

ESTUDIO DEL METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS DE ANIMALES DE EXPERIMENTACION SOMETIDOS A OZONOTERAPIA

F.Hernández, H.Noa, S.Henéndez y H.Gómez

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

RESUMEN. Se estudió el metabolismo de los lípidos en ratas alimentadas con dieta rica en grasa y tratadas con 15 inyecciones intramuscular de 0,2 mL de sangre ozonizada de rata con 10 g/mL de ozono y en conejos hipercolesterolémicos tratados con 15 inyecciones de 2 mL de sangre ozonizada con igual concentración de ozono. En las ratas tratadas no se observaron descensos significativos en el colesterol plasmático. Estos animales presentaron hígado graso con cambios significativos en los lípidos presentes en este órgano, lo cual estuvo caracterizado por una disminución del colesterol y los triglicéridos. Se observó que los conejos tratados con ozono por vía endovenosa presentaron disminuciones no significativas del colesterol total del plasma. En el tejido hepático y pulmonar se apreciaron decrementos significativos de los triglicéridos, así como un aumento ligero de la concentración plasmática de malonaldehído y al mismo tiempo, una discreta disminución del glutatión reducido. No se detectaron alteraciones que pudieran atribuirse a efectos tóxicos. Estos resultados sugieren que la ozonoterapia por vía intramuscular y endovenosa ofrece posibilidades para ser aplicada eficientemente en los trastornos del metabolismo lipídico.

INTRODUCCION

La hipoxia *in vivo* incrementa la aterosclerosis con marcados cambios en la estructura y metabolismo de varios tejidos incluyendo la aorta.¹⁻³ Varios estudios^{2, 4, 5} han señalado la ocurrencia de un incremento en la permeabilidad del colesterol, triglicéridos y proteínas a través del endotelio vascular, también un deterioro de la capacidad de oxidación y de la excreción del colesterol, durante el estado de hipoxia.

Se ha postulado⁸ que la condición hipóxica para la iniciación de la aterosclerosis es debida a una afectación del transporte de oxígeno en el plasma sanguíneo, el cual es muy sensible a las variaciones de las proteínas plasmáticas.

Contrariamente, la exposición en atmósfera hiperóxica de conejos alimentados con colesterol, mostró un decremento marcado en la deposición de lípidos en las lesiones aórticas visibles y en el contenido de colesterol, triglicéridos y fosfolípidos, de la aorta.^{5, 7} Además, Altschul⁸ informó que la hiper-

oxia, las radiaciones ultravioletas o ambas disminuyen los niveles de colesterol sérico en conejos y algunos humanos.

Se ha planteado que la ozonoterapia actúa favoreciendo la disponibilidad de oxígeno de las áreas de tejido hipóxico.⁹

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto de la ozonoterapia intramuscular y endovenosa sobre el metabolismo de los lípidos en ratas y conejos respectivamente.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron ratas machos Wistar de 200 a 220 g de peso. Se hicieron 3 grupos de 6 ratas cada uno. Los conejos machos Nueva Zelandia de 2 a 2,5 kg de peso fueron agrupados en 3 grupos de 5 conejos cada uno. Dos de los grupos de ambas especies fueron alimentados con una dieta que contenía 50 % de yema de huevo seca y 0,5 de sales biliares (dieta rica en grasa (DRG)) y el otro grupo fue alimentado con una dieta comercial (DC).

Los tratamientos con ozono se comenzaron por las vías correspondientes, en las ratas a los 25 d y en los conejos a los 15 d de alimentación de cada grupo con sus respectivas dietas. En cada especie los tratamientos fueron realizados con sangre homóloga ozonizada con 10 g/mL de ozono. Las ratas fueron inyectadas con 0,2 ml. y los conejos con 2 mL de sangre ozonizada.

RESULTADOS Y DISCUSION

Experimentos en ratas por vía intramuscular

En la Tabla I aparecen los valores promedios de los diferentes parámetros medidos en el plasma sanguíneo.

Tabla I

Efecto de la ozonoterapia intramuscular sobre el metabolismo de los lípidos plasmáticos de ratas con dieta rica en grasas

	CT (mmol/L)	TG (mmol/L)	LT (g/L)	MAD (mol/L)
DC (n=5)	1,68 ± 0,16 ^a	1,34 ± 0,23	3,95 ± 0,43 ^a	0,80 ± 0,23
DRG (n=6)	2,02 ± 0,29 ^b	1,50 ± 0,21	4,76 ± 0,50 ^b	0,69 ± 0,07
DRG 03 (n=6)	1,79 ± 0,06 ^{ab}	1,39 ± 0,31	4,81 ± 0,76 ^{ab}	0,82 ± 0,35

Letras diferentes en una misma columna: significación estadística

para $p < 0,05$. DC dieta comercial, DRG dieta rica en grasas,

DRG + 03 animales con dieta rica en grasa y tratadas con ozono.

CT colesterol total, TG triglicéridos, LT lípidos totales, MAD malonaldehído.

Es evidente que la dieta rica en grasa elevó los niveles de colesterol del plasma a pesar de que tales incrementos no sobrepasaron la condición de normocolesterolemia, pues resultaron 1,2 veces superiores al valor de 1 grupo con dieta normal. Aunque se trató de animales normocolesterolémicos se observó una tendencia hacia la disminución del colesterol sanguíneo.

En las Tablas II, III y IV aparecen los valores de los lípidos del tejido hepático, pulmonar y aórtico. Sólo se observaron diferencias significativas entre los grupos para el caso del hígado. Tanto los resultados bioquímicos como los histológicos son indicativos de la existencia de hígado graso en los animales de los grupos alimentados con dieta rica en grasa.

Tabla II

Efecto de la ozonoterapia intramuscular sobre el metabolismo de los lípidos hepáticos de ratas alimentadas con dieta rica en grasas

	CT (mol/g)	TG (mol/g)	LT (mg/g)
OC (n=5)	19,9 ± 5,3 ^a	16,5 ± 4,9 ^a	126 ± 50 ^a
ORG (n=6)	112,2 ± 41,5 ^b	127,2 ± 41,5 ^b	509 ± 138 ^b
DRG 03 (n=5)	68,4 ± 14,7 ^c	120,1 ± 43,0 ^b	453 ± 230 ^b

Tabla III

Efecto de la ozonoterapia intramuscular sobre el metabolismo de los lípidos de los pulmones de ratas alimentadas con dieta rica en grasas

	CT (mol/g)	TG (mol/g)	LT (mg/g)
OC (n=5)	74,5 ± 13,7	136 ± 45	569 ± 55
DRG (n=5)	85,8 ± 12,2	172 ± 45	532 ± 3,6
ORG 03 (n=5)	89,6 ± 8,1	136 ± 15	514 ± 27

Tabla IV

Efecto de la ozonoterapia intramuscular sobre el metabolismo de los lípidos de la aorta de ratas alimentadas con dieta rica en grasas

	CT (mol/g)	LT (mg/g)
OC (n=5)	103 ± 22	338 ± 25
DRG (n=5)	117 ± 41	341 ± 16
DRG + 03 (n=5)	138 ± 33	369 ± 41

Como es conocido, los hepatocitos reaccionan a ciertos estímulos dañinos mediante cambios en el metabolismo de sus lípidos.¹⁰ Los hígados grasos, debido a dietas con alto niveles de lípidos, contienen una marcada acumulación de colesterol y triglicéridos.² Por tanto, es significativo que en los animales inyectados intramuscularmente con sangre ozonizada haya disminuido en un 39% el colesterol del hígado graso.

La infiltración de grasa en el hígado es la primera fase en la patogénesis de algunos casos de cirrosis nutricional hepática y aterosclerosis producida, entre otras causas, por hipoxia tisular. Se puede suponer que el tratamiento con ozono posibilita un mejor transporte de oxígeno y por ende, una mayor dis-

ponibilidad en los tejidos, lo cual contrarresta la infiltración y posterior acumulación de las grasas.

EXPERIMENTOS EN CONEJOS POR VIA ENDOVENOSA

En las Tablas V y VI aparecen los niveles de colesterol y de otros lípidos plasmáticos antes y después del tratamiento con ozono.

Tabla V

Efecto de la ozonoterapia endovenosa sobre el colesterol plasmático de conejos alimentados con dieta rica en grasas

	Antes •	Después de 15 d	Disminución OO
OC (n=5)	1,99 ± 0,87 ^a	1,96 ± 0,59 ^a	1,51 ^a
DRG (n=5)	32,60 ± 13,60 ^b	3,83 ± 2,26 ^b	88,26 ^b
DRG + O3 (n=4)	32,70 ± 11,60 ^h	3,43 ± 1,64 ^b	89,52 ^b

• Valores expresados en mmol/L

El tratamiento con ozono fue comenzado a los 14 d posteriores al empleo de las dietas correspondientes. El colesterol de la dieta fue reducido a 0,35 %.

El colesterol correspondiente al grupo tratado con ozono tuvo una tendencia a disminuir más rápidamente que en el grupo con dieta rica en grasa, carente del tratamiento con ozono. Estas diferencias no resultaron estadísticamente significativa.

Tabla VI

Efecto de la ozonoterapia endovenosa sobre el metabolismo de los lípidos plasmáticos de conejos alimentados con dieta rica en grasas

	TG (mmol/L)	FL (mmol/L)	LT (g/L)
OC (n=5)	0,71 ± 0,22	0,98 ± 0,26	3,52 ± 0,85
DRG (n=5)	0,74 ± 0,28	1,36 ± 0,52	5,79 ± 2,63
DRG + O3 (n=4)	0,98 ± 0,2 ^l	1,25 ± 0,40	4,48 ± 1,98

Como se observa de la Tabla VI, en el resto de los parámetros lipídicos del plasma no existieron diferencias significativas.

En la Tabla VII se observa el efecto de la ozonoterapia sobre el metabolismo de los lípidos hepáticos en los conejos tratados. Tanto el colesterol como los fosfolípidos están incrementados en el grupo DRG y DRG + O3.

Sin embargo, los triglicéridos del grupo tratado con ozono disminuyeron significativamente en relación con los otros dos grupos, sugiriendo una dismi-

nución de la extensión del hígado graso. Esto se observa con los animales del grupo alimentado con dieta rica en grasa sin ozonoterapia.

Tabla VII
Efecto de la ozonoterapia endovenosa sobre el metabolismo de los lípidos hepáticos de conejos alimentados con dieta rica en grasas

	CT (mol/g)	TG (mol/g)	FL (mol/g)
DC (n=5)	11,6 ± 1,4 ^a	6,29 ± 0,64 ^a	17,1 ± 4,8 ^a
DRG (n=5)	24,5 ± 11,3 ^b	7,56 ± 2,23 ^a	34,3 ± 6,9 ^b
DRG + O3 (n=4)	25,0 ± 5,2 ^b	4,06 ± 1,33 ^b	36,8 ± 9,9 ^o

En la Tabla VIII se observa el efecto de la ozonoterapia endovenosa sobre el metabolismo de los lípidos en los pulmones de los conejos tratados, los son parecidos a los del hígado sin el aumento de los fosfolípidos.

Tabla VIII
Efecto de la ozonoterapia endovenosa sobre el metabolismo de los lípidos de los pulmones de conejos alimentados con dieta rica en grasa

	CT (mol/g)	TG (mol/g)	FL (mol/g)
OC (n=5)	44,2 ± 2,0 ^a	15,9 ± 1,4 ^a	91,8 ± 15,5 ^a
DRG (n=5)	58,5 ± 10,7 ^b	19,7 ± 3,5 ^a	98,7 ± 13,0 ^a
DRG + O3 (n=4)	56,9 ± 4,4 ^b	8,5 ± 0,5 ^b	109,0 ± 31,9 ^a

Los resultados obtenidos son muy parecidos a los de los estudios del hígado, sin el aumento de los fosfolípidos.

La acumulación de triglicéridos es una reacción normal de aquellos animales alimentados con dietas lipídicas.² De ahí que la disminución de ellos mismos en el tejido hepático y pulmonar es un indicador de cierta recuperación en el metabolismo alterado de los glicéridos neutros, a causa de la dieta.

La Tabla IX presenta los resultados correspondientes a la peroxidación de los lípidos por efecto del tratamiento endovenoso con ozono.

Tabla IX
Resultados de la peroxidación sanguínea en conejos tratados con ozono y alimentados con dieta rica en grasa

	malonaldehído (mol/g Hb)	glutación reducido (mol/g Hb)	glutación reductasa (U/g Hb)
OC (n=5)	2,50 ± 0,78	13,2 ± 1,3	8,15 ± 3,50
DRG (n=5)	2,84 ± 1,41 ^{ab}	16,9 ± 4,0 ^a	5,50 ± 1,47
DRG + O3 (n=4)	4,98 ± 1,51 ^b	11,5 ± 0,3 ^b	6,81 ± 2,17

Letras diferentes significación estadística para p < 0,05

Se pudo observar que el malonaldehído estuvo algo aumentado en el grupo que recibió ozonoterapia así como que hubo un ligero descenso del glutati3n reducido y ning3n cambio en los niveles de la glutati3n reductasa.

El malonaldehído es un indicador de la peroxidaci3n lipídica, mientras el glutati3n reducido y la enzima glutati3n reductasa miden la actividad del sistema de defensa en la depuraci3n de los radicales per3xidos. Por tanto, lo observado en estos indicadores puede deberse a que a niveles no saturantes la enzima glutati3n peroxidasa tiene una velocidad de recambio mucho mayor que la velocidad con que el eritrocito puede aportar NADPH, que es el cofactor de reducci3n utilizado por la enzima glutati3n reductasa.

CONCLUSIONES

Estos resultados abren la posibilidad de considerar la ozonoterapia intramuscular y endovenosa como una alternativa m3s a considerar para el posible tratamiento de los trastornos del metabolismo de los l3pidos, involucrados en la patog3nesis de las enfermedades ateroscler3ticas.

BIBLIOGRAFIA

1. Buchner F. and Luft U. Pathl. Anal. Allg. Pathol. 96, 549, 1936.
 2. Kjeldsen K., Wanstrup J. and Astrup P. J. Atheroscler. Res. 8, 835, 1968.
 3. Helin P. y otros. J. Atheroscler. Res. 9, 295, 1969.
 4. Kipshidge N.N. Bul l. Exp. Biol. Med. 47, 54, 1959.
 5. Astrup P., Kjeldsen K. and Wanstrup J. En: R.J.Jones (ed.) Atherosclerosis (Proceedings of 2nd International Symposium).Springer, N.York.108,1970.
 6. Chisolm G.H. y otros. Atherosclerosis 15, 327, 1972.
 7. Wanstrup J., Kjeldsen K. and Astrup P.J. Atherosclerosis. Res. 10, 173, 1969.
 8. Altschul R. and Herman I.H. Arch. Biophys. 51, 308, 1954.
 9. Viebahn R. J. Int. Ozone Ass. 7, 275, 1985.
 10. Beynen A.C. and Van Gils L.G.H. Nut. Rep. Int. 27, 587, 1983.
-