

Efecto protector de la ozonoterapia contra el estrés oxidativo en la deficiencia de inmunoglobulina A



Díaz - Luis J, Abrahán- Macías C, Fariñas -Rodríguez L, Menéndez- Cepero S

¹Hospital Roberto Rodríguez Fernández, Ciego de Avila; ² Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana; ³ Centro Nacional de Genética Médica, La Habana; ⁴ Centro Prodanza, Colaboradora del CENIC, La Habana, Cuba.

Email: jdiaz@hgm.cav.sld.cu

RESUMEN

La deficiencia de inmunoglobulina A no tiene tratamiento específico, el tratamiento preventivo en ocasiones es insuficiente. Se toma en consideración la ozonoterapia por ser natural y antioxidante. El objetivo fue determinar el efecto del ozono contra el estrés oxidativo en esta inmunodeficiencia. Se realizó un ensayo clínico fase II, aleatorizado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación; los pacientes firmaron el consentimiento informado. 40 Pacientes fueron incluidos en 2 grupos homogéneos de 20: el grupo experimental recibió 20 sesiones de OT por insuflación rectal, administradas de forma escalonada, seguido de tres meses de descanso y luego un segundo ciclo de 20 sesiones, el grupo control recibió Hebertrans 1 bulbo subcutáneo semanal durante 12 semanas. Marcadores de daño oxidativo y marcadores de defensa antioxidantes se evaluaron al inicio y 1 mes después del tratamiento, el estado clínico y la ocurrencia de eventos adversos al inicio, durante y 1 mes después de los tratamientos. Se aplicó el Test estadístico Chi cuadrado con un nivel de significación $\alpha= 0,05$. En el 100 % existe desbalance en el estado redox por daño a las biomoléculas. Se demostró la estimulación endógena de los sistemas antioxidantes por el ozono y la reducción del grado de estrés oxidativo y se reportaron eventos adversos leves en el 5 %. Con la ozonoterapia se logró un efecto positivo al recuperar los niveles de antioxidantes, disminuir el estrés oxidativo

Palabras clave: ozonoterapia, antioxidante, inmunodeficiencia, estrés oxidativo.

INTRODUCCIÓN



La deficiencia de IgA (DIgA) es un trastorno por inmunodeficiencia (ID) predominantemente de anticuerpos, ¹ que se presenta con enfermedades infecciosas recurrentes, alergias y autoinmunidad. ² Existen reportes de estrés oxidativo (EO) en las inmunodeficiencias como es el SIDA. Las enfermedades infecciosas en las ID van desde la activación intensa del sistema inmune con respuesta inflamatoria sistémica, sepsis y shock séptico hasta las infecciones crónicas, recurrente o de larga duración, que produce agotamiento del sistema inmune lo que ocasiona EO. ³

Existen evidencias científicas, que consideran la normalización de la capacidad antioxidante del organismo como una estrategia terapéutica en el tratamiento preventivo de las inmunodeficiencias primarias. Se ha sugerido que los niveles de antioxidantes son determinantes para mantener las células en un ambiente reducido y protegerlas del estrés oxidativo y así preservar sus funciones. Los antioxidantes mantienen la integridad y función de los lípidos de membrana, las proteínas, los ácidos nucleicos y el control de señales de transducción. ⁴

Es muy difícil demostrar el efecto estimulante indiscriminado de los antioxidantes sobre la función inmune, pero se ha sugerido que son homeostáticos. El O₃ actúa como un estresor, al inducir un moderado y controlado EO, que es el estímulo para la activación del factor 2 eritroide nuclear (Nrf2), con la consecuente transcripción de elementos de respuesta antioxidante (ERA), como la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peróxidasa (GPx) y catalasa (CAT). Se ha evidenciado que el O₃ es capaz de activar otros factores de transcripción, como el Factor Nuclear de la Célula T Activada (NFA-T) y la Proteína 1 Activada (AP-1). Hoy día, estos conceptos son ampliamente aceptados. ⁴ Las células responden al EO para mantener la homeostasis y adaptarse al estrés. Las enzimas antioxidantes protegen a las células de la oxidación, la inflamación y son capaces de revertir el EO. La respuesta beneficiosa a nivel celular es la base del empleo de la OT en esta ID. ⁴ Es difícil demostrar el efecto estimulante indiscriminado del O₃ sobre la función inmune, se compara con el efecto ocasionado por los mitógenos en la inducción citogénica. El proceso de activación celular es dinámico y no es largo por siempre, porque las células sanguíneas tienen un tiempo de vida definido y una memoria bioquímica limitada. ²

La respuesta al O₃, no debemos considerarla una respuesta multivariada, la respuesta terapéutica es por el efecto del pre-acondicionamiento oxidativo, capaz de equilibrar el sistema redox alterado por estímulos patogénicos.³



OBJETIVOS

General: Evaluar la seguridad y el efecto de la OT contra el estrés oxidativo en la DIgA.

Específicos:

1. Determinar parámetros antioxidantes y pro-oxidantes al inicio y 1 mes después del tratamiento en ambos grupos de tratamiento.
2. Comparar el efecto de los tratamientos sobre los parámetros antioxidantes y pro oxidantes, 1 mes después de recibirlos.
3. Evaluar diferencias entre los grupos en cuanto a la ocurrencia de eventos adversos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo clínico fase II, controlado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación; los pacientes firmaron el consentimiento informado; 40 pacientes fueron incluidos en 2 grupos de 20: el grupo experimental (GE) recibió dos ciclos de 20 sesiones cada uno, de OT por insuflación rectal, separados por tres meses sin recibir OT. El grupo control (GC) recibió Hebertrans 1 bulbo subcutáneo semanal durante 12 semanas.

Se realizó extracción de 7 mL de sangre venosa en ayunas y se distribuyó de la siguiente forma: 2 mL en un tubo heparinizado para el Ensayo Cometa y 5 mL en un tubo con EDTA para las determinaciones de EO.

Para evaluar los marcadores de EO⁵, se obtuvo el plasma por centrifugación (2500 rpm, 5 min) y lisados de eritrocitos y fueron almacenadas a -20°C hasta su procesamiento (menos de diez días). Para determinar el daño basal en el ADN se utilizaron linfocitos de sangre periférica.

Marcadores de daño oxidativo:

- Determinación de malonildialdehído (MDA) a partir del método descrito en el ensayo BIOXYTECH® LPO-586TM (OXIS Research, Portland, USA).
- Determinación de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP) mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Witko Sarsat y colaboradores.

- Determinación de peróxidos totales mediante el método FOX.
- Determinación del daño basal al ADN. mediante el ensayo COMETA.

Marcadores de defensa antioxidante:

- Actividad de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa intraeritrocitaria (SOD1) mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Marklund S y Marklund G.
- Actividad de la enzima catalasa intraeritrocitaria (CAT) mediante la técnica de Aebi H. 3-Actividad de la enzima Glutación Peroxidasa celular (c-GPx) mediante la técnica de Paglia DE y Valentine WN.
- Determinación Glutación Reducido (GSH) mediante la técnica de Sedlak J y Lidsay RH.
- Determinación de la capacidad antioxidante total mediante el ensayo FRAP.

RESULTADOS

El desbalance en el estado redox en los pacientes con DIgA, se evidenció por incremento en los AOPP y el MDA, en el 100 % (n= 40) y la disminución en la concentración de GSH en el 80 %. En el GE disminuyó significativamente ($p<0,04$), la concentración de AOPP y MDA ($p<0,05$) con relación al GC 1 mes después (tabla).

Se obtuvo incremento significativo ($p< 004$) de la SOD (92 %) en el GE. La capacidad total antioxidante se incrementó en el 100 % del GE de forma significativa con relación al GC ($p=0,04$).

Los eventos adversos en el GE fueron leves, meteorismo (5 %) y dolor abdominal leve y transitorio (5 %). En el GC fueron locales (enrojecimiento y dolor) en el sitio de la inyección (20 %).

Tabla. Biomarcadores de daño oxidativo y antioxidantes antes y después de la OT o el Hebertrans en la DigA

| Biomarcador | OZONOTERAPIA (n=20) | | HEBERTRANS (n=20) | | p |
|-------------------------------------|------------------------|---------|----------------------|---------|---------|
| | Antes | Después | Antes | Después | |
| MDA (μmol/L) | 2,38 | 0,87° | 2,54 | 2,50° | p<0,05 |
| PAOP (μmol/L) | 51,7 | 41,2° | 50,9 | 49,48° | p<0,04 |
| FOX (μmol/L) | < 1 | 1,1 | < 1 | < 1 | NS |
| SOD (U/mL) | 104,00 | 177,20° | 169,59 | 104.00° | p<0,004 |
| CAT (U/mL) | 70,88 | 78,14 | 67,61 | 78.58 | NS |
| CATotal (mM/Fe ⁺⁺ /L) | 0,16 | 0,34° | 0,18 | 0,18° | p<0,04 |

Muramildipeptido (MDA), producto de oxidación avanzada a proteínas (PAOP), concentración de peróxidos (FOX), Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT), Capacidad Antioxidante Total (CATotal) Los datos representan la media de las determinaciones. ° Representa la significación estadística entre los grupos mediante el X². NS:no significación

CONCLUSIONES

La OT tuvo efecto positivo ya que restableció el balance redox y fue seguro.

RECOMENDACIONES

Aplicar la OT como tratamiento preventivo (complementaria o alternativa) en la DIgA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ahmed Aziz Bousfiha, Leila Jedam, Fatima Ailal, Waleed Al Herz, Marry Ellen Conlay, Charlotte Cunningham – Rundles et al. A phenotypic approach for IUIS PID classification and diagnosis. Guidelines for clinicians at the bedside. J Clin. Immunol.2013 Aug; 33(6): 1078–87.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Inmunología celular y Molecular. 7^a ed..Barcelona: Elsevier;2012.

3. Lamberto RE, Martínez-Sánchez G, Bordicchia M, Malcangi G, Pocognoli A, Morales-Segura MA, et al. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nr-f2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. *European Journal of Pharmacol.* 2014; 742: 158-162.
4. Pecorelli A, Bocci V, Acquaviva A, Belmonte G, Gardi C, Virgili F, et al. Nr-f2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013; 267(1): 30–40. doi: 10.1016/j.taap.2012.12.001.
5. Pomier-Suarez O y col. Indicadores del estrés oxidativo en pacientes afectados por VIH/SIDA con manifestaciones reumatológicas. *Rev. Cubana Farm* 2012; 46(3): [aprox. 8 p.]

