

ESTUDIO IN VITRO DEL LIPOFUNDIN S-20 OZONIZADO

F. Hernández, J. Holerio, I. Fernández y H.G. Regüíferos

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

RESUMEN. Se estudió el efecto bioquímico "in vitro" del tratamiento de sangre humana con la emulsión de gPasa maPca Lipofundín 20 % ozonizada. Se utilizaron las concentraciones de 15; 30; 45 y 60 ug 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 lipoperoxidos 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 autohemotransfusión mayor con ozono.

INTRODUCCION

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 gPasa maPca 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 METODOS

Las muestras, luego de ozonizadas o de añadido el Lipofundin 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 Glutatión Reducido (GSH) y lipoperoxidos en función de malonaldehído (HAO).⁴ Los experimentos fueron realizados por triplicado y la respuesta se siguió por la relación de la concentración obtenida del parámetro analizado después del tratamiento correspondiente (CI), entre la concentración inicial (CI) del mismo parámetro.

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

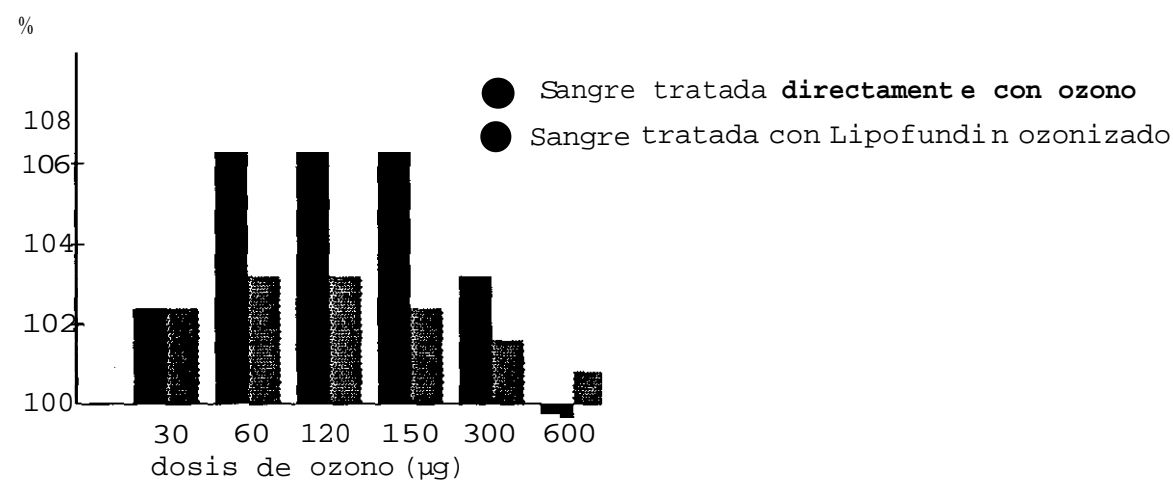


Fig. 1. Relación de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa antes (Co) y después (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

En ambos tipos de tratamientos la actividad enzimática no aumentó a concentraciones del gas igual o inferior a 30 ug/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 la actividad 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.

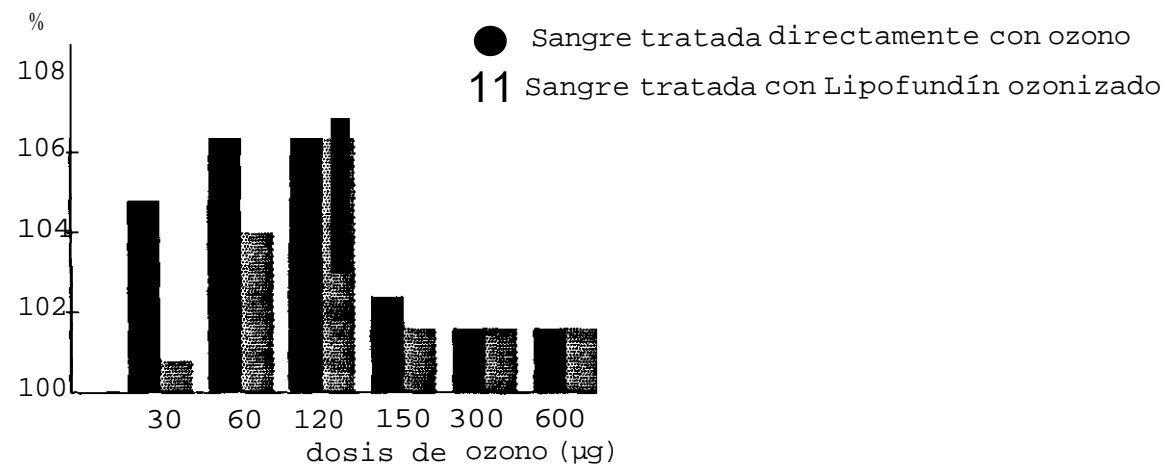


Fig. 2. Relación de la actividad de la enzima glutatión reducido antes (Co) y después (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

Este comportamiento es debido a que el glutati3n reducido es el cofactor de reducci3n utilizado por dicha enzima. Sin embargo, la respuesta de la sangre con Lipofund3n ozonizado present3 un perfil gr3fico similar al arrojado por la sangre ozonizada directamente.

La figura 3 presenta la producci3n de lipoper3xidos plasm3ticos en los dos tipos de tratamiento. Se observan curvas tipo dosis-respuesta, en las cuales se evidencia un incremento de los lipoper3xidos con el aumento de la concentraci3n del ozono aplicado.

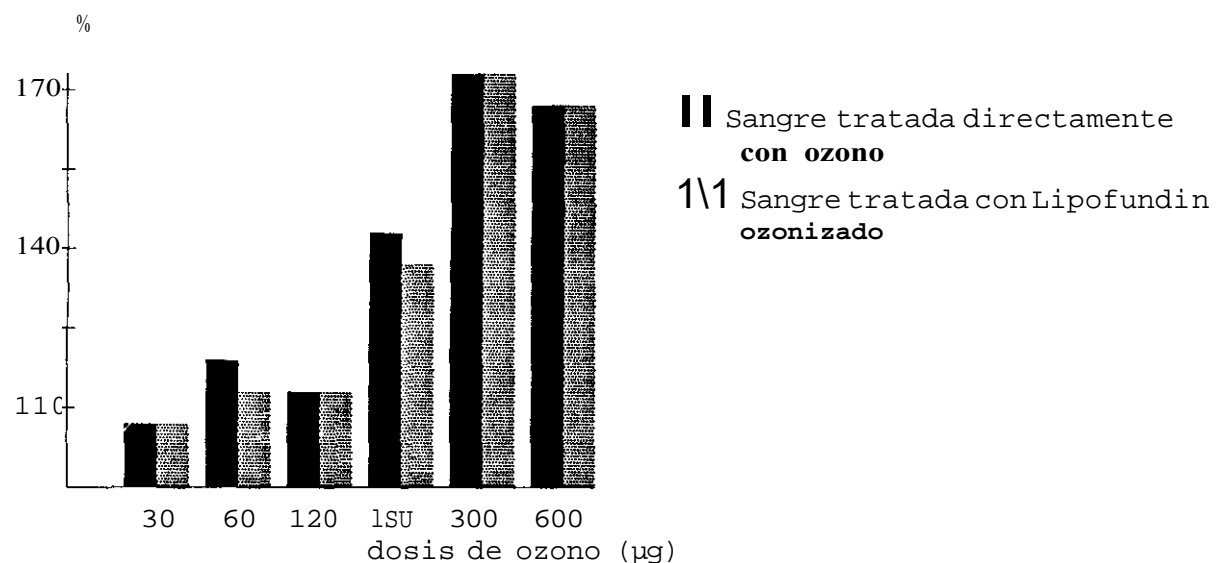


Fig. 3. Relaci3n del nivel de lipoper3xidos antes (Co) y despu3s (C) del tratamiento con diferentes concentraciones de ozono

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

Hay un gran n3mero de evidencias de que la peroxidaci3n de los l3pidos ocurre normalmente; y no hay dudas de que si la peroxidaci3n procede a una extensi3n en la cual no se saturan los mecanismos de protecci3n normalmente eficientes, no se producen da3os celulares.^S Los mayores niveles de lipoper3xidos alcanzados con ambos tipos de tratamiento, no superaron las cifras normales observadas con esta t3cnica.

Tales resultados sugieren que el efecto metab3lico "in vitro" que produce la ozonizaci3n directa de la sangre puede ser alcanzado de forma indirecta mediante el tratamiento de la sangre con el Lipofundin ozonizado. Esto podr3a facilitar la forma de aplicaci3n del ozono en el procedimiento de autohemoterapia mayor, para lo cual es necesario realizar estudio "in vivo".

CONCLUSIONES

El efecto metab3lico "in vivo" producido por la ozonizaci3n directa de la sangre es similar al obtenido mediante el tratamiento de la sangre con el Lipofund3n ozonizado.

Con ambos tratamientos no hubo saturaci3n de los mecanismos de protecci3n contra procesos oxidativos.

BIBLIOGRAFIA

- Grune & Stratton. New York and London, 1978.
1. ~~Viebahn R. J. Int. Ozone Ass., 7, 275, 1983.~~
2. ~~Beutler E. (ed). Red cell metabolism. A manual of biochemical methods, 66.~~
3. ~~Beutler E., Durr O. and Kelly B.H. J. Lab. Clin. Med., 61, 882, 1963.~~
4. ~~Sato K. Clin. Chim. Acta, 90, 221, 1978.~~

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 curiel.

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