
Efecto del OLEOZON® frente a lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratas (Effect of OLEOZON® on gastric lesions induced by indomethacin in rats)

González Alvarez Ricardo: Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba | **Zamora Rodríguez Zullyt:** Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba. zullyt.zamora@cnic.edu.cu | **Luque Yilian:** Departamento de Biomedicina, Centro de Química Farmacéutica, Apartado Postal, 16042, Ciudad Habana. Cuba | **Frank Hernández:** Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba | **Silvia Menéndez:** Departamento de Biomedicina, Laboratorio de Ensayos Biológicos, Centro de Investigaciones del Ozono. Apartado Postal 6414, Ciudad Habana. Cuba.

REDVET: 2007, Vol. VIII Nº 3

Recibido: 18.01.2007 / Referencia: 070311 / Aceptado: 28.02.2007 / Publicado: 01.03.2007

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030307/030711.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con [Veterinaria.org](http://www.veterinaria.org) <http://www.veterinaria.org> y con [RECVET®](http://www.veterinaria.org/revistas/redvet) - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://www.redvet.es>

Resumen

El aceite de girasol ozonizado es un fármaco registrado en Cuba para el tratamiento de la giardiasis con el nombre de OLEOZON®; los ensayos clínicos realizados han demostrado que posee efectividad terapéutica comparable con un fármaco de referencia, Ornidazol. El objetivo del presente estudio fue determinar si el Oleozon es capaz de ejercer efecto protector contra las lesiones gástricas inducidas por la indometacina en las ratas. Estos animales fueron divididos para dos diferentes diseños experimentales con 6 grupos cada uno. En el primer experimento las ratas fueron pretratadas oralmente con Oleozon (4, 12 y 24 mg/kg) y 4 horas

después con indometacina. En el segundo experimento las lesiones gástricas fueron inducidas por indometacina y 4 horas después tratadas con Oleozon en el mismo rango de dosis que en el anterior experimento. Las lesiones gástricas fueron evaluadas determinando el índice de ulceración. La Cimetidina fue utilizada como fármaco anti-ulceroso de referencia. Los resultados demostraron que el pretratamiento con Oleozon no impidió el daño gástrico inducido por la indometacina y no tuvo efecto citoprotector. En contraste con esto el tratamiento con Oleozon indujo reversión de las lesiones gástricas inducidas previamente por la indometacina demostrando su efecto anti-ulcerogénico en este modelo.

Abstract

Ozonized sunflower oil is a drug registered in Cuba for the treatment of giardiasis and it is commercially available with the name of Oleozon. The clinical trials have demonstrated that Oleozon possess therapeutic effectiveness comparable with a reference drug, Ornidazol. The aim of the present study was to determine whether Oleozon is able to exert protective effects against gastric lesions induced by indomethacin in rats. The animals were divided for two different experimental designs with six groups each one. In the first experiment the rats were pretreated with Oleozon (4, 12 y 24 mg/kg) and four hours

thereafter with indomethacin. In the second experiment gastric lesions were induced by indomethacin and thereafter treated with Oleozon in the same range of doses. Gastric lesions were evaluated determining the ulceration index. Cimetidine was used as a reference antiulcer drug. The results demonstrated that the pretreatment with Oleozon did not prevent gastric damage induced by indomethacin and therefore did not exert cytoprotective effect. In contrast, the treatment with Oleozon induced reversion of gastric lesions induced previously by indomethacin. These results support the potential therapeutic effectiveness of Oleozon as antiulcer drug in this experimental model.

INTRODUCCIÓN

El aceite de girasol ozonizado (OLEOZON[®]) es un fármaco registrado en Cuba para su uso en el tratamiento de la giardiasis¹, demostrándose en los ensayos clínicos realizados² que posee una efectividad terapéutica comparable a la del Ornidazol, un nitroimidazol considerado fármaco de elección en el tratamiento de la giardiasis. Los principales constituyentes del OLEOZON[®] oral son los productos resultantes de la ozonólisis de los triglicéridos insaturados tales como los peróxidos, hidroperóxidos aldehídos, ozónidos y los ácidos carboxílicos,³ los cuales han sido debidamente caracterizados por espectrometría de masa acoplada a cromatografía de gases, habiéndose demostrado experimentalmente que estas sustancias ejercen efectos antimicrobianos contra bacterias, hongos y protozoos como la *Giardia lamblia*.^{4,5,6} Además, los estudios toxicológicos sobre el OLEOZON[®] han demostrado que este producto no es mutagénico o genotóxico.⁷ El mecanismo de acción del OLEOZON[®] sobre los sistemas biológicos es relativamente desconocido.

Teniendo en cuenta, que algunos autores han demostrado que los productos de la oxidación lipídica, pueden ejercer efectos anti-inflamatorios,^{8,9} el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto tanto profiláctico como terapéutico del OLEOZON[®] en las lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales.

Se utilizaron ratas de la línea SD, macho, 180-250g de peso corporal, provenientes del Centro para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB), Habana, Cuba. Estos animales fueron mantenidos durante todo el experimento en condiciones de temperatura y humedad controlados, incluyendo ciclos de luz-oscuridad, con alimentación y agua *ad libitum*.

Los tratamientos con Oleozon fueron aplicados intragástricamente mediante una cánula.

Inducción de lesiones gástricas.

Las lesiones gástricas fueron inducidas por el método descrito por Alarcón y colaboradores,¹⁰ usando indometacina (Imefa, Cuba) en dosis de 20 y 50 mg/Kg de peso corporal en disolución de bicarbonato de sodio (0.5 %), el cual es administrado intragástricamente.

Diseño experimental para evaluar el efecto profiláctico del OLEOZON.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente formando 6 grupos experimentales de 5 animales cada uno. Grupo I- Control con Indometacina 50mg/kg; Grupo II- Control sin tratamiento; Grupo III- Oleozon oral, 4 mg/kg + indometacina 50mg/kg; Grupo IV- Oleozon oral, 12 mg/kg, + indometacina 50mg/kg; Grupo V- Oleozon oral, 24 mg/kg, + indometacina 50mg/kg; Grupo VI- cimetidina 25 mg/kg + indometacina 50 mg/kg.

Los animales fueron pretratados con Oleozon oral, una aplicación diaria por 4 días. La cimetidina también fue aplicada antes de la indometacina. Una hora después de la última aplicación de los productos evaluados, se induce la lesión gástrica mediante la inoculación intragástrica de 50mg/kg de indometacina, 4 horas después los animales fueron sacrificados bajo atmósfera de éter, los estómagos fueron extraídos, abiertos por la curvatura mayor, analizados microscópicamente y se determinó el índice de ulceración

Diseño experimental para evaluar el efecto terapéutico del OLEOZON.

Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en 6 grupos experimentales: grupo I, control sin tratamiento; grupo II, indometacina (20 mg/kg) i.g ; grupo III, tratado con cimetidina (25 mg/kg) i.g + indometacina (20 mg/kg); grupo IV, tratado con OLEOZON® (4 mg/kg) + indometacina (20 mg/kg); grupo V, tratado con OLEOZON® (12 mg/kg) + indometacina (20 mg/kg) y el grupo VI, tratado con OLEOZON® (24 mg/kg) + indometacina (20 mg/kg). La lesión gástrica fue inducida previo ayuno de 24 h y cuatro horas después se aplicaron los productos evaluados (OLEOZON® y cimetidina). Transcurridas cuatro horas, los animales fueron sacrificados bajo atmósfera de éter, los estómagos fueron extraídos y abiertos por la curvatura mayor.

Índice de Ulceración.

El largo y el ancho de cada lesión fue medida en un estereoscopio (Carl Zeiss, Berlin, Alemania) y la suma de los productos fue expresada como índice de ulceración (IU, milímetros cuadrados). La medición del IU fue realizada por un investigador a ciegas.

Análisis estadístico

Los datos fueron procesados estadísticamente mediante el método no paramétrico de Mann Whitney. Los datos fueron expresados como las medias \pm el error estándar de la media.

Resultados

Tabla 1. Efecto del Oleozon aplicado profilácticamente. Análisis de los índices de ulceración para cada grupo experimental.

Grupos	n	IU (mm ²) \pm EEM	Reducción %
I -Control (indo 50 mg/kg)	5	27,5 \pm 7,74	
II- Control	5	-	
III- Oleozon 4 mg/kg + indo 50mg/kg	5	25 \pm 3,74	9,09
IV- Oleozon 12 mg/kg + indo 50mg/kg	5	19,7 \pm 6,32	28,36
V- Oleozon 24 mg/kg + indo 50mg/kg	5	20,3 \pm 6,81	26,18
VI- Cimetidina 25mg/kg + indo 50mg/kg	5	12,8 \pm 0,64 *	53,45

Tabla 2. Efecto del Oleozon aplicado terapéuticamente. Análisis del índice de ulceración y porcentaje de reducción del mismo.

Grupos	n	IU (mm ²) \pm EEM	Reducción %
I - Control (indo. 20 mg/kg)	5	37,15 \pm 6,89	
II- Control	5	-	
III - indo. 20mg/kg+ cimetidina (25 mg/kg)	5	15,2 \pm 7,34	59,08
IV - indo. 20mg/kg + Oleozon (4 mg /kg)	5	5 \pm 2,43**	86,54
V - indo. 20mg/kg + Oleozon (12 mg /kg)	5	7,3 \pm 2,74**	80,34
VI - indo. 20mg/kg + Oleozon (24 mg /kg)	5	7 \pm 2,59**	81,15

VII - indo. 20mg/kg + Aceite girasol	5	36,15± 11,60	2,69
--------------------------------------	---	--------------	------

Tabla 1. No se observa una reducción significativa del índice de ulceración en los grupos pretratados con Oleozon, mientras que el grupo pretratado con cimetidina (droga de referencia) sí mostró actividad antiulcerosa.

La indometacina aplicada oralmente (20mg/kg) indujo lesiones hemorrágicas, afectando mayormente la porción glandular de la mucosa. Las lesiones fueron largas y estrechas en apariencia, de color negro y fueron visualmente encontradas a lo largo de la crestas del pliegue rugoso. El antrum se encontró normal en todas las ratas que recibieron indometacina. El área total de erosiones a las 4 horas después de la dosis de indometacina fue de 37,15 mm². En los animales tratados con OLEOZON[®] oral, las lesiones gástricas disminuyeron significativamente y paralelamente con respecto a la cantidad de OLEOZON[®] administrado. El área de lesiones disminuyó significativamente siendo de 5; 7,3 y 7 mm², los cuales se corresponden con los grupos tratados con (4; 12 y 24 mg/kg) respectivamente; para p < 0,05 comparado con el grupo control que recibió solamente indometacina (tabla 2).

En cuanto al porcentaje de reducción de las lesiones gástricas, se encuentra entre un 86, 54; 80,34 y 81,15 % respectivamente para las dosis de OLEOZON[®] descritas anteriormente, pero no se observaron diferencias significativas con respecto al grupo tratado con cimetidina, fármaco antagonista de los receptores H₂ de la histamina usado en el tratamiento de la úlcera gástrica.

Discusión

Los resultados de este estudio mostraron una reducción significativa del daño gástrico inducido por indometacina en los animales tratados con diferentes dosis de OLEOZON[®] (4; 12; 24 mg/kg) y cimetidina 25 mg/kg con respecto a los animales controles que recibieron tratamiento, solo con indometacina. En estudios anteriores se investigó el efecto del OLEOZON[®] oral en un modelo de lesiones gástricas inducidas por etanol, el cual demostró su efecto citoprotector en ese modelo.¹¹

En contraste con el efecto antiulceroso mostrado por el Oleozon en el esquema terapéutico utilizado al reducir las lesiones gástricas inducidas por la indometacina (Tabla 2) el pretratamiento con Oleozon (una aplicación diaria durante 4 días) no ejerce efecto protector ni pudo revertir el daño inducido por la indometacina en la mucosa gástrica (tabla 1). Este resultado pudiera deberse al reducido número de aplicaciones del Oleozon y/o a la mayor dosis de indometacina utilizada (50 mg/kg). Ambas dosis de indometacina son frecuentemente utilizadas en ese modelo experimental de evaluación de actividad antiulcerosa.^{10,14}

Por lo tanto, teniendo en cuenta nuestros resultados anteriores nos proponemos evaluar el Oleozon en un esquema de pretratamiento más prolongado y utilizando la dosis de indometacina de 20 mg/kg.

Existen una serie de estudios sobre el efecto de diferentes aceites, constituidos tanto por ácidos grasos monoinsaturados (AGMI), como por ácidos grasos poliinsaturados (AGPI), y entre ellos los aceites de pescado, de los cuales se ha demostrado su efectividad sobre la mucosa gástrica dañada por estrés,¹² promoviendo la curación de las lesiones inducidas por indometacina.¹³ Igualmente se ha demostrado que dieta rica en aceite de oliva virgen reduce las lesiones gástricas inducidas por indometacina en ratas, dicho efecto fue debido no solo a la reducción del estrés oxidativo y la toxicidad inducida por la infiltración de neutrófilos en el tejido, sino también por el incremento del sistema de defensa antioxidante vinculado al glutatión.¹⁴

Algunos AINEs, incluyendo la indometacina, son compuestos polares, los cuales tienen alta afinidad por el área lipofílica de la membrana celular; y estos grupos polares causan destrucción de la membrana, con la pérdida de la estructura de los fosfolípidos y proteínas de la membrana y también reducen la hidrofobicidad de la cubierta adherida a la superficie celular de la mucosa, tal pérdida de la hidrofobicidad facilita la entrada de agentes dañinos solubles en agua, tales como ácido, pepsina y sales biliares, los cuales causan peroxidación lipídica y alteran la fluidez de la membrana.¹⁵ También se han reportado diversos estudios sobre el efecto protector de

diferentes aceites sobre la mucosa gástrica.^{16,17} Efectos similares han sido reportados por Nieto y colaboradores¹⁸ en colitis ulcerativa usando dieta rica en ácido oleico.

Conclusión

El Oleozon administrado por vía oral indujo reversión de las lesiones gástricas inducidas por la indometacina en ratas. Sin embargo, cuando se administró profilácticamente en el mismo modelo experimental el Oleozon oral no ejerció efecto citoprotector de la mucosa gástrica.

Bibliografía

1. Hernández F, Díaz M, Menéndez S, Zamora Z, Ledea O, Calunga JL, Mendez I, Hernández D, Borrego A, Gonzalez M, Fernandez H, Gonzalez Y, Jardines D, Moleiro J. Registro Sanitario del medicamento OLEOZON® Oral No. M-04-140-P01 de Agosto del 2004.
2. Amoroto RM, Fernández CM, Rodríguez YM, Calcagno E, Robaine MG, González ME, Fernández C, Obrera G, Sayú P, Moran IM, Escodo AA, Palomino A, Acosta M, Pantaleón B, Fernández J, Dueñas L., Menéndez S, Calunga JL. Eficacia del aceite ozonizado (OLEOZON oral) en el tratamiento de la giardiasis. Ensayo clínico fase III, Aleatorizado, Abierto y Controlado. Revista Cubana de Farmacia 2002; 42 (Especial): 173-175.
3. Jardines D, Correa T, Ledea O, Zamora Z, Rosado A y Molerio J. Gas Chromatography–Mass Spectrometry profile of urinary organic acids of wistar rats orally treated with ozonized unsaturated triglycerides and ozonized sunflower oil. Journal of Chromatography B 2003; 783: 517-525.
4. Lezcano I, Molerio J, Gómez M, Contreras R, Roura G y Díaz W. Actividad *in vitro* del OLEOZON frente a agentes etiológicos de infecciones en la piel. Revista CENIC Ciencias Biológicas 1998; 29: 209-212
5. Zamora ZR, Torres D, Bouza M, Hernández D, Hernández F: OLEOZON® oral tratamiento efectivo en la giardiasis experimental. Revista CENIC, Ciencias Biológicas 2006; 37: 39-42.
6. Hernández D, Hernández F, Zamora Z, González M, Ancheta O, Torres D y Bouza M. In vitro and in vivo effects of oral Oleozon on *Giardia Lamblia* Trophozoites. XIII Scientific Seminar, III Simposio Internacional de Aplicaciones del Ozono. Resúmenes. 2000.
7. Remigio A, González Y, Zamora Z, Moleiro J. Evaluación genotóxica del OLEOZON mediante los ensayos de micronúcleos en médula ósea y sangre periférica de ratón. Revista CENIC, Ciencias Biológicas 1998; 28: 3-6.
8. Kochkov VN and Leitinger. Anti-inflammatory properties of lipid oxidation products. J. Mol. Med 2003; 81:613-626.
9. Leitinger N. Oxidized phospholipids as modulators of inflammation in atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 2003; 14:421-430.
10. Alarcon CL, Motilva V, Martin MJ, Nieto A, Barranco MD, Herrerías JM. Protective effect of melatonin on indomethacin-induced gastric injury in rats. *J.Pineal Res* 1999;26: 101-107.
11. Zamora Z.R, González RÁ, Menéndez SC, Hernández FR. Efecto citoprotector del OLEOZON® oral en el modelo de Ulceras gástricas inducidas por etanol en ratas. Revista CNIC, Ciencias Biológicas 2005; 36 Especial CD.
12. Ulan G, Cicek R, Sermet A, Guzel C, Ulan M, Denli O. Protective effect of fish oil against stress- induced gastric injury in rats. *Arneimittelforschung* 1995;45:1174-1175.
13. Guzel C, Ulak G, Sermet A, Cicek R, Ulak M: Effect of fish oil on indomethacin- induced gastric lesions in rats. *Arneimittelforschung* 1995; 45:1172-1173.
14. Alarcon CL, Barranco MD, Martin MJ, Herreria J, Motilva V. Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacin-induced gastric oxidative damage in rats. *Digestive Diseases and Sciences* 2002; 47 (12): 2783-2790.
15. Tanaka J, Yuda Y. Lipid peroxidation in gastric mucosal lesions induced by indomethacin in rat. *Biol Pharm Bull* 1996;19:716-720.
16. Reaven P, Parthasarthy S, Grasse B, Miller E, Steinberg D, Witztum JI. Effects of oleate rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemia subjects. *J. Clin. Invest* 1993; 91:668-676.

17. Suarez A, Faus MJ, Gil A. Dietary Supplementation with long-chain polyunsaturated fatty acids increases susceptibility of weanling rat tissue lipids to in vitro lipid peroxidation. Nutr. Biochem 1996; 7:252-260.
18. Nieto N, Fernandez MI, Torres MI, Rios A, Suarez MD, Gil A. Dietary monounsaturated n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids affect cellular antioxidant defense system in rats with experimental ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid. Dig Dis Sci 1998; 43:2676-2687.



REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria (ISSN nº 1695-7504) es medio oficial de comunicación científico, técnico y profesional de la Comunidad Virtual Veterinaria, se edita en Internet ininterrumpidamente desde 1996. Es una revista científica veterinaria referenciada, arbitrada, online, mensual y con acceso a los artículos íntegros. Publica trabajos científicos, de investigación, de revisión, tesinas, tesis doctorales, casos clínicos, artículos divulgativos, de opinión, técnicos u otros de cualquier especialidad en el campo de las **Ciencias Veterinarias** o relacionadas a nivel internacional.

Se puede acceder vía web a través del portal [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> o en desde **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://www.redvet.es>

Se dispone de la posibilidad de recibir el Sumario de cada número por [correo electrónico](mailto:redvet@veterinaria.org) solicitándolo a redvet@veterinaria.org

Si deseas postular tu artículo para ser publicado en **REDVET®** contacta con redvet@veterinaria.org después de leer las Normas de Publicación en <http://www.veterinaria.org/normas.html>

Se autoriza la difusión y reenvío de esta publicación electrónica siempre que se cite la fuente, enlace con [Veterinaria.org®](http://www.veterinaria.org). <http://www.veterinaria.org> y **REDVET®** <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet> - <http://www.redvet.es>