

El Precondicionamiento Oxidativo con Ozono como estrategia para restaurar el equilibrio redox en el Shock Séptico. Revisión (Ozone Oxidative Preconditioning as strategy to restore the balance redox in Septic Shock. Review)

Dailen Guanche Gallardo: Laboratorio de Biomedicina. Centro de Investigaciones del Ozono. Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Calle 15 y 230. Reparto Siboney. Playa. E-mail: dailen.guanche@cnic.edu.cu | **Karel Mena-Ulecial:** Vicedirección de Medio Ambiente. Instituto de Geografía Tropical. Calle F # 302 entre 13 y 15, Vedado, La Habana, Cuba. E-mail: karel@geotech.cu; orula.endule@gmail.com | **Ricardo González Álvarez:** Laboratorio de Biomedicina. Centro de Investigaciones del Ozono. Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC). Calle 15 y 230. Reparto Siboney. Playa. Cuba.

REDVET: 2008, Vol. IX, Nº 4

Recibido: 27.11.07 / Referencia provisional: F023_RED VET / Referencia definitiva: 040804_RED VET /
Aceptado: 04.03.08 / Publicado: 01.04.08

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040804.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> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>

Resumen

La formación de especies reactivas del oxígeno juega un papel fundamental como mediador en la patogénesis del Shock Séptico, pudiendo iniciar varios procesos bioquímicos que conllevan a la disfunción severa en la bioquímica de la célula. Aun con el desarrollo de la terapia con antibióticos y técnicas quirúrgicas, la morbilidad y mortalidad de la sepsis ha permanecido substancialmente invariable. El Precondicionamiento Oxidativo con Ozono se ha propuesto como una novedosa terapia que ha mostrado efectos clínicos benéficos. Ha sido demostrado que la administración controlada del ozono puede promover un precondicionamiento oxidativo o una adaptación al estrés oxidativo en el hospedero, previniendo el daño inducido por las especies reactivas del oxígeno en las células y favoreciendo el balance

antioxidantes-prooxidantes para la preservación del estado redox celular por un incremento en el sistema endógeno antioxidante. También se ha demostrado el efecto clínico protector en la modulación de moléculas de adhesión y citoquinas, y en la activación de cascadas de señales celulares asociadas a funciones patofisiológicas. El presente estudio pretende demostrar las ventajas que los tratamientos con ozono han manifestado en estudios previos y su amplia aplicabilidad como modulador del sistema inmunológico y regulador del estrés oxidativo, reafirmando la utilidad potencial del Precondicionamiento Oxidativo con Ozono en la prevención y tratamiento del Shock Séptico.

Palabras Claves: shock séptico | ozono | estrés oxidativo | especies reactivas del oxígeno

Abstract

Many studies indicate that oxygen free radicals formation plays a fundamental role as mediators in the complex pathogenesis of septic shock. These reactive species can initiate a lot of biochemical processes which lead to profound disturbances of cells biochemistry. Despite advances in antibiotic therapy, surgical techniques and organ support technology, the morbidity and mortality from sepsis related diseases have remained substantially unchanged. Ozone oxidative preconditioning is proposed as a novel therapy that has shown clear clinical benefit. It has been demonstrated that controlled ozone administration may promote an oxidative preconditioning or adaptation to oxidative stress in the host, preventing the damage induced by reactive oxygen species in cells and favoring the antioxidant-prooxidant balance for preservation of cell redox state by increase of antioxidant endogenous system. It also demonstrates a clinical benefit in the modulation of molecules of adhesion and cytokines and activation in the cascade of cellular signaling associated to pathophysiological functions. However, although the knowledge of the biochemical and pharmacodynamic mechanisms involved with ozone therapy in septic shock is even partial, in the present study we pretend to demonstrate the advantages that results of the treatment with ozone have shown in previous studies and to reaffirm the potential usefulness of Ozone oxidative preconditioning in the prevention and treatment of septic shock.

Key words: septic shock | ozone | oxidative stress | reactive oxygen species)

Introducción

Se conoce como sepsis a la respuesta inflamatoria sistémica a una infección. El shock séptico por su parte se presenta como un espectro de manifestaciones clínicas en un proceso de inflamación sistémica inducido por infecciones, con disfunción multiorgánica (Bone y col. 1992). Algunos autores plantean que debe existir un balance entre procesos proinflamatorios y antiinflamatorios, donde el desplazamiento de este equilibrio hacia uno de estos puede provocar el daño sistémico y la disfunción del órgano, o un incremento en el riesgo de adquirir infecciones secundarias o deteriorar la presente (Añel y Kumar, 2001). Existen evidencias que asocian la generación de radicales libres con el shock séptico y que la sobreproducción de estos conlleva a un considerable estrés oxidativo (Szabó, 1996; Novelli, 1997; Lloyd y col. 1993; Ali y col. 1997; Winrow y col. 1993; Añel y Kumar, 2001; Catalá, 2004).

El tratamiento de la sepsis comúnmente consiste en la administración de fluidos y vasopresores para restaurar la presión sanguínea, oxigenar los tejidos y administrar antibióticos. Estas medidas tan solo aplacan la severidad de los síntomas, sin embargo son insuficientes. La utilización de drogas para suprimir la respuesta inmune parece ineficaz al provocar la aparición de infecciones agudas o el agravamiento de la causante. La estrategia más prometedora estaría en aquella capaz de restaurar el equilibrio de los procesos proinflamatorios y antiinflamatorios y modular la respuesta inmune (Novelli, 1997; Añel y Kumar, 2001).

En este trabajo nos proponemos exponer las ventajas del Precondicionamiento Oxidativo con Ozono (POO) como modulador en los mecanismos de acción del sistema inmunológico; así como regulador de diferentes vías generadoras de estrés oxidativo. Con esta reseña se pretende consolidar la utilidad de esta terapia en la prevención y tratamiento del Shock Séptico.

Rutas de generación de Radicales Libres en el Shock Séptico

Son muchas las enfermedades que llevan asociado la generación de un estrés oxidativo. Durante el shock séptico es conocida la formación de radicales libres y entre ellos las especies reactivas del oxígeno (ERO). Estos se producen en la mayoría de la célula del organismo y principalmente en macrófagos y granulocitos (Fig.1), y aunque su liberación resulta como un mecanismo de defensa, pueden iniciar procesos que induzcan modificaciones sobre la estructura y función de la célula tales como la peroxidación lipídica, despolimeración de polisacáridos, clivaje del ADN y la muerte celular (Maridonneau y col. 1986; Capuz, 1987; Imlay y Linn, 1988; Martínez y Moreno, 1996; Novelli, 1997).

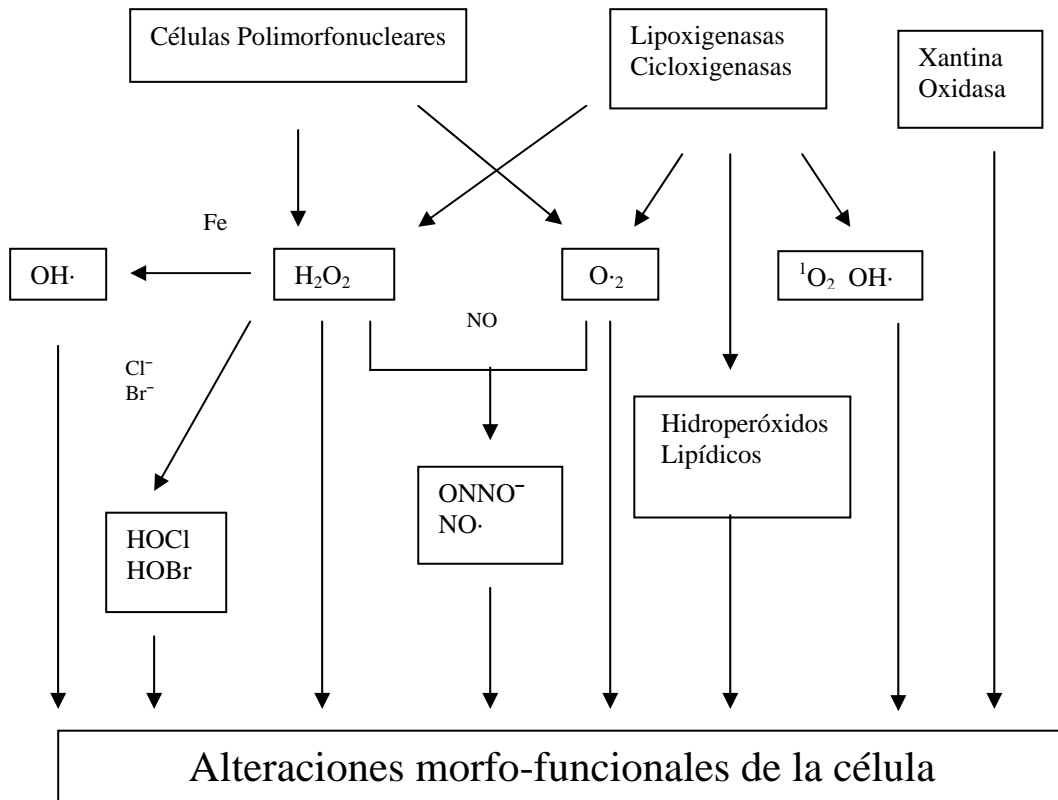
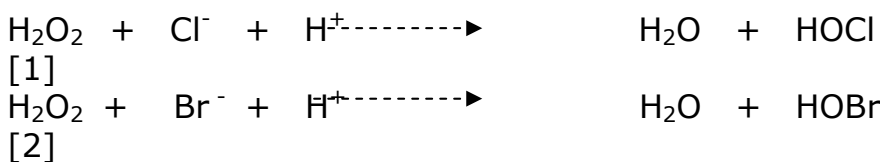


Fig. 1. Vías de generación de radicales libres.

Fuente: Elaborado por los autores

Durante el estado de shock son activados por diversas vías las células polimorfonucleares (PMN), cuya migración, infiltración y activación en los diferentes tejidos genera la producción de ERO como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el anión superóxido ($O_2\cdot^-$) (Aruoma y col. 1998; Khalfi y col. 1998; Coramani y Papi, 2004). La enzima lisosomal mieloperoxidasa (MPO) de neutrófilos y macrófagos y la eosinófilo peroxidasa (EPO) de eosinófilos, catalizan la oxidación de haluros (Cl^- , Br^-) por H_2O_2 para formar ácidos hipo halogenados (HOCl o HOBr) (ecuación 1 y 2). El daño oxidativo causado por los eosinófilos puede ser sustancial dado que éstas células poseen mayor capacidad de generar $O_2\cdot^-$ y H_2O_2 que los neutrófilos, y su contenido de EPO es de 2-4 veces mayor que MPO en neutrófilos (Coramani y Papi, 2004).



La mitocondria es la principal fuente de radicales libres, mediante el proceso de fosforilación oxidativa, en el cual el O_2 actúa como aceptor final de electrones. Como consecuencia de este proceso, entre los nutrientes iniciales

y la generación final de energía, se forman moléculas con diferentes grados de oxidación y donde algunos de ellos pueden entregar uno o dos electrones al oxígeno y producir intermediarios parcialmente reducidos que son los radicales libres (Fig. 2). Sin embargo en condiciones hipóxicas como las asociadas al shock séptico, estos intermediarios se liberan causando daño a la estructura y funcionalidad de la mitocondria.

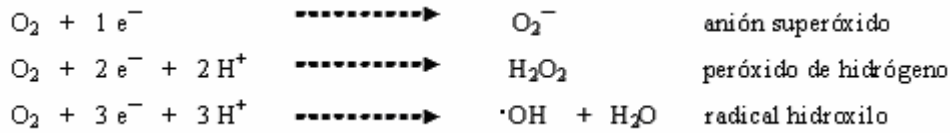


Fig. 2. Formación de las diferentes especies reactivas del oxígeno.
Fuente: Hussain y Ali, 1998.

En este proceso también se activan las enzimas de membrana fosfolipasa A2 (FLA2) y fosfolipasa C (FLC) mediante señales extracelulares que generan ácido araquidónico, el cual por la acción de las cicloxigenasas y las lipoxigenasas no solo producen prostaglandinas y leukotrienos, sino también ERO (1O_2 , $O\cdot_2$, $\cdot OH$) e hidroperóxidos lipídicos (Muller, 1994).

El $O\cdot_2$ tiene un tiempo de vida media superior comparado con otros ERO que le permite difundir a otras estructuras celulares. Su reacción con el H_2O_2 en presencia de Fe o Cu da lugar al $\cdot OH$ (reacción de Haber-Weiss) (ecuación 3) (Koningsberger y col. 1994; Richards y col. 1998) lo cual puede ocurrir con una alta frecuencia teniendo en cuenta que existen en su entorno varias enzimas en cuya estructura presentan estos metales como los citocromos, las ubiquinonas y las flavoproteínas.



Las enzimas MPO y EPO pueden usar también nitrito (producto final del metabolismo del óxido nítrico) y $O\cdot_2$ o H_2O_2 promoviendo la formación de intermediarios reactivos del nitrógeno como el peroxinitrito ($ONOO^-$) y el oxinitrito ($NO\cdot$) el cual influye negativamente en las funciones celulares (Beckman y col. 1990; Dworski, 2000; Coramani y Papi, 2004).

El radical $\cdot OH$ es el más reactivo de los ERO, existe durante pocos microsegundos pero se combina rápidamente con otras moléculas. Puede generarse a través de la reacción de Fenton a partir de H_2O_2 y dada la presencia en el medio de trazas metálicas como el Cu, Fe y Co (ecuación 4) (Liotti y col. 1987; Koningsberger y col. 1994; Richards y col. 1998).



Otras fuentes de radicales la constituyen la citocromo P450. Este complejo enzimático a través de una cadena de electrones y empleando como cofactor el NADPH, está implicada en la modificación oxidativa de gran número de sustancias tóxicas (Kappus, 1987).

Aunque la xantina oxidasa comúnmente la asocian con aquellos procesos donde se involucre la isquemia/reperfusión, algunos autores han encontrado incrementados significativamente los valores de actividad de esta enzima en pacientes con sepsis (Galley y col. 1996), por lo que su función como generadora de radicales también está ligada al proceso de shock séptico.

Efectos de los Radicales Libres durante el Shock Séptico

Una de las estructura celulares que más sufre la acción de los radicales libres es la mitocondria. Uno de los daños mejor estudiados es la peroxidación lipídica. El aumento de especies reactivas conlleva a un incremento en la peroxidación lipídica. La acumulación de hidroperóxidos lipídicos en las membranas altera su funcionamiento y estructura (Halliwell y Gutteridge, 1984). Tenemos que la modificación de los lípidos provoca cambios en la fluidez de las membranas con lo cual se pueden inactivar enzimas como las citocromos y la ATPasa, la inhibición de esta última conlleva al déficit de energía metabólicamente utilizable por parte de la célula llevándola a activar o inactivar rutas como la glicólisis, e incluso durante el estado agudo del shock séptico, a un aumento de la lipólisis, provocando una pérdida de peso rápida del organismo. A esto contribuye el hecho de que la acción de los radicales puede inactivar la enzima gliceraldeido-3-fosfato deshidrogenasa implicada en la glicólisis (Mohr y col. 1994).

Los productos de la peroxidación lipídica, particularmente los derivados de aldehídos, pueden inhibir la síntesis de proteínas, bloquear la acción de los macrófagos y causar cambios en la actividad de muchas enzimas (Winrow y col. 1993).

Los radicales pueden causar daño vascular e incrementar la expresión de selectinas en el endotelio resultando en una mayor adherencia de los neutrófilos en el tejido potenciando el daño vascular (Ali y col. 1997). Cuando los neutrófilos estimulados reconocen las endotoxinas sobre una superficie no ingestada, liberan sus contenidos lisosomales, en los cuales se encuentran las proteasas y los radicales tóxicos, en el medio extracelular. La presencia de especies como HOCl provoca la inactivación de la α -1 proteinasa que es el mayor inhibidor en plasma y tejido de estas proteasas.

Otras enzimas como la colagenasa y la gelatinasa, liberadas por los neutrófilos en forma inactiva, son activadas mediante la oxidación directa sobre ellas por el HOCl. Todos estos efectos conllevan a la degradación de la matriz extracelular de todas las células presentes en el medio (Ali y col. 1997).

Otros estudios han demostrado que la generación de ERO puede incrementar la actividad de la fosfolipasa A₂ y aumentar la movilización de ácido araquidónico mediante la activación de las enzimas proteína quinasa C y tirosina quinasa. Igualmente proponen que esta movilización no solo ocurre en células fagocíticas con alta capacidad de producir radicales libres sino también en fibroblastos (Martínez y Moreno, 1996).

Se ha visto que los radicales libres están implicados en la activación del factor de transcripción NFκB (Baeuerle y Baltimore, 1991; Schreck y col. 1991), este controla la transcripción de numerosas citoquinas como la interleukina 2 (IL-2) y el factor de necrosis tumoral (TNF-α). El incremento de los radicales libres puede aumentar la liberación del NFκB quien a su vez aumenta la síntesis del TNF, el cual ejerce una retroalimentación positiva activando al NFκB. El TNF es una citoquina proinflamatoria involucrada en los cambios patofisiológicos asociados a condiciones inflamatorias agudas y crónicas teniendo como uno de sus efectos la estimulación en la producción de ERO en granulocitos y monocitos (Lloyd y col. 1993). Se conoce que el H₂O₂ es capaz de activar la tirosina quinasa que por fosforilación activa el complejo NFκB que regula, en el núcleo, la expresión de varias citoquinas (Sen y Baltimore, 1986; Li y Verma, 2002).

El óxido nítrico (ON) es un mediador que entre sus funciones incluye la de ser vaso dilatador, involucrado en la distribución del flujo sanguíneo en los órganos, antiadherente y antiagregante plaquetario, antimitógeno y responsable en gran parte de la regulación del tono vascular. Un aumento en la producción de ERO conlleva a la captura del ON por estas especies y por tanto a su disminución en el medio para formar otras especies reactivas como el peroxinitrito (ONOO⁻) (Cuzzocrea y col. 1997). La caída en la concentración del ON puede conllevar trastornos como un engrosamiento en las paredes arteriales, la retención de agua y Na⁺, el aumento en la actividad simpática y una disminución del tono vasodilatador. Por su parte el ONOO⁻ provoca la ruptura de las cadenas simples de ADN disparando la activación de la enzima poly-ADP ribosil sintetasa (PARS). La PARS puede disminuir el transporte de electrones y por tanto la formación de ATP resultando en la disfunción o muerte celular (Cochrane, 1991; Szabó, 1996). Se ha descrito que la liberación de Ca²⁺ mitocondrial está controlada por el estado oxidativo de los tioles del medio. Se ha probado que los peroxinitritos activan la liberación de Ca²⁺ por mitocondrias hepáticas estimulando la liberación específica dependiente de de ADP ribosa. Los niveles excesivos de de Ca²⁺ también contribuyen a una serie de mecanismo citotóxicos que

pueden conducir finalmente a la generación de un estrés oxidativo y necrosis o apoptosis celular (Catalá, 2004). La activación de las enzimas calcio-dependientes, como las fosfolipasas, conllevan al daño de la membrana debido a la degradación de los fosfolípidos. La carga excesiva del calcio celular también puede activar la liberación de ERO y potenciar la lesión de la membrana (Hotter y col. 1996; Swenney, 1997).

De los radicales generados en el organismo uno de los más reactivos es el $\cdot\text{OH}$. Se ha visto que induce a la pérdida de K^+ de las membranas celulares (Maridonneau y col. 1986) que puede traer como consecuencia no solo la despolarización de la membrana celular sino también afectar las concentraciones de este ión cuyo gradiente es utilizado en la célula para el transporte de sustancias. También se ha visto que es capaz de romper las cadenas de ADN (Imlay y Linn, 1988).

Efecto del Ozono sobre el Shock Séptico

Se han hecho varios estudios sobre los efectos de inactivación de las especies reactivas del oxígeno en la evolución del shock séptico (Novelli, 1997). Para ello se han probado diferentes sustancias como anticuerpos anti-TNF y receptores solubles de TNF (Vincent, 1997), el dimetil sulfóxido (Brackett y col. 1991) y N-acetil-cisteína (Spies y col. 1994). Sin embargo ninguna de estas drogas con actividad antioxidante ha logrado demostrar su efectividad para el control de la producción aguda de ERO al fallar en demostrar un beneficio clínico claro.

El ozono (O_3) es un elemento natural importante de la atmósfera (Cadle, 1970). Desde la primera Guerra Mundial se ha usado el ozono como un desinfectante potente (Viebahn, 1999) y después de esto un número importante de evidencias han apoyado su utilidad en la medicina para el tratamiento de varias enfermedades infecciosas tales como abscesos, gangrena, infecciones del hongo y osteomielitis entre otros administrándose a dosis muy bajas lejos del rango tóxico (Bocci, 1996, 1999, 2001).

Teniendo en cuenta que el acondicionamiento oxidativo se basa en el hecho de que un estrés oxidativo controlado es capaz de proteger contra un fenómeno más prolongado y severo de la misma naturaleza y basándonos en las propiedades oxidantes del ozono, es posible postular que el ozono, bajo estas condiciones, puede atenuar la susceptibilidad al estrés oxidativo en el shock séptico.

Ha sido demostrado que la administración del ozono de forma controlada puede promover un acondicionamiento oxidativo (POO) o la adaptación al estrés oxidativo, previniendo el daño inducido por ERO y realizando un efecto protector al incrementar los sistemas endógenos antioxidantes (León y col. 1998; Candelario-Jalil y col. 2001; Al-Dalain y col. 2001; Ajamieh y

col. 2004, Ajamieh y col. 2005; Zullyt y col. 2005; Bette y col. 2005; Madej y col. 2007).

Algunos estudios han demostrado que sensores celulares específicos pueden activarse a través de productos de la peroxidación lipídica regulando el sistema antioxidante hacia la adaptación del estrés oxidativo (León y col. 1998; Bochkov y Leitinger, 2003). La oxidación de forma moderada de algunos lípidos pueden llevar a la célula a tomar estrategias como: a) inducción de rutas de señalización que conlleven a la suprarregulación de genes anti-inflamatorios, b) inhibición de rutas de señalización acopladas a la expresión de genes pro-inflamatorios, c) prevención de la interacción de productos bacterianos pro-inflamatorio con la célula huésped (Bochkov y Leitinger, 2003). Es sabido que el ozono genera la formación de radicales y por tanto promueve la peroxidación lipídica, pero su administración de forma controlada (según vía de administración y dosis aplicada) puede generar la oxidación lipídica necesaria capaz de activar estas rutas y modificar la respuesta inmunológica.

Si bien las bajas concentraciones de productos de la oxidación lipídica generados por el ozono pueden acarrear efectos positivos, el POO ha mostrado ser capaz de disminuir la excesiva peroxidación lipídica que tiene lugar en diferentes procesos patológicos. La activación de diferentes sistemas endógenos conlleva a prevenir la exacerbación en la peroxidación lipídica conservando las funciones básicas celulares (León y col. 1998; Ajamieh y col. 2004; Ajamieh y col. 2005; Zamora y col. 2005).

Se ha visto que el POO ha sido capaz de regular la formación de ON, planteándose a través de una activación de los genes asociados a este y su formación en las cantidades requeridas para proteger al organismo de un daño (Ajamieh y col. 2004) pudiendo revertir las funciones de engrosamiento en las paredes arteriales, la retención de agua y Na^+ , el aumento de la actividad simpática y la disminución del tono vasodilatador, que su pérdida por acción de los ERO provoca. Igualmente la activación de las defensas antioxidantes conllevan a la disminución de ERO como O_2 o H_2O_2 y por tanto la aparición del radical ONOO^- . Este efecto influye en la conservación de las simples cadenas de ADN y la inhibición de la PARS, preservando el transporte de electrones y por tanto la formación de ATP (Cochrane, 1991; Szabó, 1996). Existen evidencias que demuestran que el tratamiento con ozono es capaz de reducir la depleción del ATP y mantener la enzima adenosina diaminaza a niveles control (Peralta y col. 2000) mostrando eficacia al mantener los niveles energéticos celulares.

Durante los procesos de shock el metabolismo de los carbohidratos se refleja en una hiperglucemia transitoria seguida de una acusada hipoglucemia. La hiperglucemia inicial se plantea que se debe a la estimulación de hormonas hiperglucemiantes como el glucagón y la

adrenalina. A continuación, cuando se acaban las reservas de glucógeno, aparece una marcada hipoglucemia, característica de una segunda fase del shock (Catala, 2004). Algunos resultados experimentales han mostrado que el acondicionamiento con ozono ha sido capaz de resguardar al animal contra la depleción del glucógeno y prevenir su degradación hasta lactato, disminuyendo la acidosis intracelular asociada a la glicólisis anaerobia. En el estudio, donde se trataron las ratas con tetracloruro de carbono (CCl_4), se observó que la relación peso hepático-peso corporal se mantuvo comparable a las del control pudiéndose explicar de forma parcial a la preservación del glucógeno hepático. Además de mantener los niveles de glucógeno semejante al grupo control, también redujo de forma significativa la formación de ácido úrico y lactato con respecto a los animales tratados con el CCl_4 (Candelario-Jalil y col. 2001).

El POO ha probado disminuir significativamente los niveles séricos de TNF mediante inyección intraperitoneal (Zamora y col. 2005). El tratamiento pudiera estar modificando la producción y liberación de las diferentes citoquinas proinflamatorias en los diferentes órganos abdominales como ocurre con la ozonización de la sangre *in vitro* causando la liberación de TNF- α , IL-2 o IFN- α (Peralta y col. 1998; Peralta y col. 2000). Estos efectos pueden ser consecuencia de la estimulación por parte del ozono de las defensas antioxidantes, con la subsiguiente disminución de radicales que puede influir en una menor activación del NF κ B y por tanto un decrecimiento en la expresión del TNF y el resto de las citoquinas. Otros autores han percibido una reducción en la concentración de ARNm de IL-1 β y de TNF- α en bazo e hígado y un aumento en el porcentaje de sobrevivencia en ratas preacondicionadas con ozono (Bette y col. 2006).

Estudios llevados a cabo de isquemia-reperfusión han demostrado que ratas sometidas a un acondicionamiento y luego sometidas a una intervención quirúrgica han logrado mantener estable las concentraciones intracelulares en tejido hepático de Ca^{2+} y aumento de forma significativa los niveles de grupos tiólicos totales (Hussam, 2004). Los autores plantean una posible activación de las células de Kupffer durante el acondicionamiento disminuyendo o previniendo el aumento de los precursores o los mecanismos de generación de ERO. El aumento de grupos tiólicos puede promover el desplazamiento de varias reacciones hacia la formación de especies menos reactivas y menos tóxicas como es el caso de la xantina oxidasa. Se plantea que el tratamiento previo con el ozono puede ejercer un efecto preservador sobre la homeostasis del calcio celular, dada una posible acción protectora sobre la actividad de la enzima Ca^{2+} -ATPasa, y controlar la actividad lítica de la enzima fosfolipasa A, explicando uno de los mecanismos más probables que pudieran estar involucrados en las acciones protectoras frente a un desafío oxidativo de carácter lesivo (Hussam, 2004).

En relación con el sistema enzimático antioxidante existe amplia bibliografía que demuestra la eficacia del tratamiento para incrementar la actividad de las enzimas implicadas directamente con la captura o eliminación de ERO. Se ha visto que el POO parece restaurar el balance redox incrementando la acción de la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx) tanto en sangre como en órganos (León y col. 1998; Ajamieh y col. 2004; Ajamieh y col. 2005; Zamora y col. 2005; Madej y col. 2007).

Enzimas como la glutatión transferasa (GST), aspartato amino transferasa (ASAT), alanina aminotransferasa (ALAT), colinesterasa (CHEasa), fosfolipasa A₂ (FLA₂), ATPasa dependiente de Ca²⁺ (ATPasa-Ca²⁺), glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PDH), y biomarcadores tales como glutatión (GSH), hidroperóxidos totales (TH) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB), también han mostrado una relación favorable de su acción en el Precondicionamiento Oxidativo con Ozono (León y col. 1998; Ajamieh y col. 2004; Ajamieh y col. 2005; Zamora y col. 2005).

La acción directa de estas en la eliminación de radicales puede influir muy propiciamente en la modulación de los procesos proinflamatorios y antiinflamatorios, llevando al organismo a un balance entre ellos y al equilibrio redox al disminuir la expresión de las proteínas y biomoléculas implicadas en la activación, migración y chemotaxis de todas las células del sistema inmunológico provocando que su acción sea más específica. En algunos estudios el ozono ha exhibido efectos sobre el sistema inmunológico como la modulación de la actividad fagocítica de macrófagos alveolares y peritoneales (Canning y col. 1991; Chatterjee y Mukherjee, 1993; Jakab y col. 1995) y se ha mostrado que bajas concentraciones de ozono estimulan la proliferación de células mononucleadas en sangre periférica (Larini y Bocci, 2005).

Conclusiones

Existen evidencias que demuestran que el POO puede inducir tolerancia en el organismo a la generación de radicales libres de forma exógena o endógena. La terapia mediante el precondicionamiento puede ser capaz de preservar la integridad del individuo al inducir complejos enzimáticos o activar rutas metabólicas y regular la generación de mensajeros celulares capaces de mantener el equilibrio redox. Su influencia en el balance antioxidantes-prooxidantes ayuda en la preservación del estado redox de la célula e incrementa el sistema antioxidante endógeno (León y col. 1998; Ajamieh y col. 2004; Ajamieh y col. 2005; Zamora y col. 2005; Madej y col. 2007).

También demuestra un beneficio clínico en la modulación de moléculas de adhesión y factores quimiotácticos, activación de células inmunitarias, en la cascada de señalización celular asociada a funciones fisiopatológicas y en el

mejoramiento del transporte de oxígeno (Peralta y col. 1998; Peralta y col. 2000; Zamora y col. 2005; Bette y col. 2006). Por lo que podemos concluir que el POO puede ser utilizado como tratamiento en el shock séptico dada su efectividad a nivel molecular y clínico.

Recomendaciones

Dadas las ventajas del POO que se abordaron anteriormente es recomendable profundizar en la influencia del POO sobre algunos marcadores fisiológicos como la hipotensión, fiebre, coagulación intravascular e hiporeactividad, los cuales caracterizan al shock séptico y que sin embargo han recibido una menor atención en cuanto a los mecanismos que las producen.

REFERENCIAS

- Ajamieh HH, Merino N, Candelario-Jalil E, Menendez S, Martinez-Sanchez G, Re L, Giuliani A, Leon OS. Similar protective effect of ischaemic and ozone oxidative preconditionings in liver ischaemia/reperfusion injury. *Pharmacological Research* 2002, 45(4), pp 333-339.
- Ajamieh HH, Menendez S, Martinez-Sanchez G, Candelario-Jalil E, Re L, Giuliani A, León OS. Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia-reperfusion. *Liver International* 2004; 24 pp 55-62.
- Ajamieh HH, Berlanga J, Merino N, Sanchez GM, Carmona AM, Cepero SM, Giuliani A, Re L, León OS. Role of protein synthesis in the protection conferred by ozone oxidative preconditioning in hepatic ischaemia/reperfusion. *Transplant International* 2005; 18 pp 604-612.
- Al-Dalain SM, Martinez G, Candelario-Jalil E. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacol. Res.* 2001; 44 pp 391-396.
- Ali H, Haribabu B, Richardson RM, Snyderman R. Mechanisms of inflammation and leukocyte activation. *Advances in Rheumatology* 1997; 81 (1) 1-28.
- Añel RL y Kumar A. Experimental and emerging therapies for sepsis and septic shock. *Expert Opinio Investig. Drugs* 2001; 10 (8) pp 1471-1485.
- Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radical Biology and Medicine* 1989; 6 pp 593-597.
- Baeuerle PA y Baltimore D. The physiology of the NFκB transcription factor. Elsevier Science Publishers 1991; pp 423-446.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implication for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1990; 87 pp 1620-1624.

- Bette M, Nusing R M, Mutters R, Zamora Z B, Menéndez S, Schulz S. Efficiency of tazobactam/piperacillin lethal peritonitis is enhanced after preconditioning of rats with O3/O2-pneomoperitoneum. *Shock*. 2006; 25(1) pp 23-29
- Bocci V. Does ozone therapies normalize the cellular redox balance? *Med. Hypothesis* 1996; 46 pp 150-156.
- Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. How ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci* 1999; 56 pp 270-277.
- Bocci V. Ozone in medicine. *Ozone Sci. Eng* 2001; 23 pp 207-217.
- Bochkov VN y Leitinger N. Anti-inflammatory properties of lipid oxidation products. *J.Mol. Med.* 2003; 81 pp 613-626.
- Bone RC, Balk RA, Cerra FB. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest*. 1992; 101 pp 1644-1655.
- Brackett DJ, Lerner MR, Wilson MF. Dimethyl sulfoxides antagonizes hypotensive metabolic and pathologic responses induced by endotoxin. *Circulatory Shock* 1991; 33 pp 156-163.
- Cadle RD y Allen ER. Atmospheric photochemistry. *Science* 1970; 167 pp 243-249.
- Candelario-Jalil, Al-Dalain SM, Leon OS. Oxidative preconditioning affords protection against carbon tetrachloride-induced glycogen depletion and oxidative stress in rats. *J. Appl. Toxicol* 2001; 21 pp 297-301.
- Canning BJ, Hmieleski RR, Spannhake EW, Jakab GJ. Ozone reduces murine alveolar and peritoneal macrophage phagocytosis: the role of prostanoids. *Am J Physiol* 1991; 261. (1), pp. L277-282.
- Catalá Rodríguez, M. *Mecanismos bioquímicos del shock endotóxico : respuestas hepática al estrés oxidativo*. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid 2004.
- Chatterjee D, Mukherjee SK. Destruction of phagocytosis-suppressing activity of aflatoxin B1 by ozone. *Lett Appl Microbiol*, 1993; 17 (2), pp. 52-54.
- Cochrane CG. Mechanism of oxidant injury of cells. *Mol Aspects Med* 1991; 12 pp 137-147.
- Coramani G. y Papi A. Oxidants and asthma. *Thorax* 2004; 59 pp 170-173.
- Cuzzocrea S, Zingarelli B, Hake P, Salzman AL, Szabó C. Anti-inflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radical Biology and Medicine* 1997; 24 (3) pp 450-459.
- Dworski R. Oxidant stress in asthma. *Torax* 2000; 55(2) pp 51-53.
- Galley HF, Davies MJ, Webster NR. Xanthine oxidase activity and free radical generation in patients with sepsis syndrome. *Crit. Care Med* 1996; 24 pp 1649-1653.
- Halliwell B. y Gutteridge J.M. Lipid peroxidation, oxygen radical, cell damage and antioxidant therapy. *Lancet* 1984; 1 pp 1396-1397.

- Hotter G, Closa D, Prados M, Fernandez-Cruz L, Prats N, Gelpi E, Rosell´o-Catafau J. Intestinal preconditioning is mediated by a transient increase in nitric oxide. *Biochim Biophys Res Commun* 1996; 222 pp 27-32.
- Hussain S y Ali SF. Antioxidant enzymes. Developmental profiles and their role in metal induced oxidative stress. Handbook of developmental neurotoxicology. Arkansas, Academe Press, 1998; 353-367.
- Imlay JA y Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988; 240 pp 1302-1309.
- Jakab GJ, Spannhake EW, Canning BJ, Kleeberger SR, Gilmour MI. The effects of ozone on immune function. *Environ Health Perspect* 1995; 103 (2), pp. 77-89.
- Kappus H. A survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems. *Chemistry and Physics of Lipids* 1987; 45 pp 105-115.
- Khalfi F, Gressier, Dine T, Brunet C, Luyckx M, Ballester L, Cazin M, Cazin JC. Verapamil inhibits elastase release and superoxide anion production in human neutrophils. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 1998; 21(2) pp 109-112.
- Koningsberger J.C., van Asbeck B.S., van Faasen E., Wiegman L.J., Hattum J., Berge G.P, Marx J.J.M. Cooper, zinc-superoxide dismutase and hydrogen peroxide: a hydroxyl radical generating system. *Clinica Chimica Acta* 1994; 230 pp 51-61.
- Larini, A y Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. *Toxicology in Vitro* 2005; 19 pp 55- 61.
- Leon OS, Menendez S, Merino N, Castillo R, Sam S, P´erez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators of Inflammation* 1998; 7 pp 289-294.
- Li, Q., Verma, I.M. NF- κ B regulation in the immune system. *Nature Rev. Immunol.* 2002; 2 pp 725-734.
- Liotti F.S, Menghini A.R., Guerrieri P., Mariucci G, Locci P, Bruscellini G. Variations in catalase, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in regenerating rat liver. *Cellular and Molecular Biology* 1987; 33 (5) pp 611-617.
- Lloyd SS, Chang AK, Taylor FB, Janzen EG, McCay PB. Free radicals and septic shock in primates: the role of tumor necrosis factor. *Free Rad. Biol. Med.* 1993; 14 pp 223-242.
- Madej P, Plewka A, Madej JA, Nowak M, Plewka D, Franik G, Golka D. Ozonotherapy in an Induced Septic Shock. I. Effect of Ozonotherapy on Rat Organs in Evaluation of Free Radical Reactions and Selected Enzymatic Systems. *Inflammation* 2007; 30 pp 52-58.
- Maridonneau-Parini I, Braquet P, Garay RP. Heterogeneous effect of flavonoids on K⁺ loss and lipid peroxidation induced by oxygen-free radicals in human red cells. *Pharmacol. Res. Commun.* 1986; 18 pp 61-72.
- Martinez J y Moreno JJ. Influence of superoxide radical and hydrogen peroxide on arachidonic acid mobilization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 1996; 336 (2) pp 191-198.

- Mohr S, Stamler JS, Brune B. Mechanism of covalent modification of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase at its active site thiol by nitric oxide, peroxy nitrite and related nitrosating agent. *FEBS Lett* 1994; 348 pp 223-227.
- Muller K. 5-Lipoxygenase and 12-lipoxygenase: attractive targets for the development of novel antipsoriatic drugs. *Arch. Pharma.* 1994; 327 pp 3-19.
- Novelli GP. Role of free radicals in septic shock. *Journal of Physiology and Pharmacology* 1997; 48 (4) pp 517-527.
- Leon OS, Menedez S, Merino N, Lopez R, Castillo R, Sam S, Perez L, Cruz E, Jouseph F, Fernandez A. Influencia del preconditionamiento oxidativo con ozono sobre los niveles de calcio. *Revista CNIC Ciencia Biologicas* 1998; 29 (3) pp 134-136.
- Peralta C, Closa D, Xaus C, Gelpi E, Rosello-Catafau J, Hotter G. Hepatic preconditioning in rats is defined by a balance of adenosine and xanthine. *Hepatology* 1998; 28 (3) pp 768-737.
- Peralta C, Xaus C, Bartrons R. Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischaemia-reperfusion. *Free Radical Res.* 2000; 33 pp 595-605.
- Richards RS, Roberts TK, McGregor NR, Dunstan RH, Butt HL. The role of erythrocytes in the inactivation of free radicals. *Medical Hypotheses* 1998; 50 pp 363-367.
- Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NFκB transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 1991; 10 pp 2247-2258.
- Sen, R., Baltimore, D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* 1986; 46, 705-716.
- Spies CD, Reinhart K, Witt I. Influence of n-acetylcysteine on indirect indicators of tissue oxygenation in septic shock patients: results from a prospective, randomized, double-blind study. *Crit. Care Med* 1994; 22 pp 1738-1746.
- Swenney MI. Neuroprotective effects of adenosine in cerebral ischaemia: window of opportunity. *Neurosci Biobehav Rev* 1997; 21 pp 207-17.
- Szabó C. The pathophysiological role of peroxy nitrite in shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury. *Shock* 1996; 6 pp 79-88.
- Viebahn R. The use of ozone in medicine. Iffezheim: ODREI, Publishers 1999; pp 1-148.
- Vincent JL. New therapies in sepsis. (Review). *Chest.* 1997; 112 (6) pp. 330-338.
- Winrow VR, Winyard PG, Morris CL, Blake DR. Free radicals in inflammation: second messengers and mediators of tissue destruction. *British Medical Bulletin* 1993; 49(3) pp 506-522.
- Zamora ZB, Borrego A, Lopez OY, Delgado R, Gonzalez R, Menendez S, Hernandez F, Schulz, S. Effects of ozone oxidative preconditioning on TNF-α release and antioxidant-prooxidant intracellular balance in mice during endotóxico shock. *Mediators of Inflammation.*