



Revista CENIC. Ciencias Biológicas

ISSN: 0253-5688

editorial.cenic@cnic.edu.cu

Centro Nacional de Investigaciones Científicas
Cuba

Calunga, José Luis; Bello, Merien; Menéndez, Silvia; Merino, Nelson; Zamora, Zullyt; Ramos, Thaysiú
Efecto de la Ozonoterapia sobre marcadores de la inflamación en un modelo de Glomerulonefritis

Tóxica Experimental

Revista CENIC. Ciencias Biológicas, vol. 41, 2010

Centro Nacional de Investigaciones Científicas

Ciudad de La Habana, Cuba

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181220509042>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Ozone Therapy Effects upon Inflammation Markers in a Model of Experimental Toxic Glomerulonephritis

Efecto de la Ozonoterapia sobre marcadores de la inflamación en un modelo de Glomerulonefritis Tóxica Experimental

¹José Luis Calunga, ²Merien Bello, ¹Silvia Menéndez, ³Nelson Merino, ¹Zullyt Zamora, y Thaysiú Ramos⁴

calunga@giron.sld.cu; silviamenendez@infomed.sld.cu; zullyt.zamora@cnic.edu.cu

¹Centro de Investigaciones del Ozono, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Calle 230 y ave 15, Reparto Siboney, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba

²Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas Victoria de Girón Playa, Ciudad de la Habana, Cuba

³Instituto de farmacia y Alimentos, Universidad de la Habana, Ciudad de La Habana, Cuba.

thaysiu@infomed.sld.cu

⁴Hospital "Calixto García". Ciudad de La Habana, Cuba.

Efecto de la Ozonoterapia sobre marcadores de la inflamación en un modelo de Glomerulonefritis Tóxica Experimental

Resumen

Las glomerulonefritis se encuentran dentro de las primeras causa del síndrome de Insuficiencia Renal Crónica, muy relacionada su progresión con el papel de los radicales libres como ampliadores del daño renal. En obtevio de este estudio es demostrar el efecto protector del ozono en la atenuación de los daños morfofuncionales causados por la glomerulonefritis tóxica sin necesidad de utilizar la terapia convencional. Cuarenta ratas Wistar hembras, entre 170 y 230 g, fueron divididas al azar en 4 grupos de 10 ratas: control negativo - sin medicamentos; control positivo – las ratas recibieron solo adriamicina como nefrotóxico (inyección intraperitoneal de adriamicina a 1 mg/kg, 3 veces por semana, durante 4 semanas); ozono – las ratas recibieron primero el ciclo de adriamicina y 24 h después comenzó el tratamiento con ozono (15 sesiones por vía rectal a una dosis de 0,5 mg/kg); oxígeno – como el grupo ozono, pero usando oxígeno en vez de ozono. En todos los grupos se midieron los siguientes marcadores: fosfolipasa A₂, fructosamina, sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, superóxido dismutasa y catalasa. Como medida de la función renal se evaluaron: proteinuria de 24 horas, presión arterial sistólica, flujo plasmático renal e intensidad de filtración glomerular. También. Se tomó en cuenta el estudio histológico de riñones. Los resultados mostraron, en el grupo tratado con ozono, una mejoría de los marcadores de la inflamación a nivel renal, de la presión arterial sistólica, la proteinuria, el flujo plasmático renal y del estudio histológico. En conclusión, se demostró el papel protector del ozono sobre el daño renal crónico experimental, logrado mediante la regulación a nivel tisular de algunos marcadores del estrés oxidativo.

Palabras claves: Ozonoterapia, glomerulonefritis, adriamicina, daño renal crónico, estrés oxidativo.

Abstract

Glomerulonephritis are among the first causes of chronic renal insufficiency syndrome. Its progression is related with reactive oxygen species, as amplifiers of renal damage. The aim of this study is to demonstrate the ozone protection effect in decreasing the morfofunctional damages, caused by toxic glomerulonephritis, without using conventional therapy. Forty female Wistar rats, between 170 and 230 g, were divided at random into 4 groups of 10 rats each: negative control - without medication; positive control – rats received only adriamicine as nephrotoxic medication (intraperitoneal injection of adriamicine at 1 mg/kg, 3 times per week, during 4 weeks); ozone – rats received first the cycle of adriamicine and 24 h after began the ozone treatment (15 sessions by rectal insufflation at a dose of 0.5 mg/kg); oxygen – as ozone group but using oxygen instead of ozone. In all groups, the following biomarkers were measured: phospholipase A₂, fructosamine, thiobarbituric acid reactive substances, superoxide dismutase and catalase. As a measure of renal function, proteinuria of 24 h, systolic arterial pressure, renal plasmatic flow and glomerular filtration rate were evaluated. Also, kidney histological study was taking into account. The results showed, in the group treated with ozone, an improvement in renal inflammation biomarkers, systolic partial pressure, proteinuria, renal plasmatic flow and in the histological study. In summary, ozone exerted protective effects against renal experimental chronic damage through the regulation, at tissue level, of some oxidative stress biomarkers.

Keywords: Ozone therapy, glomerulonephritis, adriamicine, renal chronic damage, oxidative stress.

Introducción

Las glomerulonefritis se encuentran dentro de las primeras causas del síndrome de insuficiencia renal crónica (IRC). A pesar de múltiples trabajos y de los avances de la ciencia hoy en día, se hace muy complejo el manejo adecuado de pacientes con glomerulonefritis crónica, los cuales muchas veces evolucionan hacia la insuficiencia renal crónica (I.R.C.)¹⁻³ Actualmente se reporta en la literatura diferentes variedades de glomerulonefritis como la glomeruloesclerosis, la glomerulonefritis mesangial difusa, la glomerulonefritis membrano proliferativa con sus modalidades, la glomerulonefritis creciente, entre otras. En el caso de este trabajo se estudia un modelo en el cual se crea una glomerulonefritis intercapilar difusa, la cual es un trastorno patológico complejo. A pesar de los múltiples tratamientos basados en la inmunosupresión fundamentalmente, desafortunadamente los pacientes que portan esta entidad nosológica evolucionan, en un gran porcentaje de los casos, a la IRC.¹⁻³

Existen actualmente trabajos que reportan el papel de los radicales libres en el empeoramiento de la función y estructura renal, durante la evolución del riñón sometido a los eventos moleculares desencadenados en la glomerulonefritis. La liberación de especies reactivas del oxígeno (EROS) afectan directamente las estructuras de la nefrona, como el glomérulo, específicamente la membrana basal glomerular, la célula epitelial de los túbulos, el endotelio de los capilares glomerulares y los capilares peritubulares. De esta forma se afecta en gran medida el equilibrio túbulo-glomerular dando al traste con la tasa de filtración glomerular.⁴⁻⁶

En este modelo experimental se utilizó la adriamicina, la cual es una antraciclina lipofílica que genera el radical libre anión superóxido, creando severa toxicidad en el tejido renal del animal, que lleva a un estado anatomopatológico de glomerulonefritis intercapilar difusa, similar a lo que sucede en la práctica con pacientes portadores de glomerulonefritis de diferentes causas.⁷⁻⁸

El manejo del paciente con glomerulonefritis está sustentado sobre la base de la utilización de drogas antiinflamatorias, inmunosupresoras como los esteroides (prednisona), citotóxicos (ciclosporina) y en casos de pacientes con larga evolución de la enfermedad y con complicaciones se utiliza citostáticos (metotrexate). Los esquemas de tratamiento son muy largos y a pesar de ellos, una cantidad importante de pacientes evolucionan desfavorablemente, debido a que estos medicamentos generan efectos adversos desfavorables. Por ejemplo, en el caso de los esteroides generan osteoporosis, necrosis avascular de la cabeza del fémur, síndrome de Cushing, trastornos gastrointestinales, inmunosupresión frente a agentes patológicos determinados y en el caso de citotóxicos se sabe que empeoran la hemodinámica intrarrenal llevando al paciente a la I.R.C.⁹

Actualmente en la fisiopatología de la glomerulonefritis se ha dado un papel protagónico a las EROS, como el anión superóxido ($O_2^{\bullet -}$), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (HO^{\bullet}), el oxígeno singlete (1O_2), el óxido nítrico ON^{\bullet} , el peroxinitrito ($O=NOO$), el ácido hipocloroso ($HOCL$), entre otras, las cuales al aumentar crónicamente en el tejido renal originan un desequilibrio entre la actividad de sistemas prooxidantes y la actividad de sistemas antioxidantes, con un predominio de los primeros. Actualmente se reporta que en varios tipos de glomerulonefritis está aumentada la actividad de agentes oxidantes como el $O_2^{\bullet -}$ y el $O=NOO$. De esta forma se incrementa la peroxidación lipídica de componentes de la nefrona provocando el deterioro de la función renal.¹⁰

Por otra parte, la ozonoterapia es una terapia oxidativa que a dosis controlada ejerce un efecto beneficioso sobre las propiedades reológicas de la sangre y evita de esta forma el daño endotelial y la agregación plaquetaria. Además, es bien conocido el efecto de esta terapia como potente estimulador de los sistemas antioxidantes enzimáticos, así como su efecto inmunomodulador al actuar sobre determinadas citocinas proinflamatorias.¹¹

Conociendo su difícil control y las complicaciones que desde el punto de vista de la función renal pueda tener el paciente portador de glomerulonefritis, se hace necesaria la búsqueda de una herramienta terapéutica que ayude a estos pacientes a mejorar su calidad de vida y a disminuir la progresión de esta enfermedad. Teniendo en cuenta las características de la ozonoterapia como estimuladora de la actividad tisular de enzimas antioxidantes y su efecto sobre el metabolismo del oxígeno, así como su papel en la modulación del sistema inmune,¹² se plantea como objetivo estudiar el efecto del ozono, por vía rectal a una dosis de 0,5 mg/kg, sobre variables de función renal como la proteinuria de 24 h, la evolución de la presión arterial sistólica (PAS), el flujo plasmático renal (F.P.R), la intensidad de filtración glomerular (I.F.G), así como el comportamiento de la actividad tisular de parámetros indicadores del estrés oxidativo como la actividad de la catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB), niveles de fructosamina, actividad de la fosfolipasa A2 (FLA₂), en un modelo de glomerulonefritis tóxica experimental inducido por adriamicina.

Materiales y Métodos

Se tomó un universo de 40 ratas Wistar hembras de 190-200 g de peso corporal. Los animales fueron mantenidos a una temperatura entre 20-22 °C con una humedad relativa de 50-52 %. Las ratas fueron alimentadas con dieta estándar de laboratorio, con un consumo libre de agua bajo ciclo de luz-oscuridad artificial de 12 h, según las normas europeas de regulación para animales de experimentación.

Los animales fueron distribuidos en 4 grupos de 10 ratas cada uno:

Control negativo (Grupo I): fueron animales sanos, sin adriamicina y sin tratamiento, previamente se anestesiaron con pentobarbital sódico a la dosis de 30 mg/kg de peso por vía intraperitoneal, practicándosele una incisión en el cuello donde se le aisló la vena yugular interna y se le administró solución salina solamente. Después de esta operación se le practicó la rafia, dejándose evolucionar por 10 semanas, pasadas estas se tomó la PAS, los valores fueron tomados como valores fisiológicos de la muestra. También a estos animales se les realizó el aclaramiento plasmático de inulina y del ácido paramino-hipúrico, con el fin de calcular la intensidad de filtración glomerular y el flujo plasmático renal, respectivamente.

Grupo control positivo (Grupo II): los animales de este grupo fueron sometidos a igual proceder que el grupo anterior, pero a este grupo se le administró adriamicina a la dosis de 7,5 mg/kg en una dosis única, posteriormente se dejó evolucionar por 10 semanas. Transcurridas estas se determinaron los niveles de proteínas en orina de 24 h, y la PAS con el fin de diagnosticar el daño glomerular crónico. Después estos animales evolucionaron durante 15 d, finalizados estos se sometieron a jaulas metabólicas por 24 h; pasado este tiempo, se realizaron las mismas determinaciones señaladas en el Grupo I.

Grupo III: recibió igual proceder que el grupo anterior lo único que pasadas las 10 semanas se le comenzó el tratamiento con ozono a la dosis de 0,5 mg/kg durante 15 sesiones.

Grupo IV: este grupo sufrió igual proceder que el grupo anterior, lo que se le aplicó oxígeno por vía rectal durante 15 sesiones a la dosis de 26 mg/kg

A todos los animales al terminar el estudio se les sacrificó extrayéndoseles ambos riñones. El riñón derecho para el estudio de los parámetros bioquímicos (actividad renal de CAT, SOD, SRATB, niveles de fructosamina y actividad renal de la FLA₂), el riñón izquierdo se procesa para el estudio histopatológico.

La determinación de proteínas en orina se realizó por el método de *Biuret*,¹² en cuanto a la PAS, se determinó por el método de Riva-Rocci.¹³

Para la determinación del PAH se siguió la técnica fotocolorimétrica de Bratton y Marshal, modificado por Homer y Smith. La inulina se determinó por fotocolorimetría usando el método directo del resorcinol sin tratamiento alcalino,¹⁴

Para la determinación de la actividad de la SOD se utilizó una versión modificada del método de Minami y Yoshikawa.¹⁵

La actividad de la CAT se determinó de acuerdo al método de Evans y Diplock.¹⁶

La SRATB se utilizó para determinar los niveles de la peroxidación lipídica, según lo descrito por Ohkawa.¹⁷

Los niveles de fructosamina se determinaron a través de la variación de densidad óptica (Δ D.O) registrándose a una longitud de onda de 530 nm según método de Thome y colaboradores.¹⁸

Para la determinación de la actividad tisular de la FLA₂ se empleó una técnica espectrofotométrica en la cual la enzima actúa sobre los fosfolípidos, provocando la liberación de lisofosfolípidos y ácidos grasos, según método descrito por Raduany.¹⁹

El estudio histológico fue realizado por microscopia óptica, con hematoxilina y eosina, utilizando la parafina como método de inclusión.

Procesamiento estadístico

Se calcularon la media y la desviación estándar para cada grupo y variable, se utilizó el test de Duncan y la prueba t de Student para la comparación de medias entre 2 grupos.

Para analizar valores de actividad de las enzimas CAT, SOD,FLA₂, se aplicó el test no paramétrico de Mann-Whitney. De igual forma se utilizó el mismo para procesar los resultados de niveles tisulares de fructosamina y las SRATB.

Resultados

Los resultados muestran lo ya reportado por la literatura. El grupo control positivo al cual se le suministró la adriamicina por vía endovenosa desarrolló valores de proteinuria mayores de forma significativa con respecto al control sano, así como mostró valores superiores de presión arterial sistólica (PAS) por encima del grupo control sano. Respecto a la intensidad de filtración glomerular (I.F.G.), el control positivo reflejó al final del estudio una disminución significativa de la misma, con respecto al control sano, así como una reducción del flujo plasmático renal (F.P.R). Sin embargo, el grupo tratado con ozono a la dosis de 0,5 mg/kg por vía rectal, mostró valores de proteinuria superiores al control sano, pero inferiores significativamente al control positivo. Referente al comportamiento de la PAS, el grupo ozono mostró valores inferiores al control positivo y superior al control negativo. Respecto al comportamiento de la I.F.G. el grupo ozono mostró valores superiores de filtración así como del F.P.R. con significación estadística con respecto al control positivo. Sin embargo, el grupo de ozono mostró valores similares de I.F.G y F.P.R. con respecto al control sano sin diferencias significativas entre ambos grupos. En cuanto al grupo tratado con oxígeno, todas las variables medidas en este grupo tuvieron comportamiento similar desde el punto de vista estadístico al control positivo (Tabla 1).

Tabla 1. Evolución de la proteinuria de 24 h y la presión arterial sistólica (PAS), al inicio y final del estudio, así como el comportamiento de la intensidad de filtración glomerular (I.F.G) y el flujo plasmático renal (F.P.R) al final del estudio, en los diferentes grupos.

Grupos	N	Inicial Proteinuria mg/ml/24h	Final Proteinuria mg/ml/24h	Inicial PAS mmHg	Final PAS mmHg	I.F.G ml/min/100g	F.P.R ml/min/100g
Control sano	10	2,1 ± 0,5	1,8 ± 0,7	118 ± 17	122 ± 15	0,58 ± 0,17	3,07 ± 0,55
Control positivo	10	6,8 ± 1,8*	8,5 ± 1,6*	157 ± 9*	160 ± 13*	0,29 ± 0,11*	1,13 ± 0,33*
Ozono 0,5 mg/kg	8	7,5 ± 1,10*	3,7 ± 1,2***	160 ± 9*	130 ± 9**	0,56 ± 0,14	2,86 ± 0,74
Oxígeno 26 mg/kg	9	7,7 ± 1,7*	6,2 ± 1,8*	163 ± 12*	170 ± 18*	0,31 ± 0,11*	1,17 ± 0,41*

Se representa la media ± SD, para cada grupo experimental. * representa diferencias significativas para al menos $p < 0.05$.

Con respecto a los parametros indicadores del estrés oxidativo (SOD, CAT, SRATB) y marcadores de la inflamación (actividad tisular de Fosfolipasa A₂ (FLA₂), así como los niveles tisulares de Fructosamina se obtuvo lo siguiente: la actividad renal de SOD se observó deprimida en el grupo control positivo con respecto al grupo control sano. En cambio la actividad de esta enzima se incrementó en el grupo tratado con ozono con respecto a todos los grupos del estudio, de forma significativa. Comportamiento similar mostró la actividad renal de la CAT, reflejándose los valores más altos en el grupo ozono. El grupo oxígeno reflejó un comportamiento similar desde el punto de vista estadístico al control positivo. Con respecto a las SRATB, estas se incrementaron de forma significativa en los grupos control positivo, en el grupo tratado con ozono y el grupo tratado con oxígeno, con respecto al control sano, encontrándose los valores más altos estadísticamente en los grupos control positivo y grupo oxígeno. Con respecto a la FLA₂, tenemos que la actividad de esta enzima marcadora del daño a membrana, se incrementó en el grupo control positivo con respecto al grupo control sano. Sin embargo, mostró valores significativamente inferiores al control positivo en el grupo ozono; el grupo tratado con oxígeno reflejó comportamiento similar estadísticamente al control positivo. Referente a los niveles de Fructosamina, en el control positivo se encontró que estos fueron superiores con respecto al control sano. El grupo tratado con ozono mostró niveles de fructosamina similares al control sano sin diferencia significativa, o sea inferiores al control positivo y al grupo tratado con oxígeno (Tabla 2).

Tabla 2. Comportamiento de indicadores del estrés oxidativo (SOD, CAT, SRATB) y marcadores de la inflamación (FLA₂, niveles de Fructosamina) a nivel renal al finalizar el estudio en los diferentes grupos.

Grupos	N	SOD (U/g prot)	CAT (U/g prot)	SRATB (μ mol / g prot)	FLA ₂ (U/g proteínas)	Fructosamina (Δ D.O)
Control sano	10	178 ± 82	1973,8±107	0,137 ±0,04	23,4 ± 7,4	0,012±0,005
Control positivo	10	63,4 ± 19,5*	788,6± 79,8*	0,730 ±0,04*	204,84± 31*	0,037 ± 0,005*
Ozono 0,5mg/kg	8	595,5±77,7**	5872,5±26**	0,457±0,03**	47,73 ±8,7**	0,013 ± 0,002
Oxígeno 26mg/kg	9	71,2 ± 15,5*	698,7± 85,8*	0,717 ±0,04*	227±6,5*	0,039 ± 0,006*

Se representa la media ± SD, para cada grupo experimental. * significa diferencias significativas para al menos p<0,05.

En cuanto a los resultados histopatológicos, el control positivo reflejó lo descrito para este modelo de daño renal crónico por adriamicina, evidenciándose marcadores morfológico de daño renal, en cuanto a: 1-colapso glomerular, 2-adherencia del glomérulo a la cápsula de Bowman, 3-dilatación de los túbulos contorneados, 4-pérdida del borde en cepillo de los túbulos proximales, 5-dilatación tubular, interrupción y/o borramiento de las membranas basales tubulares. La dosis de 0,5 mg/kg fue la que desde el punto de vista anatomopatológico mostró un papel citoprotector, apareciendo en los cortes histológicos de los animales que recibieron esta dosis menor número de riñones con: adherencia del glomérulo a la cápsula de Bowman, pérdida del borde en cepillo de los túbulos proximales, interrupción y/o borramiento de las membranas basales tubulares (Tabla 3 y Figura 1). Es importante señalar que el grupo tratado con oxígeno a la dosis de 26 mg/kg no mostró ningún efecto protector sobre la arquitectura renal a nivel de la corteza renal.

Tabla 3. Resultados histológicos en los diferentes grupos al final del estudio (porcentaje de lesiones en tejido renal utilizando Microscopía Óptica y hematoxilina y eosina).

Grupos	CG (%)	AGCB (%)	DT (%)	PBC (%)	BMT (%)
Control negativo	0	0	25*	0	0
Control positivo	85*	74*	76	82*	44*
Ozono	48**	23**	51	36**	15**
Oxígeno	88*	78*	88**	77*	42*

CG: colapso glomerular, AGCB: adherencia del glomérulo a la cápsula de Bowman, DT: dilatación de los túbulos contorneados, PBC: pérdida del borde en cepillo, BMT: borramiento de las membranas tubulares. * significación estadística p< 0, 05.

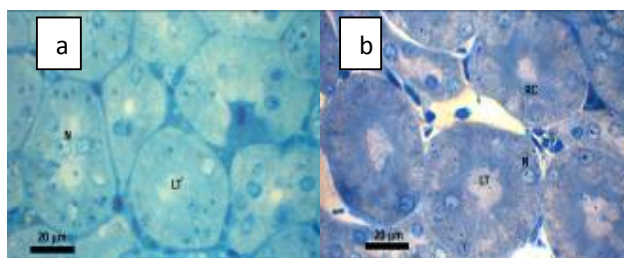


Fig. 1. Cortes semifinos de la corteza renal por Microscopía Óptica de Alta Resolución. A) Control positivo - Daño severo en las células de los túbulos proximales, pérdida del ribete en cepillo, dilatación tubular, extrusión nuclear de las células epiteliales y taponamiento de la luz tubular, B) Grupo Ozono (0,5 mg/kg) - Conservación del ribete en cepillo. Ribete en cepillo (RC), Núcleo celular (N), Luz tubular (LT).

DISCUSION

Actualmente los pacientes con glomerulonefritis de cualquier origen pueden en gran medida desarrollar fallo renal crónico,²⁰ a pesar de los diferentes esquemas de tratamiento bien actualizado,²¹ Es por eso que continúa la necesidad de buscar una herramienta terapéutica que ayude a la calidad de vida de estos pacientes. Los resultados de esta investigación reflejan que la ozonoterapia por vía rectal, a la dosis de 0,5 mg/kg ofrece protección en el orden funcional, bioquímico y estructural en riñones sometidos a daño crónico por adriamicina.

Se conoce que en la inflamación crónica del tejido renal se liberan interleucinas proinflamatorias (IL-1,TNF,IL-8,IL-6), las cuales promueven el deterioro de diferentes partes de la nefrona,²² afectando capilares peritubulares, barrera de filtración y epitelio tubular, lo que conlleva a un fallo de la nefrona como unidad estructural y funcional del riñón, apareciendo la proteinuria, la disregulación de la presión arterial y la caída del flujo plasmático renal y de la intensidad de filtración glomerular. En este trabajo la administración de la ozonoterapia por vía rectal, despues de instaurado el daño renal, atenuó el deterioro de la nefrona, reflejado este hecho en la disminución de la proteinuria, las cifras de PAS, el incremento de la I.F.G y del F.P.R. Diferentes autores han mostrado el papel del ozono como protector del riñón en el daño renal crónico y agudo.^{23,24} Pensamos que en este modelo, dicho papel protector se deba al efecto del ozono como estimulador del metabolismo del oxígeno, de mejora las propiedades reológicas de la sangre, de proteger el endotelio vascular mediado por la preservación del óxido nítrico.^{25,26,27}

En cuanto al comportamiento de indicadores del estres oxidativo, en este estudio la ozonoterapia fue capaz de estimular la actividad renal de enzimas antioxidantes como la SOD y la CAT.

La adriamicina es una antraquinona lipofílica que genera el radical libre anión superóxido, luego de haber sido reducida a semiquinona por el NADH_2 en la membrana mitocondrial. Los radicales liberados dañan componentes estructurales en la nefrona y crean de esta forma un severo estrés oxidativo en el tejido renal,²⁸⁻²⁹ Al ser estimuladas enzimas antioxidantes por la ozonoterapia se atenúa la acción de estos radicales libres frente a componentes de la nefrona, evitando el deterioro de la función y estructura renal. Las SRATB reflejan la peroxidación lipídica, la cual se encontró aumentada en el riñón lesionado sin tratamiento y en el riñón lesionado tratado con oxígeno, sin mostrarse ningun efecto citoprotector. El incremento de las SRATB a nivel renal, en los animales tratados con ozono, se deba a su propio mecanismo de acción basado en la creación de un pequeño y controlado estres oxidativo el cual activa

mecanismos antioxidantes endógenos, mediando de esta forma la protección del órgano frente al estrés oxidativo.³⁰

El efecto de la ozonoterapia en la disminución de la actividad tisular de la FLA₂ es relevante. Otros autores han empleado inhibidores de esta enzima para atenuar el daño renal,³¹, por lo que en nuestro estudio, la disminución de la actividad de dicha enzima, contribuya también a la preservación de la integridad de las membranas, tanto a nivel del glomérulo como del túbulo renal.

La fructosamina es un producto avanzado de la glicosilación de proteínas (PAG), la cual se va depositando en las paredes de los vasos sanguíneos afectando lipoproteínas, factores de la coagulación y la actividad de algunas enzimas, así como incrementa los mecanismos productores de interleucinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF α).³² El papel de la ozonoterapia reduciendo, a nivel del tejido renal lesionado, los niveles de PAG, es sin duda un efecto que contribuye a la preservación de la función y estructura renal sometida a daño crónico.

El comportamiento de los marcadores del daño histológico en el grupo ozono, se correlaciona con el comportamiento de las variables de función renal y los parámetros bioquímicos medidos en dicho grupo. El efecto del ozono como estimulador de la defensa antioxidante endógena en el tejido renal lesionado,³³ su papel en la preservación de la membrana celular (efecto mediado en gran medida por la disminución de la actividad tisular de FLA₂), así como la estabilización de los niveles de PAG en tejido renal, nos explique entre otros aspectos, el comportamiento anatomopatológico en los riñones de animales tratados con ozono (menor porcentaje de colapso glomerular, de adherencias del glomérulo a la cápsula de Bowman y una disminución de la presencia de pérdida de ribete en cepillo a nivel de células tubulares).

Se concluye que la ozonoterapia por vía rectal a la dosis de 0,5 mg/kg ejerció un efecto terapéutico sobre la morfofunción renal en ratas sometidas a glomerulonefritis experimental por adriamicina. El oxígeno por vía rectal no ejerció ningún efecto protector sobre la morfofunción renal bajo nuestras condiciones experimentales.

Se recomienda estudiar el comportamiento de otros indicadores del estrés oxidativo en ratas sometidas a glomerulonefritis por adriamicina y tratadas con ozono; así como el estudio de algunas citocinas proinflamatorias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Daugherty TM, Ueki IF, Mercer PFF, Brenner BM. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. V. Response to ischemic injury. *J Clin Invest* 1974;53:105-16.
2. Bonventre JV. Mediators of ischemic renal injury. *Annu Rev Med* 1998;39:531-44.
3. Jones DB. Ultrastructure of human acute renal failure. *Lab Invest* 1988;46:254-64.
4. Evelson P, Travacio M, Repetto M, Escobar J, Lesuy S, Lissi E. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. *Arch Biochem Biophys* 2001;388:261-266.
5. McCord JM, Fridovich I. The biology and pathology of oxygen radicals. *Ann Intern Med* 1998;89:122-7.
6. Davies KJA, Lin SW, Pacific RE. Protein damage and degradation by oxygen radicals. IV. Degradation of denatured proteins. *J Biol Chem* 1987;262:991-4.
7. Bird JE, Millhoan K, Wilson CB, Young SG, Mundy CA, Parthasarathy S, Blantz RCL. Ischemic acute renal failure and antioxidant therapy in the rat. The relation between glomerular and tubular dysfunction. *J Clin Invest* 1998;81:1630-8.
8. Toshimasa Y, Bills T, Ichikawa I. Role of intrinsic antioxidant enzymes in renal oxidant injury. *Kidney Int* 1990;38:282-8.
9. Johnson RJ, Couser WG, Chi EY, Adler S, Klebanoff SJ. New mechanism for glomerular injury. Myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system. *J Clin Invest* 1987;79:1379-87.

10. Rodríguez Puyol D, Lucio J, Ruiz P, López Ongil S, Iglesias MC, Ruiz Ginés JA, Torrecilla G y Rodríguez Puyol M. Radicales libres y daño glomerular. *Nefrología* 1996;XVI (S3):29-34.
11. León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Med Inflamm* 1998;7:289-94.
12. Barber E, Menéndez S, Calunga JL. Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischaemia. *Mediators of Inflammation* 1999;8:37-41.
13. Hecht K. Papel del hipocampo en la neurosis experimental. Disregulación neurótica de la presión sanguínea. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1979. p. 46-50.
14. Bratton AC, Marshall EK. A new coupling component for sulfanilamide determination. *J Biol Chem* 1939;128:537-44.
15. Minami M, Yoshikawa H. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clin Chim Acta* 1979;92:337.
16. Rice EC, Diplock AT. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. In: Burtin RH, Knippenberg PH, editors. *Techniques in free radical research*. Amsterdam:Elsevier;1991. p. 199-201.
17. Ohkawa H, Orichi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation animal and tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8.
18. Thome J, Munch G, MillJcr R. Advanced glycation end products-associated parameters in the peripheral TAU blood of patients with Alzheimer's disease. *LJ/t Sd* 1996;59:679-85.
19. Raduany F, Lobo de Araujo A. Determination of Phospholipase A₂ activity by colorimetric assay using pH indicator. *Toxicol* 1987;25(11):1181-8.
20. Brenner BM. *The Kidney*. EU. Ed WE Saunders Company, 6^{ta} Ed T1; 2000. p.1201-15.
21. Bovenre JV, Weinberg J. Recent Advances in the pathophysiology of Ischemic Acute Renal Failure. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2199-2210.
22. Doberenz DT. Prevención y Manejo del Fallo Renal Agudo en Cuidados Críticos, Emergencias, Riñón, Sangre y Hemoderivados. Curso de Formación Continuada en Anestesiología, Reanimación y Terapéutica del Dolor, de la Fundación Europea de Enseñanza en Anestesiología. Editado por Ramón Peyró García, *Comp Hosp. Univ de Albacete, España*; 2005. p. 119-154.
23. Barber E, Menéndez S, León OS, Barber MO, Merino N, Calunga JL, Cruz E, Bocci V. Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischaemia. *Mediat Inflamm* 1999;8:37-41.
24. Berté F, Vairetti M, Richelmi P. Ozono: Problemi tossicologici con particolare riguardo alla formazione di radicali liberi. *Cong. Naz. Soc. Ossigeno-Ozono Terapia, Punta Ala (Gr)*; 1990. p 1-6.
25. Borrego A, Zamora ZB, González R, Romay Ch, Menéndez S, Hernández F, Montero T, Rojas E. Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Mediat Inflamm* 2004;13(1):13-19.
26. Calunga JL, Bello M, Chaple M, Barber E, Menéndez S, Merino N. Ozonoterapia en la glomerulonefritis tóxica experimental por adriamicina. *Rev Cub Invest Biomed* 2004;23(3):139-43.
27. Candelario-Jalil E, Mohammed-Al-Dalain S, Fernández OS, Menéndez S, Pérez-Davison G, Merino N, Sam S, Ajamieh HH. Oxidative preconditioning affords protection against carbon tetrachloride-induced glycogen depletion and oxidative stress in rats. *J Appl Toxicol* 2001;21:297-301.
28. Cuttle L, Zhang XY, Endre Z, Winterford C, Gobé G. Bcl-X1 translocation in renal tubular epithelial cells *in vitro* protects distal cells from oxidative stress. *Kidney Int* 2001;59:1779-84.

29. Dale A, Dickinson, Rui-Miang L, Karen EI, Henry JF. Signalling for the synthesis of glutathione. In: *Free Radical in Chem Biol and Med* 2000;33:67-74.
30. Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res* 2006;37:425-35.
31. León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Med Inflamm* 1998;7:289-94.
32. Witko-Sarsat, V; Friedlander, M; Nguyen-Khoa, T; Capellère-Bladin, C; Nguyen,A; Canteloup, S; Dayer, J M; Yungers, P; Diueke, T; Descamps-Latscha, B. Advanced oxidation protein products as novel mediators of Inflammation and monocytes activation in chronic renal failure. *J Immunol* 1998;161:2524-32.
33. Hui Chen et al (). Ozone oxidative preconditioning inhibits inflammation and apoptosis in a rat model of renal ischemia/reperfusion injury. *Eur J Pharmacol* 2008;581:306-14.