

Cambios del sistema inmune en procesos inflamatorios durante la aplicación de la ozonoterapia

Ivonne Corcho, Frank Hernández, Natacha Reyes, Ana L. Carballo, Orlando Peña*, Tania Reyes** y Lubia Yanes**

*Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Avenida 25 y 158, Playa, Apartado Postal 6880, *Centro de Inmunología Molecular, **Laboratorios BETERA, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 25 de noviembre de 1997. Aceptado: 20 de diciembre de 1997.

Palabras clave: inflamación, ozonoterapia, linfocitos T, IgE, leucocitos.
Key words: inflammation, ozone therapy, T-lymphocyte-subsets, IgE, leukocytes.

RESUMEN. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de la ozonoterapia sobre los linfocitos T CD3, las subpoblaciones linfocitarias CD4⁺ y CD8⁺, la función leucocitaria CD45 y la expresión de la molécula HLA-DR en sangre periférica, así como, la concentración de IgE sérica en pacientes con enfermedades inflamatorias. Valores inicialmente patológicos en la expresión de CD45, HLA-DR y en las concentraciones de IgE variaron significativamente luego de 15 sesiones de autohemoterapia (40 µg/mL). Se observó una tendencia al restablecimiento de las subpoblaciones linfocitarias CD3, CD4⁺, CD8⁺ y del coeficiente CD4/CD8. Estos resultados sugieren que el tratamiento con ozono puede ser una terapia alternativa en enfermedades inflamatorias.

ABSTRACT. The aim of this work was to study the effect of ozone therapy on blood lymphocyte subpopulations (CD3, CD4⁺, CD8⁺), leukocyte function (CD45), HLA-DR molecule expression and the serum levels of IgE in patients with inflammatory diseases. Initial pathologic values in the expression of CD45 and HLA-DR and IgE concentrations were significant normalized after 15 endovenous ozone therapy sessions. A tendency to achieve normal values was observed in CD3, CD4⁺, CD8⁺ parameters. These results suggest that ozone treatment can be a beneficial alternative therapy in inflammatory process.

INTRODUCCION

Durante el desarrollo de las reacciones inflamatorias alérgicas, se produce una aparición por fases de distintas poblaciones celulares con patrones de migración complejos, que dependen de los estados de activación, de la presencia de moléculas quimiotácticas, de los tipos de moléculas de adhesión presentes en el endotelio vascular y de las citocinas liberadas en el medio.¹ A su vez, se plantea un incremento de la inmunoglobulina E y una relación privilegiada con las células inflamatorias.² Por otra parte, estudios experimentales recientes demuestran el papel del ozono como inductor de citocinas, además de la estimulación de mecanismos

de producción de inmunoglobulinas.^{3,4}

La determinación de la distribución de leucocitos, subpoblaciones linfocitarias y sus estados de activación, así como la concentración de IgE, como marcadores de la inflamación alérgica y del estado inmunológico del individuo, antes y después de la ozonoterapia, constituyeron los objetivos de este trabajo.

MATERIALES Y METODOS

En el estudio se incluyó un conjunto de pacientes a los que se les diagnosticaron enfermedades inflamatorias alérgicas (bronquitis, asma), de ambos sexos, con edades comprendidas entre 15 y 50 años, sin previo tratamiento con ozono. Los

pacientes fueron tratados por autohemoterapia (40 µg/mL) durante 15 sesiones. Las muestras sanguíneas fueron tomadas antes de comenzar el tratamiento con ozono y después de su conclusión.

Análisis de poblaciones celulares

Las poblaciones celulares se determinaron mediante citometría de flujo empleando anticuerpos monoclonales fluorescentes (FITC) (Centro de Inmunología Molecular, Ciudad de La Habana):

- ior t3 (IgG2a) anti CD3: Evaluación de linfocitos T.
- ior t4 (IgG2b) anti CD4: Evaluación de células T auxiliares/inductoras.
- ior t8 (IgG2a) anti CD8: Evaluación de linfocitos T citotóxicos/supresores.
- ior L3 (IgG1) anti CD45: Antígeno común leucocitario.
- ior dr1 (IgG2a) anti HLA clase II: Evaluación de linfocitos B, monocitos, linfocitos T activados y células presentadoras de antígeno.

Determinación de IgE

La determinación de IgE en suero se efectuó mediante el juego de reactivos para análisis inmunoenzimático de IgE (Centro de Inmunoensayo, Ciudad de La Habana).

Método estadístico

Para la comparación de muestras apareadas se utilizó la prueba de Wilcoxon (p < 0,05).

Para el análisis estadístico los resultados se agruparon según los valores iniciales (antes del tratamiento):

Grupo 1.- Total de pacientes.

Grupo 2.- Pacientes con valores iniciales dentro del intervalo de referencia.

Grupo 3.- Pacientes con valores iniciales patológicos superiores al intervalo de referencia.

Grupo 4.- Pacientes con valores iniciales patológicos inferiores al intervalo de referencia.

DISCUSION Y RESULTADOS

Los resultados relacionados con el porcentaje de células CD3, CD4⁺, CD8⁺ y el coeficiente CD4/CD8 en cada uno de los grupos de estudio, antes y después del tratamiento, se muestran en las figuras 1, 2, 3 y 4 respectivamente.

En los grupos 3 y 4, se observó una tendencia al restablecimiento de estas subpoblaciones linfocitarias T, que se encontraban inicialmente patológicos. Los elevados porcentajes de células CD3, CD4⁺ y CD8⁺ en sangre periférica que presentaban los pacientes con enfermedades alérgicas están en concordancia con otros resultados publicados.⁵ En estudios similares, en el lavado broncoalveolar de pacientes con varias enfermedades pulmonares asociadas con eosinofilia, se demuestra que además del característico infiltrado leucocitario, todos los pacientes muestran un significativo incremento del número de células CD4⁺ y CD8⁺ comparados con individuos normales.^{6,7} Se conoce que el empleo de drogas antiinflamatorias reduce la infiltración de células T características de la inflamación.^{8,9,10} Los resultados de este trabajo, luego del tratamiento con ozono, coinciden con esos reportes al evidenciarse una tendencia a la disminución del porcentaje de células CD3, CD4⁺, CD8⁺, lo cual sugiere que la ozonoterapia actúa sobre la infiltración linfocitaria, mejorando el proceso inflamatorio. El grupo 1 no mostró variaciones, lo cual puede ser debido a que éste incluye al total de pacientes en el estudio por lo que la sumatoria no refleja los cambios que se observan en los grupos individuales. El grupo 2 inicialmente dentro del intervalo de referencia, tampoco mostró variaciones.

El antígeno común leucocitario CD45 varió significativamente, luego de la terapia en el grupo 4 a diferencia de los grupos 1 y 2 cuyos valores se mantuvieron en el intervalo

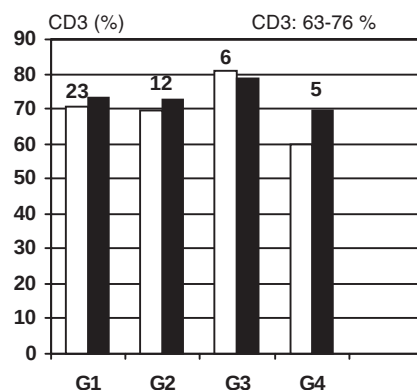


Fig. 1. Porcentaje de células CD3 en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

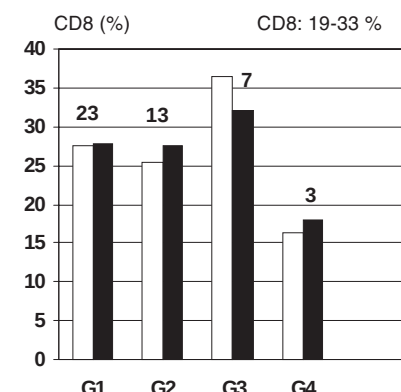


Fig. 3. Porcentaje de células CD8⁺ en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

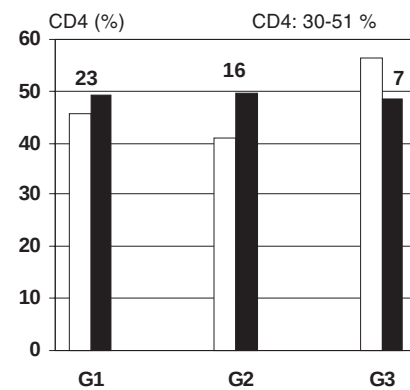


Fig. 2. Porcentaje de células CD4⁺ en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

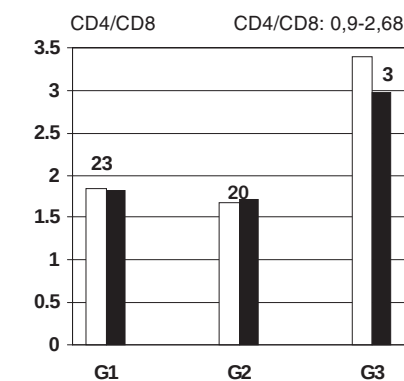


Fig. 4. Coeficiente CD4/CD8 en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

establecido (90-100 %) (Fig. 5). Se observa un incremento del porcentaje de células que expresan este antígeno, en estos individuos, luego del tratamiento con ozono, respecto al grupo no tratado. Sería necesario determinar específicamente el efecto del ozono sobre las isoformas de este antígeno y la relación entre estas, ya que existe una hipótesis (Corominas *et al.*, 1993) que sugiere que la inmunoterapia aumenta el porcentaje de células con función supresora, correspondiente a las células inductoras de la supresión CD45RA⁺, isoforma del antígeno CD45. Estos autores plantean que individuos atópicos no tratados con inmunoterapia muestran un número elevado de la isoforma CD45RO⁺ (inductoras de la respuesta inmune) y menor número de CD45RA⁺ respecto a los tratados. Los pacientes bajo inmunoterapia presentan cambios que se traducen en un aumento del porcentaje de células inductoras de supresión CD45RA⁺, lo que indica que estos pacientes presentan alteraciones del equilibrio estable-

cido entre las citocinas secretadas y las células inductoras de la supresión inmunológica.^{11,12}

Valores inicialmente incrementados en la expresión de la molécula HLA-DR disminuyeron significativamente en los grupos 1 y 3 (Fig. 6). Vignola *et al.*, plantean que la reacción de hipersensibilidad está asociada a un incremento en la expresión de este marcador de activación tardía de la célula bronquial y del epitelio y demostraron que después de la aplicación de una terapia antiinflamatoria se produce una reducción en la expresión de esta molécula.¹³ Esto coincide con el decremento de HLA-DR observado luego de la ozonoterapia.

Se observó una disminución significativa de la respuesta de la IgE en el grupo 3 (Fig. 7). Existen reportes actuales en los que se reconsidera el papel de la IgE, no sólo en la reacción alérgica, sino en su relación con las células inflamatorias por la presencia en la superficie celular de receptores para esta inmunoglobulina.² Es probable que el ozono a tra-

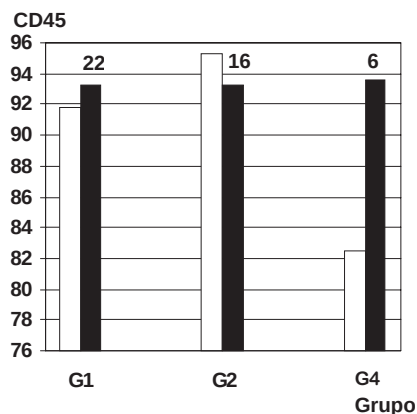


Fig. 5. Porcentaje de células CD45 en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

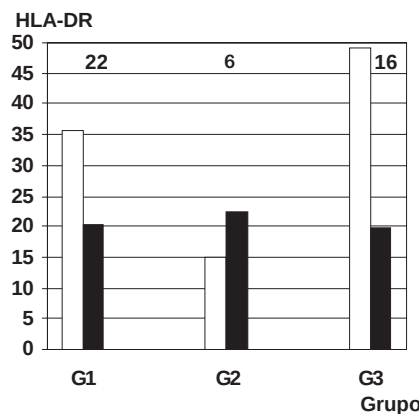


Fig. 6. Expresión de la molécula HLA-DR en sangre periférica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

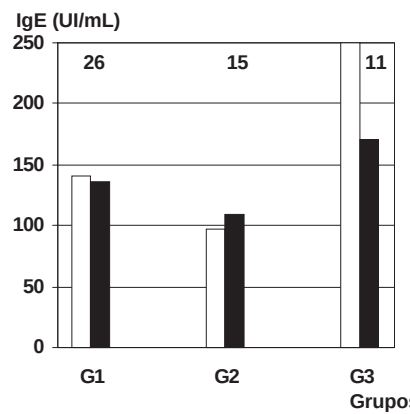


Fig. 7. Concentración de IgE sérica de pacientes antes y después de la autohemoterapia (40 µg/mL).

□ Inicial ■ Final

vés de la inducción de citocinas tales como interleucina 4 (IL-4) e interferón (IFN γ), reconocidas por su papel en la regulación de la síntesis de IgE,¹⁴ de lugar a un control de esta inmunoglobulina y por tanto, del proceso inflamatorio.

En todas las determinaciones realizadas en este estudio, el grupo 2, que incluía a los pacientes cuyos valores iniciales estaban dentro del intervalo de referencia, no mostró cambios antes y después del tratamiento. Cada indicador inmunológico se mantuvo en el intervalo establecido. Experiencias anteriores demostraron que el ozono no induce cambios en individuos aparentemente sanos,¹⁵ por lo que este resultado corrobora que la ozonoterapia actúa sólo cuando el sistema inmunológico está alterado, es decir, cuando esos indicadores presentan valores patológicos.

CONCLUSIONES

El empleo de la autohemoterapia (40 µg/mL, 15 sesiones) en pacientes con enfermedades inflamatorias alérgicas muestra una reducción significativa en la expresión de la molécula HLA-DR, un significativo incremento del antígeno común leucocitario CD45, una tendencia al restablecimiento de las subpoblaciones linfocitarias CD3, CD4⁺, CD8⁺ y

del coeficiente CD4/CD8, así como una disminución significativa de la respuesta de la IgE.

BIBLIOGRAFIA

1. Roitt I.M. **Inmunología**, Chapter 13 Migration cellular and Inflammation, 3ra Edición, Ed. Científicas y Técnicas SA, Madrid, 1996
2. Tuñón de Lara M. Immunoglobulines E et cellules de l'inflammation. **Rev. Mal. Resp.**, 13, 27, 1996.
3. Bocci V. Autohaemotherapy after treatment of blood with Ozone. A Reappraisal. **Journal of International Medical Research**, 22, 131, 1994.
4. Bocci V. Ozonotherapy Today. Proceedings of the 12th Ozone World Congress, Ozone in Medicine, 13, 1995.
5. Murayama N. *et al.* Lymphocyte subpopulations in asthmatics children with chronic bronchial obstruction. **Allergy**, 42, 1993.
6. Walker Ch. *et al.* Activated T cells and cytokines in bronchoalveolar lavages from patients with various lung diseases associated with eosinophilia. **Am. J. Respir. Chit. Care Med.**, 150, 1038, 1994
7. Aalbers R., Kauffman H.F., Vrugt B., Koeter G.H. and De Monchy J.G. Allergen-induced recruitment of inflammatory cells in lavage 3 and 24 h after challenge in allergic asthmatic lungs. **Chest.**, 103, 1178, 1993.
8. Tsai J.J., Ma J.K., Wang T.F., Wang S.R. and. Kao D.H. The modulatory effect of tetrandrine on the CD23, CD25 and HLA-DR expression and cytokine

production in different groups of asthmatic patients. **Int. Arch. Allergy-Immunol.**, 108, 183, 1995.

9. Nakajima H. *et al.* Inhibitory effects of oral glucocorticoid therapy on T-lymphocyte infiltration in the bronchial mucosa of asthmatic subjects. **Allergy**, 42, 505, 1993.
10. Hoshino M. The effect of Ketotifen on the inflammation of bronchial mucosa in atopic asthmatics. **Allergy**, 43, 689, 1994.
11. Corominas M., Mestre M., Bas J., Valls A., Romeu A. and Buendía E. CD23 expression on B-lymphocytes and its modulation by cytokines in allergic patients. **Clinical and Experimental Allergy**, 23, 612, 1993.
12. Corominas M. *et al.* Expresión de receptores linfocitarios y producción de citocinas en pacientes atópicos. **Rev. Esp. Alergol. Inmunol. Clin.**, 9, 15, 1994.
13. Vignola A.M. *et al.* Quantification and localization of HLA-DR and intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) molecules on bronchial epithelial cells of asthmatics using confocal microscopy. **Clin. Exp. Immunol.**, 96, 104, 1994.
14. Sutherland M., Blaser K. and Pené J. Effects of Interleukin-4 and interferon on the secretion of IgG4 from human peripheral blood mononuclear cells. **Allergy**, 48, 504, 1993.
15. Kenneth W. The effect of ozone on lymphocyte populations in normal and HIV1-infected blood, **Biozon Journal**, 8, 1990.