 células según la expresión [16]:

$$\text{Índice fagocítico} = \frac{\text{No. de levaduras fagocitadas}}{100}$$

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos en los diferentes parámetros evaluados en cada grupo, fueron procesados con el programa STATGRAPHICS versión 3.1 para Windows 98. Se aplicó análisis de varianza (ANOVA) de clasificación doble según diseño aleatorizado acoplado a la Prueba de Rangos múltiples de Duncan en caso de que existieran diferencias significativas entre las medias de los distintos tratamientos.

Resultados y discusión

Índice de estimulación en CMNPs humanas

Los valores del índice de estimulación de células mononucleares periféricas cultivadas *in vitro* con PHA fueron superiores en GTM con una inducción magnética de 0.12 T, el cual difirió significativamente con relación al grupo que recibió la solución sin tratamiento magnético y al GCN; a su vez, el GCN presentó diferencias estadísticas con relación al GSTM ($p < 0.05$) (Figura 1).

Estos resultados muestran que la solución CM-95 tratada magnéticamente pudo potenciar la acción de la fitohemaglutinina en la concentración utilizada estimulando, en mayor medida, la proliferación de las células mononucleares periféricas de sangre humana, las cuales poseen gran importancia en la inmunidad [17]. Contradictoriamente, en trabajos desarrollados

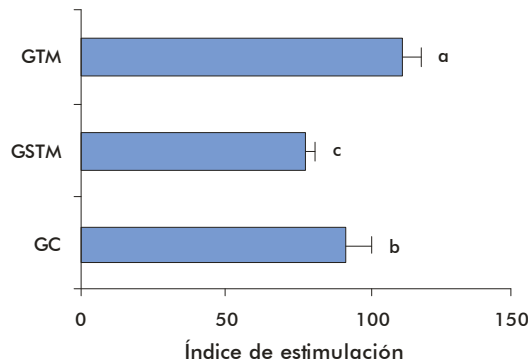


Figura 1. Índice de estimulación (IE) por incorporación de H^3 en CMNPs humanas cultivadas *in vitro* con PHA 1:100 y CM-95 TM. Los mayores valores en el IE fueron para el GTM, con diferencias significativas con relación a los grupos controles GSTM y GC; y de este último con relación al GSTM ($p < 0.05$). Medidas con letras diferentes representan diferencias significativas entre grupos.

con campos magnéticos de frecuencia extremadamente baja (50 y 60 Hz) e inducciones magnéticas de 500, 100, 20 y 2 μ T no se encontraron efectos de éstos sobre células mononucleares periféricas humanas, pues no aumentaron su proliferación celular ni se estimuló la producción de citoquinas en los linfocitos [18]. Al utilizar campos estáticos de 4.75 T se encontró el mismo tipo de comportamiento [19].

Conteo de macrófagos por exudado peritoneal

Los macrófagos se movilizaron hacia el peritoneo bajo la estimulación recibida en GTM. La población celular mostró valores similares a los obtenidos en el GCP cuando se utilizó BCG. Ambos grupos mostraron diferencias significativas respecto al GSTM y a los animales sin inocular ($p < 0.05$) (Figura 2).

Otros trabajos refirieron resultados similares al utilizar CM-95 con tratamiento magnético como vehículo de un antígeno somático de bacterias del género *Bacillus sp.* [9] y *Pseudomonas sp.* [10], lo cual evidencia los efectos del tratamiento magnético en la estimulación de la movilización de macrófagos hacia el peritoneo cuando se inocula por vía intraperitoneal (i.p.) con la solución CM-95 tratada magnéticamente, ya sea con antígeno o sin él.

Determinación de la actividad de la enzima lisosomal fosfatasa ácida en macrófagos

Los grupos que recibieron la solución CM-95 tratada magnéticamente y el grupo que recibió BCG presentaron valores más elevados en la actividad lisosomal de los macrófagos peritoneales que a los grupos que recibieron la solución CM-95 sin tratar magnéticamente o ningún tratamiento ($p < 0.05$), lo cual es muestra de la estimulación inducida sobre la actividad de esta enzima involucrada en la función efectora de los macrófagos, como parte de la defensa del organismo [9]. Por otra parte, el GSTM y el GCN reportaron los valores más bajos en la actividad de esta enzima sin diferencias estadísticas entre ellos (Figura 3).

Se ha demostrado que la enzima fosfatasa ácida actúa sobre ésteres de compuestos con grupos fosfatos en su

14. Kiho T, Shiose Y, Nargai K, Shigeo U. Polysaccharides in Fungi. XXX. Antitumour and immunomodulating activities of two polysaccharides from the fruiting bodies of *Armillariella tabescens*. Chem Pharm Bull 1992;40:2110-4.

15. Sherry D, Fleming A, Campbell PA. Macrophages have cell surface IL-10 of that regulates macrophages bactericidal activity. J Immunol 1996;156:1144-50.

16. Pico M, López S, Delfin J. Manual de Prácticas de Inmunología. La Habana: Editorial Pueblo y Educación 1986.p.94.

17. Abbas KA, Lichtman HA, Pober SJ. Inmunología Celular y Molecular. 2da Edición. New York. Healthcare Group: Interamericana Mc Graw-Hill 1996. p.23-5.

18. Ikeda K, Shinmura Y, Mizoe H, Yoshizawa H, Yoshida A, *et al.* No effects of extremely low frequency magnetic fields found on cytotoxic activities and cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells *in vitro*. Bioelectromagnetic 2003;24:21-31.

19. Aldinucci C, Blanco J, Palmi M, Sgaragli G, Benocci A, *et al.* The effect of strong static magnetic field on lymphocytes. Bioelectromagnetic 2003;24:109-17.

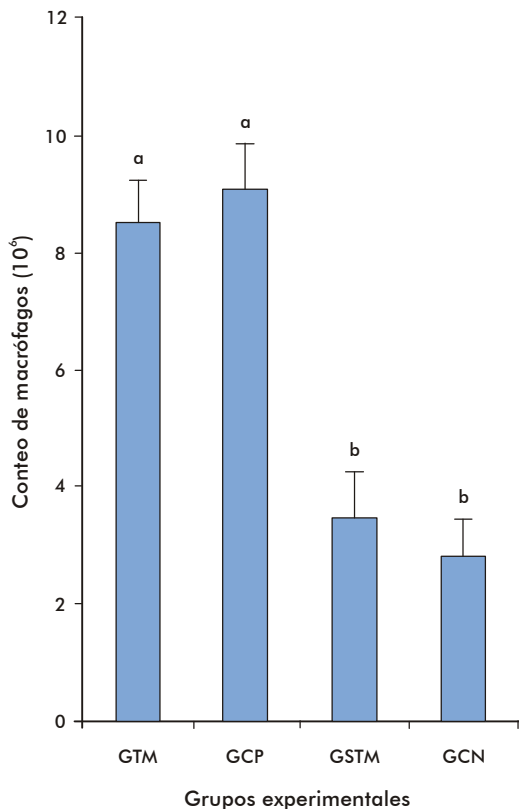


Figura 2. Conteo de macrófagos por exudado peritoneal en ratones Balb/c (n=10) inoculados por vía intraperitoneal. El GTM exhibió valores muy similares al GCP, y muy por encima de los grupos controles, GSTM y GCN, con diferencias significativas para estos grupos ($p < 0.05$). Las medias con letras diferentes representan diferencias significativas entre grupos.

estructura y ha sido referida la participación de la vía alternativa del complemento, particularmente del componente C3b en su activación. Nuestros resultados sugieren la activación potencial del sistema del complemento como parte del mecanismo de acción de la solución CM-95 tratada magnéticamente [20]. Además de activar una enzima que en conjunto con otras enzimas

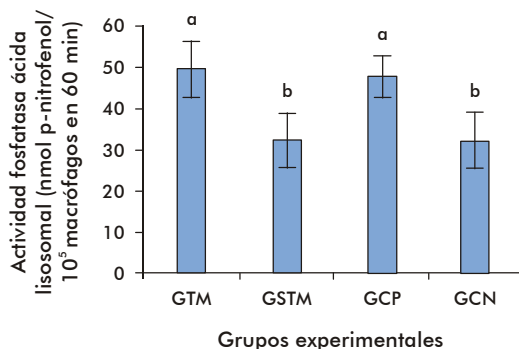


Figura 3. Actividad de la enzima fosfatasa ácida en macrófagos peritoneales de ratones Balb/c inoculados por vía intraperitoneal con CM-95 tratada magnéticamente. La enzima lisosomal fosfatasa ácida se activó en mayor medida en los grupos GTM y GCP, las diferencias significativas fueron de estos dos grupos con relación a los controles GSTM y GCN ($p < 0.05$). Las medias con letras diferentes representan diferencias significativas entre grupos.

lisosomales en macrófagos, propicia el segundo mecanismo fagocítico independiente de O₂, como parte de los mecanismos inespecíficos de defensa [21].

Fagocitosis

El GTM indujo la mayor actividad fagocítica, reflejado en un mayor índice fagocítico y por ciento de fagocitosis; sin embargo, el GSTM mostró un comportamiento muy similar al GCN (Tabla 1). Estos resultados evidencian en general la mayor actividad de los fagocitos extraídos de los animales que recibieron la solución CM-95 tratada magnéticamente, lo cual pudiera corresponderse con el comportamiento observado en la actividad de la fosfatasa ácida, en función de una eliminación más rápida del agente extraño, microorganismos en nuestro caso, o bien en la destrucción de células tumorales [17, 20].

En todos los experimentos desarrollados la solución CM-95 tratada magnéticamente y administrada al GTM demostró su acción estimulante hacia los macrófagos peritoneales de ratones Balb/c y las CMNPs humanas, mostrando diferencias marcadas con el GSTM que recibió la solución CM-95 sin aplicarle el tratamiento magnético.

Las diferencias significativas del GTM con respecto a los controles GSTM y GCN, en las variables medidas, posiblemente tengan explicación por la acción del campo magnético sobre la solución. Es posible que se deba a la acción de la fuerza magnética generada por el campo y dependiente del gradiente magnético que se produjo en el equipo para obtener la inducción magnética utilizada, según lo planteado por Bardasano en el año 2000 [22]. En la caracterización efectuada por el CNEA al equipo de imanes permanentes (resultados no mostrados), se evidenció la existencia de un gradiente de campo magnético al generar la inducción magnética utilizada en este trabajo, lo cual concuerda con lo planteado anteriormente.

Por otro lado, la fuerza magnética que produjo el campo magnético estático al actuar sobre los iones cargados de la solución, probablemente los reorienta según la dirección del campo [22], induciendo en ella cambios que pudieran expresarse en sus propiedades físico-químicas como el aumento de la tensión superficial, aspecto referido por Rodríguez y col. en 1998 [23].

Diversos científicos han planteado múltiples hipótesis para explicar los bioefectos que puede producir el campo magnético, las cuales se resumen en posibles cambios conformacionales de las biomoléculas cargadas presentes en la membrana celular (proteínas intramembranas, fosfolípidos, enzimas)[24, 25], cambios en los canales iónicos y efectos sobre el ion calcio [26], el cual, a su vez, tiene efecto sobre el metabolismo celular (ej. síntesis proteica, actividad enzimática, y otros [27]). Tomando

Tabla 1. Actividad fagocítica en macrófagos peritoneales de ratones Balb/c inoculados por vía intraperitoneal con la solución CM-95 tratada magnéticamente

Grupos	n=10	% de fagocitosis	Índice fagocítico
GTM		75,2 ± 3,7 ^a	1,64 ± 0,07 ^a
GSTM		51,8 ± 3,0 ^b	0,55 ± 0,09 ^b
GCN		48,0 ± 2,00 ^b	0,48 ± 0,09 ^b

Las medias con letras diferentes indican diferencias significativas en la prueba de rangos múltiples de Duncan ($p < 0.05$).

20. Jarmila W, Miroslav F. Secretory and regulatory products of macrophages in the immune and inflammatory reactions. *Biología*, Bratislava 1993;48:709-17.

21. Faimboaim L, Sáez M. Introducción a la Inmunología Humana. Editorial Mosby. Barcelona. España 1996. p.2-10.

22. Bardasano JL. Bioelectromagnetismo: Ciencia y Salud. Serie Madrid: McGraw - Hill de Divulgación Científica 2000. p.75-93.

23. Rodríguez B, Correa M, Hurtado A. Efectos del tratamiento magnético del agua y soluciones acuosas. *Revista Cubana de Química* 1998;10:68-75.

24. Bersani F, Marinielli F, Ognibene A, Mahenci A. Intramembrane particle IMP redistribution in cell cultures exposed to ELF pulsed magnetic fields. In: Brighton CT, Pofock SR, Ed. *Electromagnetic in Medicine and Biology*. San Francisco: San Francisco Pres. 1997. p.117-20.

25. Bersani F, Marinielli F, Ognibene A, Mahenci A, Cecchi S, Santi S, et al. Intramembrane protein distribution in cell cultures is affected by 50Hz pulsed magnetic fields. *Bioelectromagnetic* 1997;18:463-9.

26. Walleczek J. Electromagnetic field effect on cells on the immune system: the role of calcium signalling. *FASEB J* 1992;6:3177-85.

27. Weaver J. Understanding conditions for which biological effects in the solution of no ionizing electromagnetic fields can be expected. *Bioelectrochemistry* 2002; 56:207-9.

en cuenta lo anterior, se puede argumentar la hipótesis de que, una vez modificada la solución por el campo magnético, su mecanismo de acción pueda ser por interacción de las células con las biomoléculas cargadas las que al ponerse en contacto con las membranas biológicas pudieran inducir cambios conformacionales y funcionales en ellas. Otra hipótesis es que influya en el metabolismo del calcio, lo cual podría explicar los resultados obtenidos en la proliferación de las células mononucleares, la activación de la fagocitosis con valores casi tres veces superiores en el índice fagocítico, y la estimulación observada en la enzima lisosomal, diferenciando sus efectos con relación a la misma solución sin tratar magnéticamente.

Recibido en enero de 2004. Aprobado en agosto de 2004.

Estas evidencias experimentales sustentan el planteamiento de que la solución de sales CM-95 tratada magnéticamente puede sufrir modificaciones en sus características iniciales y al ponerla en contacto con sistemas celulares puede activar o incrementar su actividad biológica.

Agradecimientos

Agradecemos al Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC) por permitir gentilmente el desarrollo de la técnica del Índice de estimulación en CMNPs humanas y a la Colección de Cultivos Microbianos del Centro de Estudios de Biotecnología Industrial que nos donó la cepa de *Saccharomyces cerevisiae* CB-09.