

Instituto de Angiología y Cirugía Vascular

## **EFFECTO DEL OZONO SOBRE LA ACTIVACIÓN PLAQUETARIA EN PACIENTES CON ENFERMEDADES VASCULARES PERIFÉRICAS: INFORME PRELIMINAR**

*Dr. Arquímedes Díaz Batista, Dra. Milagros García Mesa, Dra. Carmen Piña Manresa y Dra. Silvia Menéndez Cepero*

### **RESUMEN**

Se verificó en los pacientes con diagnóstico de insuficiencia venosa crónica, con úlceras en miembros inferiores y con isquemia arterial subaguda, a los que se le indicó ozonoterapia por 10 a 20 d, la existencia o no de inhibición de la agregación plaquetaria. La agregación plaquetaria en el plasma rico en plaquetas (200  $\mu$ L) fue inducida por la adición de concentraciones crecientes de epinefrina (10<sup>-8</sup> a 10<sup>-5</sup> mol/L) en el medio de incubación y determinada según el método turbidimétrico de Born. La agregación plaquetaria encontrada al inicio del tratamiento con ozono tuvo una media de 38,19 % y un rango de 66,25 a 12,5 %; mientras que al final del tratamiento disminuyó hasta una media de 14,37 % y un rango de 28,75 a 6,25 %. Se observó una disminución del porcentaje de agregación plaquetaria al final del tratamiento con ozono, con respecto a los valores iniciales.

*Descriptor DeCS:* ENFERMEDADES VASCULARES PERIFÉRICAS/quimioterapia; OZONO/ uso terapéutico; ÚLCERA VARICOSA/quimioterapia; INSUFICIENCIA VENOSA/quimioterapia; AGREGACIÓN PLAQUETARIA/efectos de drogas.

El ozono es una variedad alotrópica del oxígeno, cuya existencia fue reportada en 1785 por el químico holandés M. Van Marum y no fue hasta 1840 en que el químico alemán C.F. Schönbein lo sintetiza e identifica por primera vez como ozono. Este posee un poder oxigenante mayor que el oxígeno, y su reacción con los compuestos orgánicos es mucho más selectiva.<sup>1</sup> Es así como reacciona con los ácidos grasos insaturados de la capa fosfolipídica presente en la membrana de los eritrocitos, para dar lugar a una serie de peróxidos orgánicos de cadena corta, peróxido de hidrógeno,

aldehídos y ozónidos. Estos compuestos o principios activos desempeñan varias funciones en el organismo<sup>2</sup> mediante la estimulación de varios sistemas enzimáticos de óxido reducción.

En el Instituto de Angiología y Cirugía Vascular, en colaboración con el Centro de Investigaciones del Ozono, se han realizado varios estudios con la aplicación de la ozonoterapia a pacientes con úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica<sup>3</sup> y en casos con claudicación intermitente de evolución desfavorable.<sup>4</sup> En la primera patología se

observó una reducción ostensible de la estadía de los pacientes con úlceras de miembros inferiores, junto con una mejoría clínica de las lesiones ulcerosas en cortos períodos de tiempo; mientras que en la segunda patología 73 % de los enfermos tratados con ozono mejoraron la distancia de claudicación, por lo que se sugirió que se introduzca este tratamiento como alternativa o coadyuvante terapéutico en la claudicación intermitente de los miembros inferiores.

En 1997, *Matsuno* y otros (*Matsuno K, Miura T, Shinviki N*. The effect of ozone on platelet activation [Poster Session 11-9] The 13th Ozone World Congress. Kyoto, Japan 1997) encontraron que en el plasma rico en plaquetas (PRP) y en la suspensión de plaquetas lavadas tratadas con ozono, se observó una inhibición de la agregación plaquetaria inducida en el primer caso con ADP y colágeno y en el segundo con colágeno y trombina. Según los autores, el ozono inhibió un aumento de la concentración de calcio inducida por el colágeno y la trombina, por lo que parece que inhibe la señal de transducción entre el inductor y la activación plaquetaria.

El objetivo de este trabajo fue verificar en los pacientes del Instituto de Angiología, a los que se le indicó ozonoterapia, la existencia o no de inhibición de la agregación plaquetaria.

## MÉTODOS

*Pacientes:* Participaron en el estudio 9 sujetos de los dos sexos, de 49 a 81 años de edad, con diagnóstico de insuficiencia venosa crónica, con úlceras en miembros inferiores y con isquemia arterial subaguda; que negaron haber consumido en un período previo de al menos 1 mes, medicamentos antiagregantes plaquetarios (aspirina, dipyridamol, policosanol, ticlopidina).

*Tratamiento:* Consistió en la administración por vía rectal de 200 mL de ozono a la concentración de 50 a 80 mg/L durante 1 a 2 min,<sup>5</sup> combinado en algunos casos de la aplicación de bolsas plásticas que contienen ozono a la concentración de 80 mg/L, y la lesión queda en contacto directo con el gas durante 2 h como máximo.<sup>3</sup> Las sesiones fueron una vez al día durante 10 a 20 d.

*Estudios de laboratorio:* Después de 12 a 14 h de ayuno se obtuvieron muestras de sangre (9 volúmenes) que fueron recogidas en tubos plásticos que contenían citrato de sodio 3,8 % (1 volumen), centrifugada a 1 500 rpm durante 5 min para obtener el plasma rico en plaquetas (PRP). El remanente fue centrifugado a 3 500 rpm para obtener el plasma pobre en plaquetas (PPP). La concentración de plaquetas en el PRP fue ajustada entre 200 y 250 x 10<sup>9</sup>/L con PPP.

La agregación plaquetaria en PRP (200 µL) fue inducida por la adición de concentraciones crecientes de epinefrina (10<sup>-8</sup> a 10<sup>-5</sup> mol/L) en el medio de incubación y determinada según el método turbidimétrico de Born.<sup>6</sup>

## RESULTADOS

La agregación plaquetaria encontrada al inicio del tratamiento con ozono tuvo una media de 38,19 % y un rango de 66,25 a 12,5 %; mientras que al final del tratamiento disminuyó hasta una media de 14,37 % y un rango de 28,75 a 6,25 %.

## DISCUSIÓN

Como puede observarse, el porcentaje de agregación plaquetaria disminuyó en el estudio final, esto denota la presencia de una inhibición de la agregación plaquetaria

después de la ozonoterapia. Este resultado concuerda con los obtenidos por *Matsuno* y otros en experiencias *in vitro* (*Matsuno K, Miura T, Shinviki N. The effect of ozone on platelet activation [Poster Session 11-9] The 13th Ozone World Congress. Kyoto, Japan 1997*) y *Maslennikov* y otros<sup>7</sup> en un estudio en pacientes con aterosclerosis de diferentes vasos. En ambos estudios se encontró una reducción del porcentaje de agregación plaquetaria por un mecanismo bioquímico no identificado, aunque se ha sugerido una inhibición por parte del ozono, de la transducción de la señal de agregación plaquetaria.

Estos resultados demuestran la consistencia del efecto del ozono sobre la agregación plaquetaria, que puede ser uno de los mecanismos de sus acciones terapéuticas

conocidas. Esto sugiere la utilidad de realizar otros estudios, que permitan profundizar en el conocimiento de la influencia del tratamiento con ozono, sobre los componentes del mecanismo hemostático y su asociación con la efectividad de esta terapéutica en el tratamiento de las enfermedades vasculares.

No se estudiaron los parámetros mediadores del estrés oxidativo, pues en este estudio preliminar se buscaba comprobar si ocurría o no la inhibición del porcentaje de agregación plaquetaria, después del tratamiento con ozono, en pacientes con las patologías mencionadas.

Se observó una disminución del porcentaje de agregación plaquetaria al final del tratamiento con ozono, con respecto a los valores iniciales.

## SUMMARY

We verified whether there is platelet aggregation or not in patients diagnosed with chronic venous insufficiency; lower limb ulcers and subacute arterial ischemia, who were on a 10-20 d ozone treatment. Platelet aggregation in platelet-rich plasma (200  $\mu$ L) was induced by adding increasing concentrations of epinephrine (10<sup>-8</sup> to 10<sup>-5</sup> mol/L) in the incubation medium and determined by Born's turbidimetric method. Platelet aggregation found at the onset of the ozone therapy showed a mean of 38,19 % and a range of 66,25 to 12,5 % whereas at the end of the treatment it was reduced to a mean of 14,37 % and a range from 28,75 to 6, 25 %. It was observed that platelet aggregation percentage at the end of treatment decreased as compared with the initial values.

*Subject headings:* PERIPHERAL VASCULAR DISEASES/drug therapy; OZONE/ therapeutic use; VARICOSE ULCER/ drug therapy; PLATELET AGGREGATION/drug effects; VENOUS INSUFICIENCY/drug therapy.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rilling SH. The possibilities of medical ozone application in light of the historical development of ozone therapy. *Ozo Nachrichten* 1983;2:26.
2. Leon OS, Menéndez S, Merino N. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm* 1998;7:4.
3. Quiñones M, Menéndez S. Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica. *Rev CENIC Cienc Biol* 1989;20(1-3):76-80.
4. Romero A, Menéndez S. La ozonoterapia en la aterosclerosis ocliterante. *Rev CENIC Cienc Biol* 1989;20(1-3):70-6.
5. Velazco N, Menéndez S. Valor de la ozonoterapia en el tratamiento del pie diabético neuroinfeccioso. *Rev CENIC Cienc Biol* 1989;20(1-3):64-70.
6. Born GVR, Cross MJ. The aggregation of blood platelets. *J Physiol* 1963;168:178-83.
7. Maslennikov OV, Sharov IG, Potekhina IP. Effect of ozone therapy on hemostatic changes in patients with vascular atherosclerosis. *Klin Med Mosk* 1997;75:35-7.

Recibido: 10 de febrero del 2000. Aprobado: 18 de mayo del 2000.

Dr. *Arquímides Díaz Batista*. Instituto de Angiología y Cirugía Vascular. Calzada del Cerro No. 1551. Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba.