

GSH Y OZONOTERAPIA POTENCIALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO



GSH

El glutati3n (GSH) es una mol3cula 3nica que participa en aspectos esenciales de la homeostasis celular, teniendo un rol central en la defensa contra el da3o oxidativo. El GSH (L-g-glutamyl-L-cisteinyl-glicina) es un trip3ptido hidrosoluble formado por los amino3cidos 3cido glut3mico, ciste3na y glicina que se encuentra presente en el citoplasma de todas las c3lulas. La forma oxidada de la mol3cula, GSSG, se encuentra principalmente en forma extracelular.

Las concentraciones de GSH y GSSG y su relaci3n molar son indicadores de la funcionalidad celular y su alteraci3n est3 relacionada con la mayor3a de los procesos patol3gicos.

La s3ntesis de GSH se produce en el citosol de todas las c3lulas a partir de sus amino3cidos precursores: glicina-ciste3na y 3cido glut3mico. La s3ntesis se produce por la acci3n consecutiva de dos enzimas: glutamato ciste3na ligasa y glutati3n sintetasa. Fig. 1

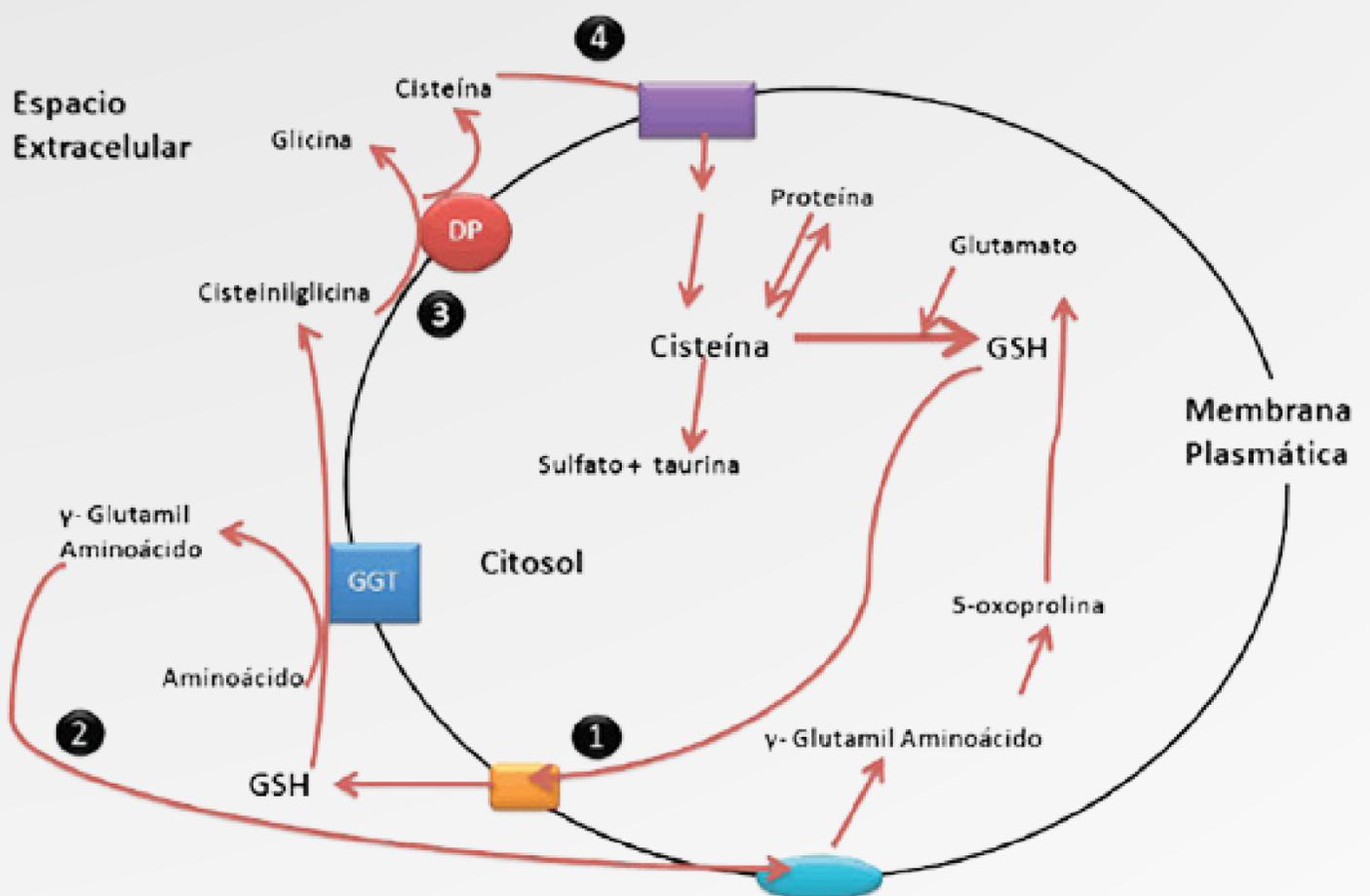


Fig. 1

La s3ntesis de GSH s3lo ocurre en el citoplasma, sin embargo en las c3lulas eucariotas el GSH se encuentra en casi todos los compartimentos celulares incluyendo al n3cleo (18). El transporte entre los diferentes compartimentos celulares es fundamental para la regulaci3n de la proliferaci3n celular.

La concentración de GSH en el compartimento mitocondrial es más importante para la supervivencia celular que el GSH que se encuentra en el citosol.

Las mitocondrias no poseen enzimas que permiten la síntesis de GSH, por esta razón, todo el GSH que se encuentra en el compartimento mitocondrial proviene del citosol. Existe un sistema de transporte que permite el pasaje de GSH desde el citosol hacia la mitocondria. A pH neutro el GSH se encuentra como una molécula aniónica cargada negativamente.

Bajo estas condiciones, puede atravesar libremente la membrana mitocondrial externa, en tanto que en la membrana mitocondrial interna el pasaje del tripéptido se produce a través de dos transportadores de aniones. Fig.2

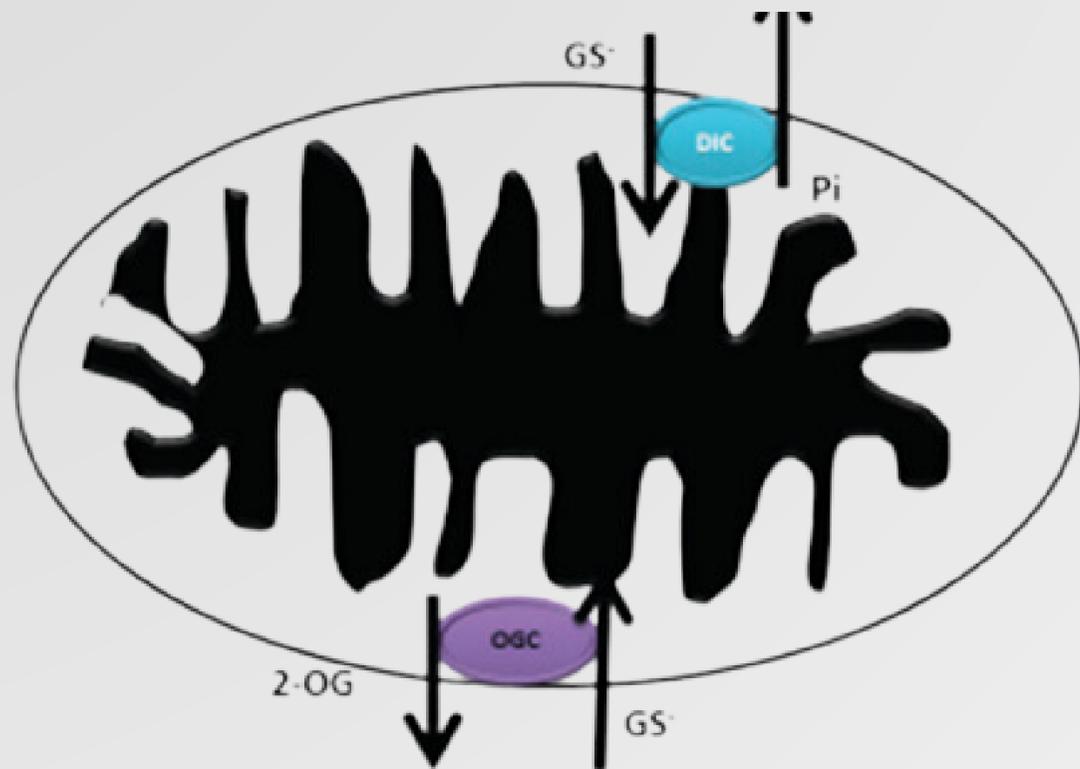


Fig. 2

Transporte mitocondrial de GSH. El GS atraviesa libremente la membrana externa mitocondrial. El pasaje de GSH desde la membrana mitocondrial interna hacia la matriz se realiza mediante dos transportadores de aniones el transportador Dicarboxilato (DIC) que intercambia fosfato inorgánico (Pi) por GSH y el transportador 2-oxoglutarato (OGC) que intercambia 2-oxoglutarato (2-OG) pr GSH.

Funciones Biológicas:

El GSH es una molécula multifuncional que tiene una participación clave en varios procesos celulares, siendo fundamental para la supervivencia celular.

Detoxificación de xenobióticos

La función más importante del GSH es la detoxificación de xenobióticos y sus metabolitos. El tripéptido tiene un rol importante en la detoxificación de una gran variedad de compuestos, conjugándose con estos para luego ser excretados por orina o heces.

Mantenimiento del balance redox:

El GSH es el mayor determinante del potencial redox intracelular. Tanto la concentración de GSH como la relación molar GSH/GSSG contribuyen a mantener el balance redox dentro de la célula

Función antioxidante:

Las células están sujetas a niveles fisiológicos de estrés oxidativo derivado de la respiración mitocondrial. Los intermediarios formados tales como el anión superóxido(O₂⁻) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) pueden llevar a la formación de formas tóxicas del oxígeno que causan peroxidación lipídica y daño celular.

El peróxido de hidrógeno formado durante el metabolismo aeróbico es metabolizado formando GSSG. El GSSG luego es reducido para formar nuevamente GSH por acción de la enzima GSH reductasa usando NADPH, formando así un ciclo de óxido-reducción. Fig.3

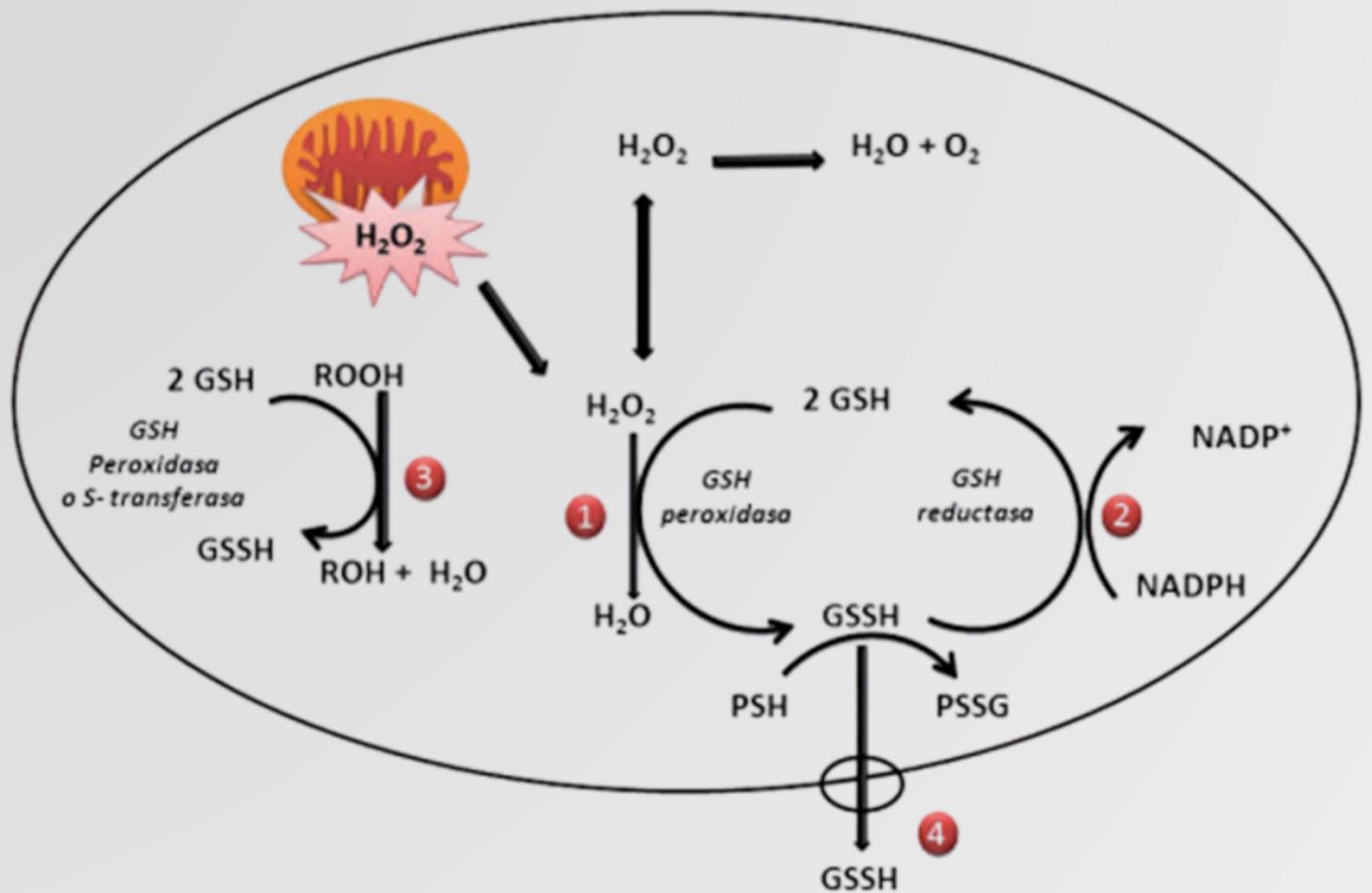


Fig. 3 Función antioxidante del GSH. El peróxido de hidrógeno H_2O_2 , formado por el metabolismo aeróbico es metabolizado por la enzima *GSH peroxidasa* formando $GSSH$, la cual es reducida por la enzima *GSH reductasa* utilizando $NADPH$ como cofactor. Los peróxidos orgánicos formados pueden ser reducidos por *GSH peroxidasa*. El $GSSH$ formado durante el estrés oxidativo que no puede ser reducido a GSH es exportado a la célula para mantener el equilibrio redox.

Transporte y almacenamiento de cisteína:

El almacenamiento de cisteína es otra de las funciones del GSH. El aminoácido cisteína es altamente inestable en el espacio extracelular sufriendo una rápida auto-oxidación a cistina. Este proceso produce radicales libres potencialmente tóxicos. El ciclo g-glutamil hace del GSH una continua fuente de cisteína para las células.

Regulación del crecimiento y la muerte celular:

Para que la célula entre en la fase de síntesis del ADN durante del ciclo celular se requieren niveles altos de GSH que modula la síntesis de ADN manteniendo reducida a la tioredoxina la cual es necesaria para la actividad de la enzima ribonucleótido reductasa.

El GSH también está implicado en la modulación de la muerte celular, tanto en el proceso de necrosis como en el proceso de apoptosis. Los niveles de GSH disminuidos juegan un importante rol en la iniciación del proceso de apoptosis y la disminución drástica de los niveles de GSH especialmente a nivel mitocondrial, llevan a la disfunción mitocondrial y sobreviene la muerte celular.

Principales Acciones

El glutatión tiene un rol central en la protección contra el estrés oxidativo y la detoxificación tanto de endobióticos potencialmente dañinos como de xenobióticos siendo esencial para el mantenimiento de la homeostasis celular. Por lo tanto la disponibilidad de glutatión, especialmente de la forma reducida (GSH), puede ser un factor clave para el mantenimiento de la salud.

La disminución de GSH está asociada con el envejecimiento y con la patogénesis de varias enfermedades en el humano, entre ellas la enfermedad de Parkinson, formación de cataratas, diabetes, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntigton, artritis reumatoidea, síndrome de inmunodeficiencia adquirida, enfermedad hepática crónica por alcohol, síndrome de estrés respiratorio y distrofia muscular.



ASCORBATO DE SODIO VITAMINA C

La vitamina C (ácido ascórbico) es un carbohidrato simple de bajo peso molecular con una estructura eno-diol que la ha convertido en un donador de electrones soluble en agua esencial y omnipresente en la naturaleza.

En todas sus funciones biológicas conocidas, la vitamina C actúa como reductor, es decir, dona un electrón a un sustrato mientras se oxida a un radical ascorbilo, un radical libre relativamente estable.

La función biológica de la vitamina C está relacionada con su forma reducida, el ascorbato, y puede separarse en funciones enzimáticas y no enzimáticas. La función enzimática más conocida de la vitamina C es probablemente la de cofactor de las dioxigenasas dependientes del óxido ferroso [Fe(II)] y del 2-oxoglutarato en la síntesis de colágeno. El ascorbato también actúa como donante de electrones para varias enzimas que catalizan la biosíntesis de carnitina y noradrenalina, la amidación de la hormona peptídica y el metabolismo de la tirosina. La hidroxilación mediada por ascorbato del factor inducible por hipoxia (HIF-1 α) regula la transcripción de varios genes que codifican proteínas implicadas en la homeostasis del hierro, la angiogénesis y la proliferación celular.

Más recientemente, varios estudios han demostrado que la vitamina C desempeña un papel importante en la función vascular. El ascorbato modula la vasodilatación al aumentar la síntesis o biodisponibilidad de NO.

Otras acciones de la vitamina C en la función vascular incluyen la modulación de la barrera de células endoteliales y la regulación de la actividad de las oxidasas NADPH (NOX) involucradas en la respuesta génica inflamatoria.

El ascorbato es un poderoso antioxidante con la capacidad de reducir o eliminar muchos radicales libres y especies reactivas de oxígeno productoras de estrés oxidativo. Además, la vitamina C puede regenerar la vitamina E (α -tocoferol) a partir de su forma oxidada (radical α -tocoferoxilo), lo que permite que la vitamina C inhiba indirectamente la peroxidación lipídica. El ascorbato también puede reducir los radicales urato y glutatión como parte de la red antioxidante en las células y los fluidos extracelulares.

Ozonoterapia

La ozonoterapia es un tratamiento biológico y farmacológico enmarcado dentro de los agentes antioxidantes, que a dosis terapéuticas se utiliza como adyuvante en el tratamiento de enfermedades (Bedela, EEUU, Oficina de medicina Alternativa del Instituto Nacional de Salud).

Los efectos terapéuticos inducidos por la ozonoterapia se deben a un controlado y moderado estrés oxidativo producido por la reacción del ozono con componentes biológicos que desencadenan una serie de reacciones químicas. En modelos animales y en pacientes, un exceso de estrés oxidativo lleva a la activación del factor nuclear κ B (NF- κ B) el cual produce una respuesta inflamatoria con producción de ciclooxigenasa (COX2), prostaglandina E2 (PGE2) y citosinas proinflamatorias; pero la producción de un moderado estrés oxidativo por el ozono (O3) activa el factor transcripcional nuclear (Nrf2) que induce a la respuesta antioxidante mediante enzimas como la superoxidodismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión sintetasa (GST), hemo-oxigenasa 1 (HO-1), NAD fosfato reducido (NADPH), proteína de shock térmico (HSP), que actúan no sólo en la fase aguda sino que podrían ser reserva en un estado de estrés oxidativo crónico que suprime el NF- κ B y su respuesta inflamatoria.

La activación del Nrf2 por un controlado estrés oxidativo provocado por ozonoterapia a dosis terapéuticas suprime el NF- κ B y su respuesta inflamatoria e induce al aumento de niveles de antioxidantes como glutatión reducido (GSH), dióxido de carbono (CO2) y bilirrubina y tiene acción sobre el óxido nítrico del endotelio vascular provocando una vasodilatación.

La acción del ozono en eritrocitos humanos mejora la glicólisis y aumenta el ATP y los niveles de 2-3 difosfoglicerato (2-3 DPG) produciendo una disociación de la curva de hemoglobina (HbO₂) hacia la derecha facilitando la entrega de O₂ a los tejidos hipóxicos, esto se consigue con una concentración terapéutica de 20 a 40mgr/ml.

Se ha reportado que dosis controladas de O₃ activan el NF-κB estimulando la inflamación pero dosis bajas activan el Nrf2 estimulando enzimas como GSH, CAT, SOD, GST, HSP, suprimiendo la inflamación por la capacidad de inducir la expresión de genes que codifican proteínas y enzimas antioxidantes. Fig. 4

Cabe mencionar que además el ozono equilibra la carga eléctrica de membrana del eritrocito mejorando los efectos reológicos de la sangre, aumenta el O₂ en el citosol provocando una mayor actividad mitocondrial y formación de ATP.

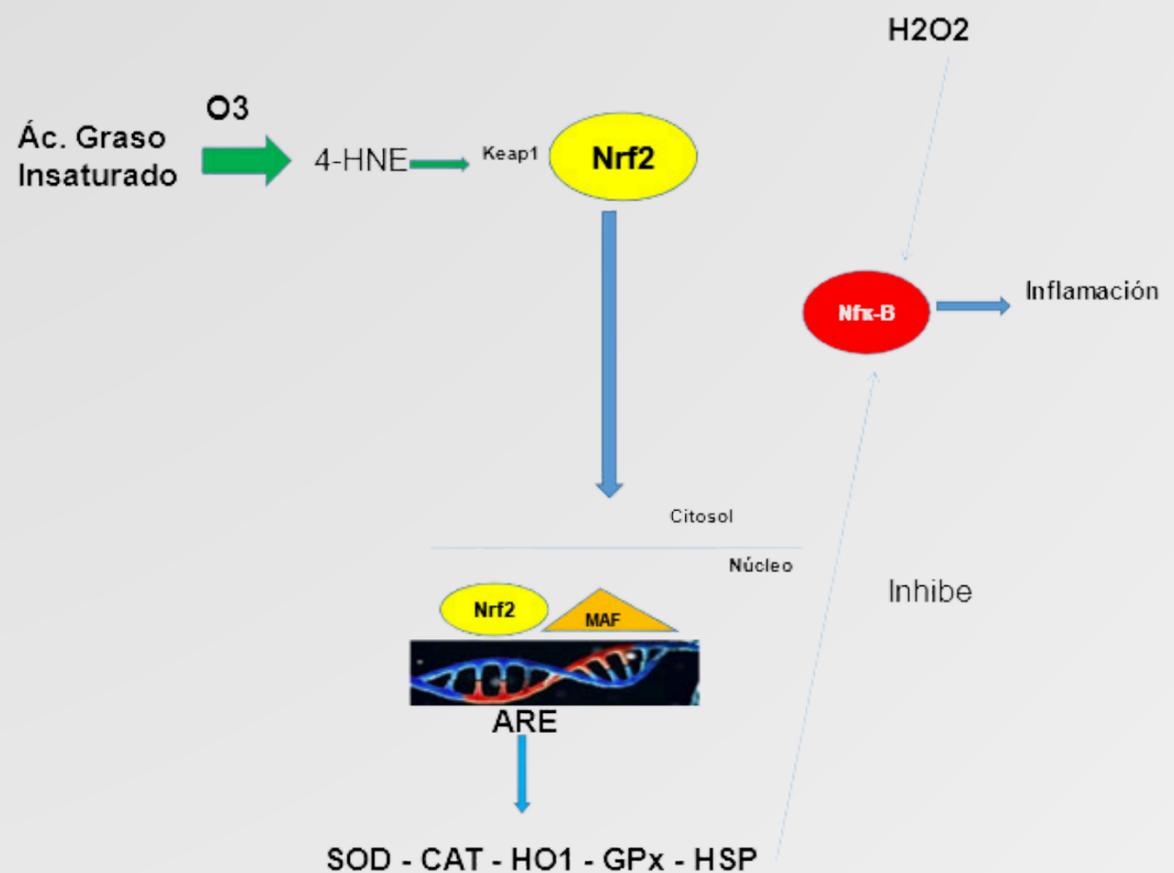


Fig. 4 Combinación del ozono con ácidos grasos que producen el mensajero 4-HNE que fosforila en inhibidor de Nrf2 en el citosol, el cual se introduce en el núcleo celular provocando la expresión genética de Elementos de Reacción Antioxidante (ERA) que controlan el estrés oxidativo inhibiendo la inflamación

Relación Ozonoterapia- GSH-Ácido Ascórbico en el Control de Enfermedades

La interacción de la ozonoterapia con antioxidantes como el GSH y Vit C en tratamiento combinado da como resultado un manejo más sólido y persistente a mediano plazo en el control de estrés oxidativo.

De manera fisiológica se mantiene el control de estrés oxidativo en personas sin patologías evidentes pero con estrés oxidativo elevado por diversas causas: sedentarismo, dieta inadecuada, estrés emocional, contaminación, etc. En estos pacientes el manejo de ozonoterapia previa (1 tratamiento sistémico completo) seguida de 4 sesiones de terapia con GSH más Vit C (Tationil Plus 3000 Mg) por sueroterapia o IM (1 por semana) en 4 semanas garantizaría el control oxidativo orgánico por 6 meses, disminuyendo por lo tanto el riesgo de aparición de patologías de causa inflamatoria como retraso en el envejecimiento, errores en la mitosis celular que pueden llevar a cáncer y otras enfermedades propias de la edad adulta o avanzada. Nada como la prevención para mantener la salud, en este caso mediante el control del estrés oxidativo.



Acción complementaria de los tres elementos Ozono, GSH y Ácido ascórbico

OZONO	GSH	ÁCIDO ASCÓRBICO
↑ GSH mitocondrial	>GSH en mitocondria	
Facilita la difusión de GSH de citosol a mitocondria por estabilización de carga de membrana	GSH va de citosol a mitocondria	
Mantiene balance redox	Mantiene balance redox	Modula balance redox
Función Antioxidante	Función Antioxidante	Función Antioxidante
Evita la degradación de Cisteína	Transporta y almacena Cisteína	
Regula y Mantiene Homeostasis Celular	Mantiene Homeostasis Celular	
↑Antioxidantes que eliminan estrés oxidativo y previenen senescencia celular	Evita senescencia celular por ↓ de estrés oxidativo	
Produce expresión genética de antioxidantes que ceden electrones	Efecto antioxidante por ceder electrones	Efecto antioxidante por ceder electrones
Efecto vasodilatador por liberación de NO	Efecto protector del endotelio vascular	Efecto vasodilatador por síntesis de NO
↓ Inflamación por generar antioxidantes que regulan estrés oxidativo	↓ Inflamación por eliminar OH	↓ Inflamación al modular actividad de Oxidasas NADH(NOX)

Acción de Patologías

En base a lo expuesto en la tabla tanto el ozono como el GSH y el Ácido Ascórbico (Tationil Plus 3000Mg) se complementan en el tratamiento dado que actúan de la manera similar pero con pequeñas variaciones que optimizan su desempeño.

En el caso de pre y post operatorio en cualquier cirugía actuarían como antiinflamatorio acelerando la evolución favorable del paciente con altas hospitalarias más precoces pues también disminuirían la posibilidad de infección. Se aconseja el uso de ozonoterapia sistémica (1 ciclo) previamente y completar luego con sueroterapia con GSH y Ácido Ascórbico (Tationil Pul) o por vía IM profunda 1 por semana por 6 semanas.

Para los pacientes con Diabetes o sus complicaciones (pie diabético, insuficiencia renal, arteriopatía, neuropatía) el ozono evita la glicación de las proteínas con la glucosa oxidada y el GSH modula estrés oxidativo disminuyendo la inflamación a la vez que tanto el ozono como el ácido ascórbico promueven la vasodilatación retardando y disminuyendo la fibrosis vascular (promotora de insuficiencia arterial periférica, insuficiencia renal, etc) mediante la formación de NO. También aquí los pacientes pueden comenzar con ozonoterapia sistémica 1 ciclo y 4 semanas de GSH y Ác. Ascórbico por sueroterapia o IM.

Los pacientes con Enfermedades Autoinmunes están más inmunodeprimidos por lo que en este caso la regulación de su homeostasis comenzaría con GSH/Ác. Asc. por 2 semanas, luego 1 ciclo de autohemoterapia menor (<AHT) por 4 semanas (2 <AHT semanal) y Ozonoterapia Sistémica 1 ciclo, al terminar continuar con 2 a 4 semanas de GSH/Ác. Asc.. La <AHT actúa como cuerpo extraño y favorece la generación de Linfocitos TCD 4 que aumentan en un 400% su producción y tanto el ozono como Tationil Plus actuarían en el control de la inflamación disminuyendo los síntomas y espaciando las recaídas en casos como Lupus Eritematoso Sistémico, Transplantados, VIH, Esclerodermia, Hepatitis Crónica, Asma, Alergias, etc. La frecuencia del esquema sugerido puede ser 2 veces al año y más dependiendo del estado del paciente, en general son más frecuentes los ciclos de tratamiento al comienzo (3 o más al año) y se van espaciando de acuerdo a la respuesta del paciente.



Bibliografía

- 1) Sofia K. Georgiou-Siafis and Asterios S. Tsiftoglou. The Key Role of GSH in Keeping the Redox Balance in Mammalian Cells: Mechanisms and Significance of GSH in Detoxification via Formation of Conjugates**
Antioxidants, 2023, 12, 1953.
- 2) Couto, N.; Wood, J.; Barber, J. The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network.**
Free Radic. Biol. Med. 2016, 95, 27–42
- 3) Zuhra, K.; Augsburg, F.; Majtan, T.; Szabo, C. Cystathionine-beta-Synthase: Molecular Regulation and Pharmacological Inhibition. Biomolecules 2020, 10, 697.**
- 4) Kumar, S.; Bandyopadhyay, U. Free heme toxicity and its detoxification systems in human. Toxicol. Lett. 2005, 157, 175–188.**
- 5) Giustarini, D.; Milzani, A.; Dalle-Donne, I.; Rossi, R. Red blood cells as a physiological source of glutathione for extracellular fluids. Blood Cells Mol. Dis. 2008, 40, 174–179.**
- 6) Vulcano L., Soraci A. Acta Biochim. Clín. Lat. 2013; 47 (3): 529-39.**
- 7) Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analyses of Glutathione: implication in redox and detoxification. Clin Chim Acta 2003; 333 (1): 19-39.**
- 8) Lu SC. Regulation of glutathione synthesis. Mol Aspects Med 2009; 30 (1-2): 42-59.**
- 9) Camera E, Picardo M. Analytical methods to investigate glutathione and related compounds in biological and pathological processes. J Chromatogr B Analyt Technol. Biomed Life Sci 2002; 781 (1-2): 181-206.**
- 10) Tveden-Nyborg P, Lykkesfeldt J. Does vitamin C deficiency increase lifestyle-associated vascular disease progression? Evidence based on experimental and clinical studies. Antiox. Sign. 2013; doi:10.1089/ars.2013.5382.**
- 11) Bocci V., Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. Review Article. Archives of Medical Research. 37 (2006) 425-435.**
- 12) Sagal M., Bocci V. Mechanisms of Action Involved in Ozone Therapy: Is Healing Induced Via a Mild Oxidative Stress? Medical Gas Research; 2011;1;29 Review.**
- 13) Villanueva NF, Sun Z, Chen N. Nrf2 and p21 Regulate the Fine Balance Between Life and Death by Controlling ROS Levels . Cell Cycle 2009, 8:3255-3256**
- 14) Bocci V, Borrelli E, Travagli V, Zanardi I. The Ozone Paradox: Ozone is a Strong Oxidant as Well as a Medical Drug. Med Res Rev. 2009 Jul; 29(4):646-82**
- 15) Lambert R., Mohamet N., Menedez S., Hernandez F. Ozone Therapy: Clinical and Basic Evidence of its Therapeutic Potential. Archives of Medical Research. 39(2008) 17-36**