

EFECTO DE REGULACIÓN DE ACTIVIDAD DE LA ENZIMA CICLOOXIGENASA DE ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS (COX) SOBRE NIVEL DE LAS PROSTAGLANDINAS Y CICATRIZACIÓN DE LESIONES QUIRÚRGICAS Y QUEMADURAS

Anna Ilyiná¹, Ma. Guadalupe Hernández Vázquez¹, Luis E. Elizalde Herrera², Elena Bogatcheva², Ma. Guadalupe Pineda Escareño³, Essington T. Trimmer Rodríguez⁴, Jesús Rodríguez Martínez¹

¹Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas, ²Centro de Investigación en Química Aplicada, ³Escuela de Ciencias Biológicas, Unidad Torreón y ⁴Facultad de Medicina, Unidad Saltillo de la Universidad Autónoma de Coahuila. Blvd. V. Carranza e Ing. J. Cárdenas V., Col. República, C.P. 25280, Saltillo, Coahuila. Fax: 01 844 4159534. Correo electrónico: anna_ilina@hotmail.com

Palabras clave: COX, cicatrización, quemaduras

Introducción. Previamente se ha demostrado el efecto de la aplicación de la COX-1 de disminuir el tiempo de cicatrización de heridas cutáneas (1). Sin embargo, el mecanismo del proceso no está definido. Considerando que la COX es la enzima clave en la síntesis de los prostanoideos, se puede proponer que el efecto está relacionado con la participación de estas sustancias fisiológicamente activas.

Los objetivos del presente trabajo son: establecer como la aplicación de la enzima ciclooxigenasa de los ácidos grasos, (COX-1, EC 1.14.99.1) influye sobre nivel de las prostaglandinas (PGs) en piel lesionada; definir la relación entre cinética de cicatrización de heridas quirúrgicas y actividad de la enzima aplicada y evaluar el efecto de aplicación de la enzima sobre quemaduras de segundo grado, tratando definir además el procedimiento adecuado para esto.

Metodología. En este trabajo se aplicaron las fracciones microsomales con actividad de la COX-1 extraídas a partir de las glándulas vesiculares de bovino (2). Para escoger el tiempo de tratamiento de lesión previo a la detección de las PGs, se realizó un estudio de estabilidad de enzima incubada a 37°C en solución fisiológica en presencia de piel *in vitro*, aplicando para esto la técnica espectrofotométrica de determinación de actividad (2). Los ensayos de interés se realizaron en ratones CD1. Las lesiones cutáneas fueron efectuadas en la parte dorsal del animal previamente anestesiado con éter. Como modelo de lesión se utilizaron heridas quirúrgicas lineales de 20 mm sin sutura cat-gut en medio y quemaduras de segundo grado de 314 mm². Los tratamientos enzimáticos se aplicaron inmediatamente después de efectuar la lesión. Como criterio de descripción del efecto de la enzima se tomó la cinética de avance de cicatrización (la disminución de tamaño lineal de herida o de área de quemadura). En el ensayo con heridas quirúrgicas se evaluó también la correlación entre velocidad específica de avance de cicatrización y la actividad de preparado enzimático aplicado. En caso de quemaduras la aplicación de la misma dosis de la enzima se efectuó mediante técnicas diferentes: 1) aplicación tópica, 2) aplicación tópica repetida, así como 3) inyección subcutánea en el perímetro de la quemadura; 4) inyección en la ampolla, 5) aplicación de la gasa impregnada con la enzima y 6) pomada untada en la superficie de las quemaduras que contenía vaselina y la COX. La determinación de las PGs en piel lesionada se efectuó en grupo de 7 animales anestesiados, en la parte dorsal de los cuales se efectuaron dos heridas en forma de cruz: a una se le

aplicó la enzima y a otra la solución placebo. Después de 1 hora, los animales fueron sacrificados. Después de agrupar y pesar cada muestra de piel se procedió la extracción con acetato de etilo a pH 3 (3). La detección se efectuó por HPLC en columna C₁₈ con adición patrón de PGE₂ (3), utilizando en calidad de eluyente acetonitrilo:buffer fosfatos 2 mM, pH 3.5 (35:65) a 1 ml/min y UV-detector a 205 nm. El análisis estadístico se efectuó mediante la t de Student.

Resultados y discusión. En estudio de la estabilidad se demostró que en presencia de piel la enzima es suficientemente estable ($t_{1/2} = 50$ min) para realizar la síntesis de los prostanoideos que pueden ser responsables del efecto mencionado. La técnica de la HPLC permitió demostrar que después de 1 hora posterior a la aplicación de COX en la herida, el nivel de PGEs aumenta de 3 a 12 veces, según mayor es actividad aplicada. En el estudio cinético se observó que la introducción de la enzima aumenta la velocidad específica correspondiente a la fase exponencial de la cinética de avance de cicatrización. La dependencia del efecto de la actividad aplicada puede ser aproximada con una función hiperbólica. Los resultados obtenidos en el estudio de aplicación de COX-1 en quemaduras demostraron que el grado del efecto para disminuir el tiempo de curación, así como la cinética de avance del proceso en etapas tempranas, varían según el método de aplicación de la enzima. Se mostró que la aplicación de la enzima inactivada puede provocar una desaceleración del proceso de curación de quemaduras.

Conclusiones. El presente trabajo comprueba que aplicación de COX en heridas cutáneas aumenta nivel de las PGs y que la enzima COX-1 juega papel importante en procesos de reparación de tejido cutáneo lo que demuestra la posibilidad de su aplicación como tratamiento de lesiones de piel.

Agradecimiento. CONACYT proyecto 35259-M.

Bibliografía. 1. Ilyiná A., Carrillo Galindo S., Martínez Hernández J.L., Rodríguez Martínez J. (2000). Efecto curativo de la aplicación de PGH-sintetasa sobre lesiones quirúrgicas en piel de ratón. Revista Ciencias Químicas. 1 (2): 22-28.

2. Ilyina A.D., Pineda Escareño M.G., Martínez Hernández J.L., Martínez García V.M., Rodríguez Martínez J. (1997). Obtención de prostaglandina H sintetasa aplicando iones de Ca²⁺ para la precipitación de las fracciones microsomales. Rev. de la Soc. Quím. de México. 41 (3): 99-104.

3. Bogatcheva E.S., Armendariz Ponce S.Yu., Ilyina A.D. Sensitive UV-detection of prostaglandins E₁ and E₂ by high performance liquid chromatography, (2001). Rev. Cubana de Quím. XIII (2): 375.