Revista CENIC Clenclas Bioló'gicas, 20, 1-2-3, 1989

EFECTO DEL OZONO SOBRE LOS METABOLITOS DEL ACIDO ARAQUIDONICO EN PULMON AISLADO DE CURIEL

!'1. de L. Arruzazabala, I'l. Noa, **S.** */'lenéndez* **y** *'1. Gómez*

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS

RESUMEN. El ozono posee un poderoso efecto oxidante y puede reaccionar con cualquier clase de sustancia biológica. El objetivo de este estudio ha sido examinar el efecto del ozono sobre el metabolismo del ácido araquidónico en pulmones aislados y perfundidos de curiel. El ozono (50 mL; 3 mg) inyectado en arteria pulmonar produce un efluente que induce contracción de la aorta y el estómago de rata, sugiriendo que el ozono es capaz de liberar tromboxanos (TxA2) y prostaglandinas (Pgs). Microscópicamente los pulmones tratados con ozono presentaron una gran ruptura de los alvéolos. Sin embargo, en los pulmones tratados con vitamina C el ozono no fue capaz de contraer los tejidos de bioensayo y a su vez presentaron pequeños daños histológicos. El oxígeno puro (50 mL) no provocó ningún efecto.

INTRODUCCION

La exposición al ozono (03), induce un incremento en la respuesta broncoconstrictora de la histamina y el carbacol, tanto en animales como en el hombre. La mayor hiperreactividad en el hombre se observa inmediatamente después de la exposición,[1-2] al igual que en el perro.[3] Sin embargo, el mecanismo responsable de esta hiperreactividad aún no es conocido.

El ozono presenta un poderoso efecto oxidante y puede reaccionar prácticamente con cualquier tipo de sustancia biológica.

El objetivo de este estudio ha sido observar el efecto del ozono sobre los metabolitos del ácido araquidónico en pulmón perfundido de curie!.

MATERIALES Y METODOS

Preparación de pulmones aislados y tejidos

Curieles machos (250 a 400 g de peso) fueron anestesiados con pentobarbital (60 mg/kg). Después de abierto el tórax, la arteria pulmonar fue canulada e inyectada con solución Krebs heparinizada. La tráquea fue canulada y los

pulmones extraídos y perfundidos por la arteria pulmonar con solución Krebs a 37 °e a un flujo de 5 mL/min . El efluente pulmonar fue usado para superfundir una serie de tejidos de bioensayo en cascada.[6] La respuesta de los tejidos fue detectada utilizando un transductor uerza-desplazamiento conectado a un polígrafo Nihon-Kohden.

Fueron empleados los tejidos de bioensayo: aorta de rata (AR) y tiras de de estómago de rata (ER).

La selectividad de los tejidos de bioensayo fue incrementada añadiendo una mezcla de antagonistas: mepiramina lµM, atropina 1,5µM, fenoxibenzamina 0,3uM, propanolol 7 µM, metisergide 0,3 **µM,** junto con indometacina (5,6 µM) para evitar la síntesis endógena de prostaglandinas por los tejidos de bioensayo.[7]

El ácido araquidónico (AA) fue inyectado vía arteria pulmonar para evaluar la reactividad de los pulmones y los tejidos de bioensayo. Después de 30 min el ozono (50 mL, 70 ppm, 3 mg) fue inyectado de la misma manera durante 1 min. En algunos experimentos, oxígeno puro (02)fue inyectado en los pulmones de igual forma que el 03, de manera de obtener el grupo control. En otro grupo, l a vi tamina C (200 mg/mL/min) fue infundido 15 mi n antes y durante la in-**yecc i ón de ozono.**

Procedimiento histológico

Los pulmones fueron fijados en formalina (10 %) dehidratada y embebidos en **paraf ina. Se cortaron secciones y se tiñeron con hemat oxi l ina y eosina.**

RESULTADOS Y DISCUSION

La infusión de AA exógeno en pulmones aislados de curiel promueven la liberación de tromboxano A2,[6] prostaciclina, y prostaglandina E2 Por lo tanto, la contracción de la aorta de rata inducida por inyección de AA a través de los pulmones puede ser debida a la liberación de TxA2 y la contracción del estómago de rata debe ser debida a la liberación de pros•aglandinas (Tabla I).

TABLA ▮

Efecto del ozono y oxígeno *sobre la liberación de mediadores (prostaglandinas* y *tromboxanos) en pulmón aislado de curiel*

	AA	02
Aorta de rata	14,8 ± 2, 5	NC
Estómago de rata	29,3 ± 3,2	NC
TxB2		0,7 ± 0,2
	AA	03
Aorta de rata	10, 3 ± 2,8	20,2 ± 3, 1*
Estómago de rata	29,5 ± 3,3	23,2 ± 2,9*
TxB2		>3
	AA	Vit C + 03
Aorta de rata	14,2 ± 2,7	NC
Estómago de rata	16,8 ± 3,4	NC
TxB2		0,52 ± 0,3

NC no **cont iene**

Sin embargo, estas contracciones fueron abolidas cuando los pulmones fueron perfundidos con vitamina C (200 µg/mL min), 15 min antes y durante la inyección de ozono.

El oxígeno puro, inyectado a través de los pulmones no fue capaz de inducir ningún efecto (Tabla 1).

Microscópicamente, los pulmones tratados con ozono presentaron gran ruptura de los alvéolos pulmonares. En contraste, muy poco daño fue observado en los pulmones tratados con vitamina C.

DISCUSION

El resultado de este estudio evidencia que el ozono inyectado en pulmones de curiel es capaz de liberar TxA2 y Pgs. Este efecto es abolido por la vitamina C.

Uno de los mecanismos más importantes de la toxicidad inducida por la inhalación de oxidantes, como el ozono, involucra peroxidación de lípidos insaturados en membranas celulares º Se piensa qu& como consecuencia de la peroxidación lipídica se produzca la ruptura oxidativa de las membranas. Se ha demostrado que niveles mayores de 1 ppm de ozono incrementan la permeabilidad epitelial de las vías aéreas.

La hiperreactividad de las vías aéreas puede ser explicada en parte, por una mayor cantidad del agente broncoconstrictor que alcanza el músculo liso de vías aéreas debido a la ruptura oxidativa de la membrana.[11,12]

Otra explicación es que la peroxidación lipídica puede inducir la producción de peróxidos biológicamente activos, compuestos carbonilicos y radicales libres.

Los resultados de este trabajo sugieren que la liberación de TxA2 y Pgs también participan en este proceso patológico.

El hecho que la vitamina C inhiba completamente la liberación de TxA2 y Pgs apoya esta hipótesis.

En estos pulmones fue encontrado un severo daño pulmonar. Es conocido que el ozono provoca efectos adversos en pulmones de animales a concentraciones tan bajas como 0,5 ppm y 2 h de exposición.[13]

Nosotros hemos encontrado una gran ruptura de alvéolos en un periodo sumamente corto (min), pero debe ser considerado que la concentración de ozono empleada en este experimento fue muy alta (70 ppm) y éste fue inyectado por la arteria pulmonar. Las alteraciones morfológicas fueron mucho menos intensa cuando la vitamina C fue administrada.

Estos resultados concuerdan con las hipótesis de la hiperreactividad bronquial inducida por ozono, anteriormente señaladas.

BIBLIOGRAFIA

1. *Golden J.A., Nadel J.A. and Boushey H.A.* Amer. Rev. Respir. Dis., 118, 387, 1978.

2. *Holtzman N.J., Cunnigham J.H., Sheller J.R., Orsigler G.B., Nadel J.A. and Boushey H.A.* Amer. Rev. Respir. Dis., 120, 1059, 1979.
3. *Lee L.Y., Bleecker E.R. and Nadel J.A.* J. Appl. Physiol., 43, 626, 1977.
4. *Abraham W.N., Januszkiewicz A.J., Ningle N., Welker N., Wanner A., and Sackner N.A.* J. Appl. Physiol., 48, 789, 1980.
5. *Piper P.J. and Vane J.R.* Nature (London) 223, 29, 1969.
6. *Vane J.R.* Br. J. Pharmacol., 23, 360, 1964.
7. *Eckenfels A. and Vane J.R.* Br. J. Pharmacol., 45, 451, 1972.
8. *Hamberg N., Svensson J. and Samuelsson B.* Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 72, 2994, 1985.
9. *Bakhle Y.S., Naneada S., De Nucci G. and Salman J.A.Br.* J. Pharmacol., 86, 55, 1985.
10. *Henzel D.B.* Annu. Rev. Pharmacol., 36, 82, 1970.
11. *Boushey H.A., Haltzman N.J., Sheller R. and Nadel J.A.* Amer. Rev. Respir. Dis., 121, 389, 1980.
12. *Hogg J.C.* J. Allergy Clin. Immunol., 67, 421, 1981.
13. *Narx J.* Sciences, 235, 1987.