

ESTUDIO IN VITRO DEL LIPOFUNDIN S-20 OZONIZADO

F. Hernández, J. Hoyerio, I. Fernández y H.G. Regueiferos

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

RESUMEN. Se estudió el efecto bioquímico "in vitro" del tratamiento de sangre humana con la emulsión de grasa marina Lipofundín 20 % ozonizada. Se utilizaron las concentraciones de 15; 30; 45 y 60 µg de ozono disuelto en Lipofundín por mililitros de sangre. Los resultados fueron comparados con iguales concentraciones de ozono suministrado directamente a la sangre. Se encontró que el ozono a través del Lipofundín produjo un incremento de los niveles de lipoperoxídos y de la enzima glutatión peroxidasa y disminución de los niveles de glutatión reducido, similares a los observados con la sangre ozonizada directamente después de 1 h de incubación a 37 °C. Estos resultados abren la posibilidad de continuar estudios "in vivo" del efecto del Lipofundín ozonizado, con vistas a su utilización en lugar de la autotransfusion mayor con ozono.

INTRODUCCIÓN

Se ha postulado que el efecto del ozono sobre vía sanguínea se ejerce a través de la peroxidación parcial de los fosfolípidos de la membrana celular y cuyo metabolismo desencadena una serie de eventos bioquímicos que dan lugar a la respuesta terapéutica.¹

La emulsión de grasa marina Lipofundín S-20 es utilizada en medicina para la alimentación parenteral. Esta emulsión contiene 1,5 % de lecitina de soya. Dado el contenido fosfolipídico de esta emulsión, resulta de interés conocer el efecto de la emulsión ozonizada sobre algunos parámetros bioquímicos de la sangre.

Se diseñó un estudio "in vitro" en el cual se comparó la respuesta bioquímica de la sangre ozonizada directamente, con la respuesta de la sangre después de añadir Lipofundín ozonizado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras, luego de ozonizadas o de añadido el Lipofundín ozonizado, se incubaron a 37 °C durante 1 h; y se procedió a la cuantificación de la actividad de la glutatión peroxidasa (GSH-Px),² Glutathion Reductido (GSH) y lipoperoxídos en función de malonaldehído (HAO).⁴ Los experimentos fueron realizados por triplicado y la respuesta se siguió por la reducción de la concentración obtenida del parámetro analizado después del tratamiento correspondiente (CI), entre la concentración inicial (C₀) y del mismo parámetro.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra el comportamiento de la enzima glutatión peroxidasa a diferentes concentraciones de ozono aplicadas tanto a la sangre como al Lipofundín añadido a la sangre sin ozono.

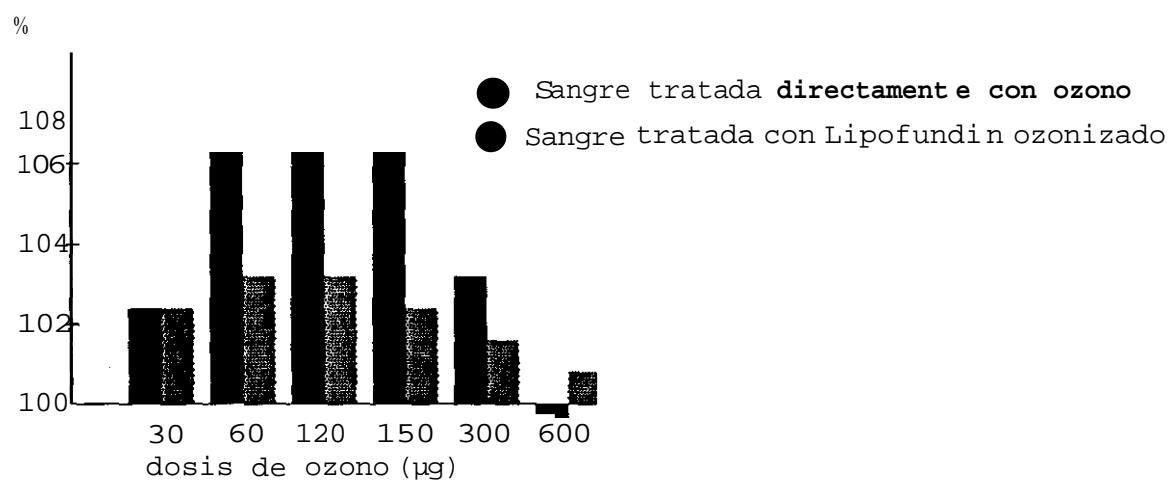


Fig. 1. Relación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa antes (Co) y después (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

En ambos tipos de tratamientos la actividad enzimática no aumentó a concentraciones del gas igual o inferior a 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$

Por encima de este valor la actividad se incrementó a medida que se aumentó la concentración de ozono. Esto es indicativo de que a bajas concentraciones del gas habitual de la enzima es suficiente para eliminar los peróxidos circulantes, pero traspasado cierto umbral, hay una estimulación de la actividad, la cual en el caso de los tratamientos aplicados, se comportó de forma paralela.

Con el glutatión reducido (Fig. 2) se observó en ambos tratamientos, una disminución gradual del contenido de éste con el incremento en la concentración del ozono. Tal disminución es inversamente proporcional a la actividad encontrada para la enzima glutatión peroxidasa.

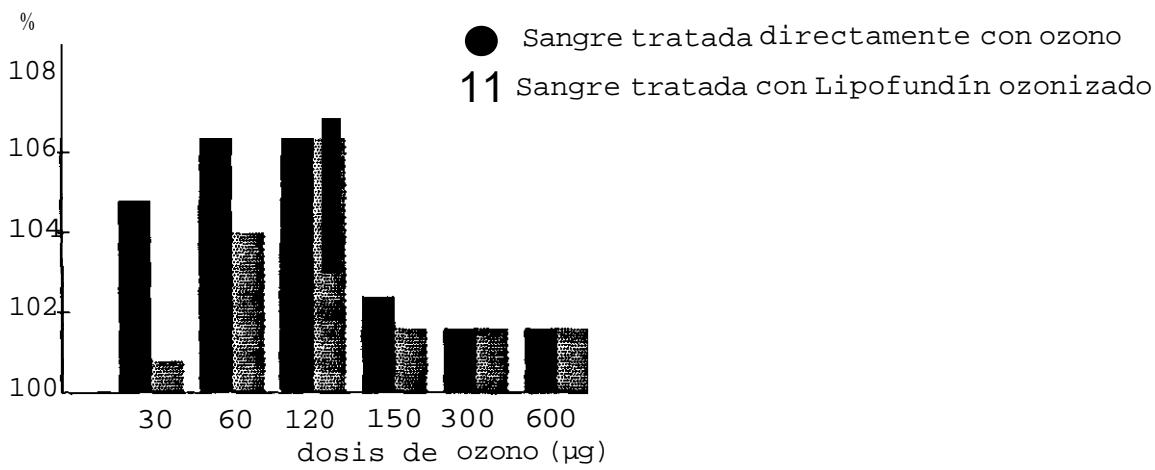


Fig. 2. Relación de la actividad de la enzima glutatión reducido antes (Co) y después (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

Este comportamiento es debido a que el glutatión reducido es el cofactor de reducción utilizado por dicha enzima. Sin embargo, la respuesta de la sangre con Lipofundín ozonizado presentó un perfil gráfico similar al arrojado por la sangre ozonizada directamente.

La figura 3 presenta la producción de lipoperóxidos plasmáticos en los dos tipos de tratamiento. Se observan curvas tipo dosis-respuesta, en las cuales se evidencia un incremento de los lipoperóxidos con el aumento de la concentración del ozono aplicado.

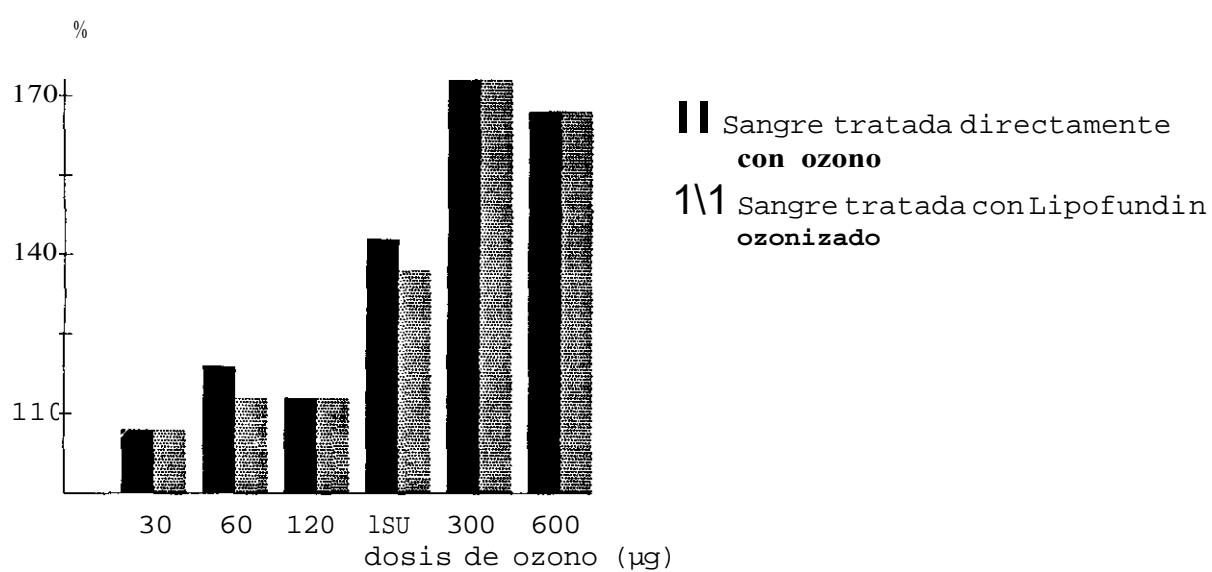


Fig. 3. Relación del nivel de lipoperóxidos antes (C_0) y después (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

La forma de ambas curvas es muy parecida lo que demuestra un comportamiento similar para ambos tipos de tratamiento.

Hay un gran número de evidencias de que la peroxidación de los lípidos ocurre normalmente; y no hay dudas de que si la peroxidación procede a una extensión en la cual no se saturan los mecanismos de protección normalmente eficientes, no se producen daños celulares.⁸ Los mayores niveles de lipoperóxidos alcanzados con ambos tipos de tratamiento, no superaron las cifras normales observadas con esta técnica.

Tales resultados sugieren que el efecto metabólico "in vitro" que produce la ozonización directa de la sangre puede ser alcanzado de forma indirecta mediante el tratamiento de la sangre con el Lipofundin ozonizado. Esto podría facilitar la forma de aplicación del ozono en el procedimiento de autohemoterapia a mayor, para lo cual es necesario realizar estudio "in vivo".

CONCLUSIONES

El efecto metabólico "in vivo" producido por la ozonización directa de la sangre es similar al obtenido mediante el tratamiento de la sangre con el Lipofundín ozonizado.

Con ambos tratamientos no hubo saturación de los mecanismos de protección contra procesos oxidativos.

BIBLIOGRAFIA

Grune & Stratton. New York. 1971.

1. Viebahn R. J. Int. Ozone Ass., 7, 273, 1983.
2. Beutler E. (ed). Red cell metabolism. A manual of biochemical methods, 66.

ponsable de esta hiperreactividad aún no es conocido.

El ozono presenta un poderoso efecto oxidante y puede reaccionar prácticamente con cualquier tipo de sustancia biológica.

El objetivo de este estudio ha sido observar el efecto del ozono sobre los metabolitos del ácido araquidónico en pulmón perfundido de curie!

MATERIALES Y METODOS**Preparación de pulmones aislados y tejidos**

Curieles machos (250 a 400 g de peso) fueron anestesiados con pentobarbital (60 mg/kg). Después de abierto el tórax, la arteria pulmonar fue canulada e inyectada con solución Krebs heparinizada. La tráquea fue canulada y los