

¿El licopeno puede eliminar los efectos perjudiciales de la hiperoxia en los cerebros inmaduros?

Can lycopene eliminate the harmful effects of hyperoxia in an immature brain?

Dr. Ahmet Ozdemir^a, Dr. Osman Bastug^a, Srta. Kubra T. Cilenk^b,
Dr. Levent Korkmaz^a, Dra. Sabriye Korkut^a, Prof. Dr. Mehmet A. Ozturk^a y
Prof. Dr. Mehmet F. Sonmez^b

RESUMEN

Objetivos: Al ser un antioxidante, el licopeno protege a las células contra el daño causado por los radicales libres, fortalece los enlaces intercelulares y mejora el metabolismo celular. Este estudio analiza los efectos del licopeno sobre los trastornos neurodegenerativos por hiperoxia en ratas recién nacidas a término.

Métodos: Estas ratas se dividieron en cuatro grupos: grupo 1 de referencia con normoxia, grupo 2 con normoxia + licopeno, grupo 3 de referencia con hiperoxia y grupo 4 con hiperoxia + licopeno. Los grupos 1 y 2 se supervisaron en condiciones de aire ambiental, y los grupos 3 y 4 se supervisaron con un nivel de oxígeno >85% O₂. Los grupos 2 y 4 recibieron inyecciones intraperitoneales de licopeno de 50 mg/kg/día; los otros grupos recibieron inyecciones intraperitoneales de aceite de maíz con el mismo volumen. Las ratas se sacrificaron en el día 11, después de 10 días con hiperoxia. Se extrajeron los cerebros, y se evaluaron los parámetros del sistema oxidativo.

Resultados: Se detectaron lesiones cerebrales por hiperoxia en sustancia blanca, regiones corticales y tálamo. Aumentó la cantidad de células apoptóticas y disminuyó la cantidad de células PCNA positivas en los grupos 3 y 4, comparados con el grupo 1. No se observó una mejora significativa en la cantidad de células apoptóticas y células PCNA positivas en los grupos 3 y 4; además, aumentó la apoptosis.

Conclusión: Se halló que el licopeno no mostró efectos terapéuticos para el daño cerebral en ratas recién nacidas. Además, se demostró que el licopeno podría causar efectos tóxicos.

Palabras clave: radicales libres, hiperoxia, daño cerebral, licopeno, ratas recién nacidas.

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2019.237>

Texto completo en inglés:

<http://dx.doi.org/10.5546/aap.2019.eng.237>

- a. Facultad de Medicina, Departamento de Pediatría, División de Neonatología.
- b. Facultad de Medicina, Departamento de Histología y Embriología. Facultad de Medicina de Erciyes Üniversitesi, Kayseri, Turquía.

Correspondencia:

Dr. Ahmet Ozdemir:
dr.ozdemir@yahoo.com

Financiamiento:
Ninguno.

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 29-3-2018
Aceptado: 2-2-2019

INTRODUCCIÓN

El daño cerebral sigue siendo un problema de salud importante en los recién nacidos. La tasa de morbimortalidad relacionada con el daño cerebral neonatal es bastante alta. Si bien la causa más frecuente de daño cerebral temprano en lactantes es la asfisia perinatal, existen factores etiológicos desconocidos que provocan trastornos del neurodesarrollo.¹ En algunos casos, es necesario administrar concentraciones elevadas de oxígeno de forma inmediata después del nacimiento, especialmente en recién nacidos prematuros. Los efectos tóxicos de la hiperoxia se relacionan con enfermedad pulmonar neonatal, con retinopatía del prematuro (ROP) y con la patogenia de resultados neurológicos anómalos en recién nacidos prematuros.² La hiperoxia no solo origina la muerte de neuronas y neuroglíocitos, sino que también causa ROP y enfermedades pulmonares crónicas. Además, en el cerebro de los recién nacidos prematuros, contribuye a causar lesiones en las sustancias blanca y gris.³ La exposición a una concentración suprafisiológica de oxígeno en el período neonatal ocasiona trastornos en las funciones cerebrales, además de la degeneración del sistema neurológico en etapas avanzadas de la vida.⁴ El daño cerebral provocado por la hiperoxia en un modelo experimental se asoció con estrés oxidativo en el parénquima cerebral, reducción de la densidad neuronal, aumento de las citocinas proinflamatorias, proliferación de oligodendroglía y muerte celular

Cómo citar: Ozdemir A, Bastug O, Cilenk KT, Korkmaz L, et al. ¿El licopeno puede eliminar los efectos perjudiciales de la hiperoxia en los cerebros inmaduros?. Arch Argent Pediatr 2019;117(4):237-244.

vascular.⁵ Existen preguntas de respuesta pendiente en cuanto a los datos clínicos acerca de la fracción inspiratoria de oxígeno (FiO₂) más adecuada para los lactantes con peso muy bajos al nacer y el uso de oxígeno en los recién nacidos.⁶ El estrés oxidativo desencadenado por la hiperoxia se reflejó en el aumento en la concentración de glutatión oxidado y en la disminución del glutatión reducido, así como en la peroxidación lipídica en los cerebros inmaduros.⁷ En consecuencia, es necesario continuar con la investigación de los niveles suprafisiológicos de oxígeno, cuyo uso es vital en las unidades de cuidados intensivos neonatales.

El licopeno, que está presente de forma natural en el tomate y los productos derivados del tomate, así como en las frutas y las verduras, es un carotenoide no cíclico cuya composición química incluye un total de 13 enlaces dobles (11 conjugados y 2 no conjugados). Se encuentra principalmente en las fracciones de lipoproteínas de baja densidad y lipoproteínas de muy baja densidad de la próstata, los testículos, las glándulas suprarrenales y el hígado.⁸ El licopeno, que protege a las células contra el daño causado por los radicales libres, mejora el metabolismo celular y fortalece los enlaces entre las células.⁸

En un estudio del licopeno, se halló que aumentaba las actividades antioxidantes endógenas, por ejemplo, de las enzimas glutatión-peroxidasa (GSPx) y del superóxido dismutasa (SOD), y disminuía la concentración de malondialdehído (MDA), del que se sabe que está relacionado con el daño oxidativo y es el producto final de la oxidación de los ácidos grasos.⁹ El efecto del licopeno en indicadores inflamatorios, como el factor- α de necrosis tumoral (TNF- α), la interleucina-1 β (IL-1 β) y la interleucina-6 (IL-6), también mostró una tendencia descendente.¹⁰

La hiperoxia causa daños asociados con el estrés oxidativo en la sustancia blanca del cerebro de las ratas, y esto puede darnos una idea acerca del daño en la sustancia blanca de los lactantes prematuros.¹¹ Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto neuroprotector del licopeno, que es el carotenoide con propiedades antioxidantes más fuertes, sobre el daño cerebral por hiperoxia en las ratas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Comité de Ética de Experimentación con Animales de Erciyes Üniversitesi aprobó este estudio. Las ratas recibieron gránulos de alimento y pudieron tomar la cantidad de agua que deseaban.

La temperatura ambiente se fijó en 23 ± 1 °C, y se mantuvo un ciclo de día/noche de 12 horas.

Se utilizaron ratas recién nacidas para demostrar los efectos tóxicos de los niveles suprafisiológicos de oxígeno en los recién nacidos. Para el daño inflamatorio inducido por hiperoxia, la bibliografía incluye modelos experimentales correspondientes a los primeros 14 días posnatales, con la condición de que el comienzo haya sido en los días iniciales. En nuestro estudio, se tomó el modelo de hiperoxia experimental como referencia y se formó la cadena de eventos inflamatorios.¹² Las ratas se dividieron en cuatro grupos: grupo de referencia con normoxia (grupo 1), grupo con normoxia + licopeno (grupo 2), grupo de referencia con hiperoxia (grupo 3) y grupo con hiperoxia + licopeno (grupo 4). Había 10 ratas recién nacidas en cada grupo.

Se tomó el estudio de posología de Bignotto y col.¹³ como base para el efecto antiinflamatorio del licopeno. Todos los grupos recibieron inyecciones intraperitoneales (i.p.) de 50 mg/kg/día [*licopeno, Redivivo™ 10 % FS, ~10 % en aceite de maíz, $\geq 95,0$ % (suma de isómeros), SIGMA, Suiza*] con el mismo volumen durante todo el estudio. El grupo 1 recibió inyecciones i.p. de aceite de maíz, el grupo 2 recibió una dosis única de licopeno de 50 mg/kg/día a temperatura ambiente, el grupo 3 se expuso a un nivel de oxígeno superior al 85 % y recibió inyecciones i.p. de aceite de maíz, y, finalmente, el grupo 4 recibió una dosis única de licopeno, además se lo expuso a un nivel de oxígeno superior al 85 %.¹² El estudio finalizó el undécimo día posnatal, y se sacrificó a los animales. Los tejidos cerebrales se extirparon rápidamente y se utilizaron para análisis histológicos y estudios de ELISA (*Figura 1*).

Evaluación histopatológica

Algunos tejidos se fijaron en formalina neutralizada al 4 % durante 24 horas. Los tejidos identificados se lavaron con agua del grifo y se deshidrataron mediante una serie graduada de alcohol.¹² Los tejidos se mantuvieron en una serie de alcohol con una concentración del 50 %, 70 %, 80 % y 100 %, respectivamente, durante una hora en cada concentración, para extraer el contenido de agua y saturar los tejidos con alcohol. Se utilizó xilol para que los tejidos queden transparentes. Estos se incluyeron en parafina. El alcohol se reemplazó por xilol para permitir la penetración de parafina en el tejido. Con el fin de evaluar la estructura normal, se aplicó inmunotinción en cortes de 5-6 μ m extraídos de los bloques

de parafina mediante el método TUNEL, con hematoxilina-eosina para mostrar la apoptosis y con antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) para observar la proliferación celular.

Método TUNEL

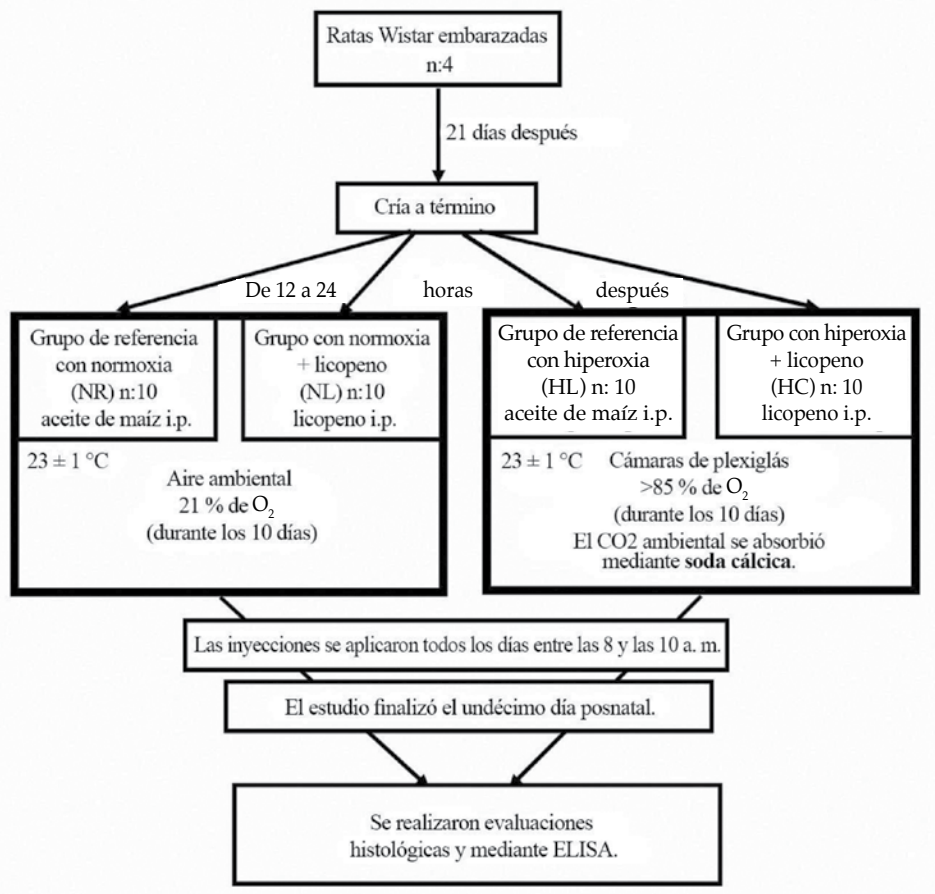
Se utilizó el método TUNEL para mostrar la apoptosis en el tejido cerebral. Con este propósito, se empleó el “kit de detección de muerte celular *in situ*, fluoresceína”, y la tinción se realizó de acuerdo con la guía del usuario del kit. Los tejidos se lavaron con solución salina tamponada con fosfato (PBS) tres veces, durante cinco minutos, y se incubaron en el kit con la mezcla de reacción del método TUNEL, en un ambiente húmedo y oscuro, a 37 °C, durante 60 minutos. En los tejidos lavados con PBS tres veces durante cinco minutos, se aplicó tinción negativa con DAPI. Los tejidos se cubrieron con una solución de glicerol para oclusión y se supervisaron con un microscopio fluorescente Olympus BX-51 a una longitud de onda de 450-500 nm. Se contaron las células

apoptóticas de los tejidos para crear un índice de apoptosis. Se obtuvieron imágenes de 10 áreas diferentes de cada corte usando un zoom de 40X para observar el índice de apoptosis. Se determinó como índice la proporción de células apoptóticas en relación con la cantidad total de células en estas áreas.

Inmunohistoquímica

Se utilizó para el marcado el método de avidina-biotina-peroxidasa a fin de identificar las diferencias en la expresión de PCNA en el tejido cerebral. Los tejidos de 5-6 µm se conservaron a 60 °C durante una noche. Primero, los cortes se deshidrataron con una serie graduada de alcohol y se lavaron con PBS tres veces durante cinco minutos. Luego, se colocaron en una solución amortiguadora de citrato 0,01 M en un horno microondas a 600 W, tres veces durante cinco minutos, para la recuperación del antígeno y se mantuvieron en la misma solución a temperatura ambiente durante 20 minutos. Los cortes se lavaron de nuevo con PBS y se trataron con

FIGURA 1. Grupos y diseño experimental del estudio de investigación



peróxido de hidrógeno al 3 % durante 5 minutos a fin de evitar la actividad endógena de la peroxidasa, y se utilizó un kit con el sistema de tinción ABC (SantaCruz, sc-2023) para las etapas posteriores. Los cortes, que se lavaron nuevamente con PBS, se incluyeron en solución bloqueadora sérica a temperatura ambiente, durante 20 minutos, para cubrir las áreas externas a las áreas antigénicas. Los cortes se mantuvieron a +4 °C con el anticuerpo primario para el PCNA (sc-9857) durante una noche y se incubaron a temperatura ambiente durante 20 minutos al día siguiente. Se utilizó PBS en lugar del anticuerpo primario para el control negativo. Luego, los cortes se trataron con el separador de enzimas avidina-biotina durante 30 minutos y se lavaron con diaminobencidina para mostrar la reactividad inmunitaria. En la etapa final, el agua se extrajo mediante una serie de alcohol de concentración en aumento, y los cortes colocados en xileno se cubrieron con Entellan. Se obtuvieron imágenes con la cámara digital DP71 del microscopio óptico Olympus BX51. Se tomaron imágenes de cinco áreas diferentes en cada uno de los animales. La cantidad de células PCNA positivas fue proporcional a la cantidad total de células en la imagen J, y se mostraron las diferencias entre los grupos.

ELISA

Los tejidos cerebrales homogeneizados se centrifugaron a +4 °C y a 12 000 rpm durante 30 minutos, y los sobrenadantes restantes se extrajeron en alícuotas para el procedimiento del ensayo de inmuoadsorción enzimática (ELISA). Luego, los homogeneizados de tejido cerebral se analizaron mediante kits de ELISA con SOD (CSB-E08555r), MDA (CSB-E08558r), TNF- α (Invitrogen KRC3011), IL-1 β (Invitrogen KRC0011), IL-6 (Invitrogen KRC0061) y GSPx (Cayman-703102).

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS. Los datos se identificaron como "media \pm desviación estándar". Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para los resultados analizados mediante ELISA, mientras que, para el índice de apoptosis en el tejido cerebral y el puntaje de PCNA, se utilizó el método ANOVA unidireccional. Se utilizó la prueba de Tukey para el análisis *a posteriori*. Para el análisis estadístico, se consideró el valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En nuestro estudio, se detectaron lesiones

causadas por hiperoxia en la sustancia blanca, las regiones corticales y el tálamo. Se utilizó el método TUNEL (Figura 2) para identificar la apoptosis en los cortes cerebrales e inmunohistoquímica de PCNA (Figura 3) para mostrar la proliferación celular. Si bien el índice de apoptosis aumentó en los grupos 3 y 4 en comparación con el grupo 1, la cantidad de células PCNA positivas se redujo de forma estadísticamente significativa respecto del grupo 1. Se observó un aumento imprevisto y de significación estadística en la cantidad de células apoptóticas en los grupos 3 y 4, en comparación con el grupo 1, y una disminución en la cantidad de células PCNA positivas (Tabla 1).

Para poder medir el daño por hiperoxia en los tejidos cerebrales, se utilizaron kits de ELISA con el fin de determinar las concentraciones de MDA, SOD y GSPx, que están incluidos en los parámetros del sistema oxidativo, y de IL-1 β , IL-6 y TNF- α , que están incluidos en los indicadores del sistema inflamatorio (Tabla 2). Se halló que las concentraciones de MDA, SOD e IL-1 β aumentaron, y que las de GSPx y TNF- α disminuyeron en comparación con el grupo 1.

DISCUSIÓN

El daño cerebral por hiperoxia debido al uso de oxígeno en las unidades de cuidados intensivos neonatales ha suscitado interés recientemente. Los recién nacidos prematuros son más propensos al daño cerebral, porque su mecanismo de defensa antioxidante no es aún lo suficientemente maduro. En diversos estudios se demostró que la hiperoxia causó estrés oxidativo y nitrosativo, con repercusiones directas en las áreas de sustancia gris y blanca del cerebro, y que la concentración elevada de oxígeno tuvo efectos perjudiciales en los cerebros inmaduros.^{11,14} Los radicales de oxígeno libre y la activación de caspasa causados por la hiperoxia desencadenan la apoptosis en el cerebro durante su maduración y producen daños en la sustancia blanca.¹¹ Además, la muerte celular inducida por hiperoxia afecta la corteza, los núcleos basales, el hipotálamo y el hipocampo.¹⁴ En nuestro estudio, también se detectaron lesiones por hiperoxia en la sustancia blanca del cerebro, como lo demuestran Gestner y col.¹¹

Se reduce la densidad neuronal y aumenta la apoptosis en diversas áreas del cerebro.^{5,14} Uno de los mecanismos que contribuyen a la apoptosis inducida por hiperoxia en el cerebro en desarrollo es el estrés oxidativo. Por otro lado,

FIGURA 2. Se distinguen células positivas mediante el método TUNEL en los cortes cerebrales. Los núcleos celulares apoptóticos (flechas) se ven de color verde fluorescente y las otras células se ven de color azul fluorescente durante la tinción con DAPI. (A) Grupo de referencia con normoxia (grupo 1) (B) Grupo con normoxia + licopeno (grupo 2) (C) Grupo de referencia con hiperoxia (grupo 3) (D) Grupo con hiperoxia + licopeno (grupo 4).

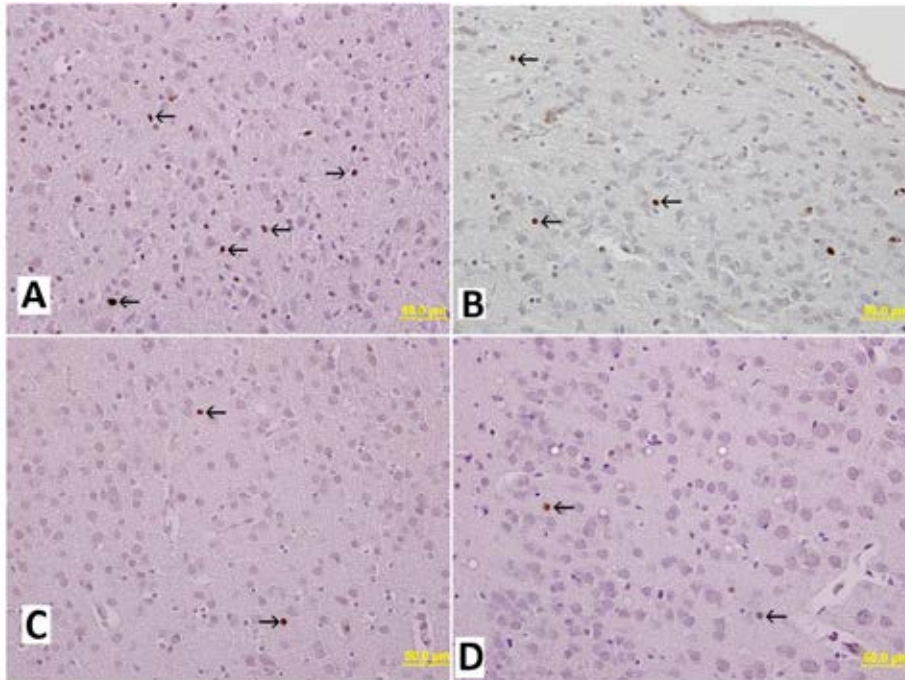
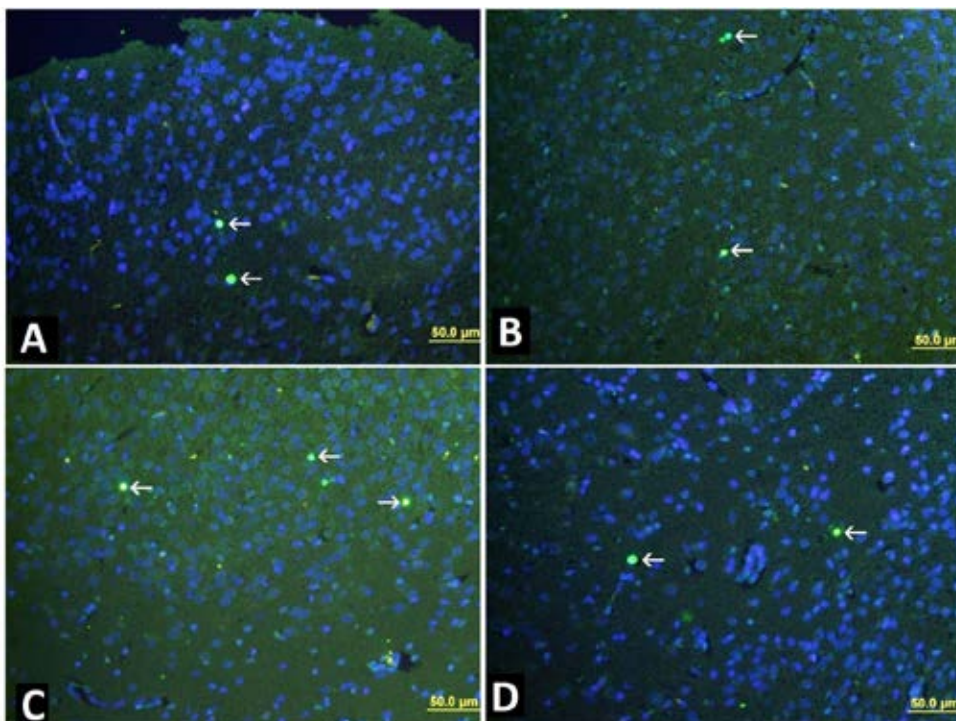


FIGURA 3. Se distinguen células PCNA positivas en los cortes cerebrales (flechas). (A) Grupo de referencia con normoxia (grupo 1) (B) Grupo con normoxia + licopeno (grupo 2) (C) Grupo de referencia con hiperoxia (grupo 3) (D) Grupo con hiperoxia + licopeno (grupo 4).



la supervivencia neuronal durante la exposición a la hiperoxia disminuye, así como el control de la expresión del gen y la fosforilación de las proteínas.¹⁴ El PCNA, que se define como el antígeno expresado por el núcleo en la síntesis del ADN, es importante para la síntesis y la reparación, y se utilizó en nuestro estudio como indicador de la proliferación celular.¹⁵ Además, en el estudio, se crearon daños cerebrales por hiperoxia como se muestra en la sección de métodos. Se observó un aumento de la apoptosis y una disminución del índice PCNA en los grupos 2 y 3 A. También se observó una disminución de GSPx, un antioxidante endógeno, y un aumento en la concentración de MDA, el producto final de la oxidación de los ácidos grasos. Además, aumentaron las concentraciones de TNF- α , IL-1 β e IL-6, que son indicadores inflamatorios.

Las ratas recién nacidas, que fueron objeto de daños cerebrales por hiperoxia sobre la base de los hallazgos existentes, recibieron tratamiento con licopeno. El licopeno es un importante carotenoide

con capacidad de combinarse fácilmente con los radicales libres, lo que permite que los mecanismos de defensa antioxidante protejan a las células contra los daños en el ADN.¹⁶ En la bibliografía, se incluyen estudios que evalúan la función antioxidante del licopeno.^{9,17} Sin embargo, este es el primer estudio en el que se ha analizado la función antioxidante del licopeno en cuanto a los daños cerebrales por hiperoxia en ratas recién nacidas.

En este estudio, se identificó que el índice de apoptosis aumentó en el grupo 4, en comparación con el grupo 1 ($p < 0,05$). Además, se observó que el licopeno disminuyó el índice de PCNA en el cerebro de las ratas recién nacidas expuestas a hiperoxia, en comparación con el grupo 1 ($p < 0,05$). En consecuencia, el licopeno influyó de forma negativa en la proliferación celular, tanto en el grupo 2 como en el grupo 4. Aunque en este estudio se observó que las concentraciones de GSPx disminuyeron en el grupo 3 y aumentaron en el grupo 4 hasta la misma concentración que en el grupo 1, esto no fue estadísticamente significativo ($p > 0,05$). En su

TABLA 1. Índices del antígeno nuclear de proliferación celular y de apoptosis en el tejido cerebral

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Índice de apoptosis	0,0026 \pm 0,0007	0,0071 \pm 0,0023*	0,0045 \pm 0,0008	0,0047 \pm 0,0006
Índice de PCNA	9,18 \pm 0,68	2,11 \pm 0,31*	1,88 \pm 0,21*	1,73 \pm 0,28*

* En comparación con el grupo de referencia, $p < 0,05$.

Los valores se expresan como media \pm desviación estándar.

Grupo 1: grupo de referencia con normoxia, Grupo 2: grupo con normoxia + licopeno,

Grupo 3: grupo de referencia con hiperoxia, Grupo 4: grupo con hiperoxia + licopeno.

PCNA: antígeno nuclear de proliferación celular.

TABLA 2. Concentraciones de SOD, MDA, GSPx, TNF- α , IL-1 β e IL-6 en el tejido cerebral

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
SOD (mUI/ml)	5,80 \pm 2,56 1,46 (1,00-27,77)	4,71 \pm 1,55 3,80 (1,38-19,48)	8,56 \pm 3,00 4,23 (1,16-30,20)	7,22 \pm 3,20 1,84 (1,21-31,38)
MDA (pmol/ml)	237,53 \pm 16,84 215,82 (146,14-311,95)	256,76 \pm 18,08 282,66 (143,11-335,76)	251,27 \pm 20,44 235,15 (158,97-362,59)	211,61 \pm 15,21 207,85 (135,72-302,28)
GSPx (nmol/min/ml)	13,54 \pm 1,94 15,79 (2,04-20,63)	12,34 \pm 2,11 11,20 (0,76-22,92)	10,90 \pm 2,39 10,18 (3,82-21,14)	14,42 \pm 1,31 13,75 (9,93-22,41)
IL-1 β (pg/ml)	37,87 \pm 3,92 34,37 (20,48-65,69)	31,35 \pm 2,38 31,37 (17,94-42,85)	41,39 \pm 5,14 34,30 (22,72-76,91)	35,99 \pm 3,01 34,63 (25,30-56,31)
IL-6 (pg/ml)	132,59 \pm 17,97 139,08 (31,37-236,49)	109,70 \pm 18,90 103,98 (35,35-207,35)	132,71 \pm 26,01 111,98 (45,97-267,05)	96,27 \pm 15,67 101,44 (10,07-191,08)
TNF- α (pg/ml)	97,03 \pm 10,59 102,15 (31,96-144,23)	89,39 \pm 9,73 76,15 (47,13-164,05)	83,16 \pm 8,02 82,27 (44,25-121,66)	78,89 \pm 8,23 67,58 (46,14-127,98)

Los valores se expresan como media \pm desviación estándar, mediana (mínimo y máximo).

SOD: superóxido dismutasa, MDA: malondialdehído, TNF- α : factor- α de necrosis tumoral, IL-1 β : interleucina-1 β , IL-6: interleucina-6, GSPx: glutatión-peroxidasa.

Grupo 1: grupo de referencia con normoxia, Grupo 2: grupo con normoxia + licopeno,

Grupo 3: grupo de referencia con hiperoxia, Grupo 4: grupo con hiperoxia + licopeno.

estudio de investigación acerca de las reacciones de las células cerebrales contra las condiciones de hiperoxia, Lushchak y col.¹⁸ demostraron que las concentraciones de las enzimas antioxidantes SOD, catalasa y GSPx, al igual que en nuestro estudio, no aumentaron. En un estudio de Asperg y col.¹⁹, la actividad de la enzima SOD y las concentraciones de mRNA no se modificaron, mientras que las concentraciones de GSPx disminuyeron significativamente a las 12 horas de la hiperoxia. Se observó una reducción en la actividad de las enzimas glutatión-reductasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Asimismo, al igual que en diversos estudios de la bibliografía, hubo una disminución de los indicadores inflamatorios, como TNF- α , IL-1 β e IL-6, aunque no fue estadísticamente significativa.^{9,17} En contraposición a los datos de la bibliografía, el MDA, el producto final de la oxidación de los ácidos grasos, aumentó en este estudio.⁸ En estudios previos se demostró que la dosis de 50 mg/kg de licopeno fue beneficiosa en el reflujo gastroesofágico, las lesiones pulmonares agudas, la pancreatitis aguda y las lesiones por reperfusión isquémica hepática.^{20,21,13} Sin embargo, ninguno de estos estudios se realizó en ratas recién nacidas. En los estudios centrados en la toxicidad del licopeno, las ratas recibieron 2 g/kg/día de licopeno durante 28 días, y los pacientes recibieron 200 mg/kg/día, sin presencia de efectos tóxicos.²² Otro estudio que duró trece semanas arrojó resultados similares.²³ Si bien la bibliografía ofrece muchos estudios acerca de los beneficios del licopeno, aún no se han estudiado en detalle los efectos perjudiciales. En un estudio de investigación centrado en la toxicidad, se demostró que el licopeno podría funcionar como prooxidante según la dosis administrada y que tuvo efectos protectores contra el daño celular en un nivel fisiológico (de 1 a 3 microM), aunque podría causar la pérdida celular cuando se administra en dosis altas (de 4 a 10 microM).²⁴ Ningún estudio informó efectos tóxicos del licopeno en el cuerpo humano.^{25,26} El daño cerebral aparente en el grupo 4 de este estudio, como lo demuestran los resultados del estudio, puede atribuirse al efecto perjudicial causado por la alta concentración de licopeno en las células.

En un estudio de investigación centrado en los efectos tóxicos de la vitamina A, de Oliveira y col.²⁷ les administraron a las ratas palmitato de retinilo (vitamina A) a dosis de 500 UI/kg (n= 10), 1000 UI/kg (n= 10) y 2500 UI/kg (n= 10) durante 3 meses, y analizaron la actividad mitocondrial

y las actividades de la 3-nitrotirosina total, la monoaminoxidasa y la glutatión-S-transferasa. Como resultado, observaron estrés oxidativo y nitrosativo en las áreas mitocondriales del cerebro, e informaron que la dosis de 500 UI/kg podría ser confiable y que otras dosis podrían exhibir efectos tóxicos. Estudios previos mostraron resultados similares.^{28,29} También hay estudios que se centraron en la toxicidad de la vitamina A, cuyos resultados mostraron la tensión de la fontanela con las dosis más altas.^{30,31} Dado que el licopeno pertenece al grupo carotenoide, que es una fuente importante de vitamina A, puede argumentarse que las dosis más altas de licopeno probablemente sean tóxicas.³² Este estudio ya demostró que las dosis más altas de licopeno aumentaron la apoptosis y que los parámetros del sistema oxidativo no mejoraron lo suficiente. Por lo tanto, es muy importante determinar la dosis óptima de licopeno. Sin embargo, consideramos que la dosis de licopeno de 50 mg/kg/día utilizada en este estudio es alta y que puede tener consecuencias perjudiciales, en lugar de eliminar el efecto de la hiperoxia. Por consiguiente, debe utilizarse con precaución.

CONCLUSIÓN

En este estudio, se demostró que el licopeno no mejoró los efectos perjudiciales de la hiperoxia y que, además, produjo cambios citológicos y bioquímicos similares. ■

Agradecimientos

Este estudio contó con el respaldo del Comité de Proyectos de Investigación Científica de la Facultad de Medicina de Erciyes Üniversitesi (código del proyecto: TTU-2013-4617).

REFERENCIAS

1. Hintz SR, Kendrick DE, Vohr BR, Poole WK, et al. Changes in neurodevelopmental outcomes at 18 to 22 months' corrected age among infants of less than 25 weeks' gestational age born in 1993-1999. *Pediatrics*. 2005;115(6):1645-51.
2. Deulofeut R, Critz A, Adams-Chapman I, Sola A. Avoiding hyperoxia in infants < or = 1250 g is associated with improved short- and long-term outcomes. *J Perinatol*. 2006;26(11):700-5.
3. Reich B, Hoerber D, Bendix I, Felderhoff-Mueser U. Hyperoxia and the Immature Brain. *Dev Neurosci*. 2016;38(5):311-30.
4. Deuber C, Terhaar M. Hyperoxia in very preterm infants: a systematic review of the literature. *J Perinat Neonatal Nurs*. 2011;25(3):268-74.
5. Yis U, Kurul SH, Kumral A, Cilaker S, et al. Hyperoxic exposure leads to cell death in the developing brain. *Brain Dev*. 2008;30(9):556-62.
6. Saugstad OD. Hyperoxia in the term newborn: more evidence is still needed for optimal oxygen therapy. *Acta Paediatr*. 2012;101(464):34-8.

7. Sifringer M, Brait D, Weichelt U, Zimmerman G, et al. Erythropoietin attenuates hyperoxia-induced oxidative stress in the developing rat brain. *Brain Behav Immun.* 2010;24(5):792-9.
8. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ.* 2000;163(6):739-44.
9. He Q, Zhou W, Xiong C, Tan G, Chen M. Lycopene attenuates inflammation and apoptosis in post-myocardial infarction remodeling by inhibiting the nuclear factor- κ B signaling pathway. *Mol Med Rep.* 2015;11(3):374-8.
10. Keller M, Felderhoff-Mueser U, Lagercrantz H, Dammann O, et al. Policy benchmarking report on neonatal health and social policies in 13 European countries. *Acta Paediatr.* 2010;99(11):1624-9.
11. Gerstner B, DeSilva TM, Genz K, Armstrong A, et al. Hyperoxia causes maturation-dependent cell death in the developing white matter. *J Neurosci.* 2008;28(5):1236-45.
12. Kose M, Bastug O, Sonmez MF, Per S, et al. Protective effect of vitamin D against hyperoxia-induced lung injury in newborn rats. *Pediatr Pulmonol.* 2017;52(1):69-76.
13. Bignotto L, Rocha J, Sepodes B, Eduardo-Figueira M, et al. Anti-inflammatory effect of lycopene on carrageenan-induced paw oedema and hepatic ischaemia-reperfusion in the rat. *Br J Nutr.* 2009;102(1):126-33.
14. Felderhoff-Mueser U, Bittigau P, Sifringer M, Jarosz B, et al. Oxygen causes cell death in the developing brain. *Neurobiol Dis.* 2004;17(2):273-82.
15. Essers J, Theil AF, Baldeyron C, van Cappellen WA, et al. Nuclear dynamics of PCNA in DNA replication and repair. *Mol Cell Biol.* 2005;25(21):9350-9.
16. Aydin S, Palabiyik SS, Erkekoglu P, Sahin G, et al. The carotenoid lycopene protects rats against DNA damage induced by ochratoxin A. *Toxicol.* 2013;73:96-103.
17. Stahl W, Sies H. Lycopene: a biologically important carotenoid for humans? *Arch Biochem Biophys.* 1996;336(1):1-9.
18. Lushchak VI, Bagnyukova TV, Husak VV, Luzhna LI, et al. Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(8):1670-80.
19. Aspberg A, Tottmar O. Oxidative stress decreases antioxidant enzyme activities in reaggregation cultures of rat brain cells. *Free Radic Biol Med.* 1994;17(6):511-6.
20. Giri AK, Rawat JK, Singh M, Gautam S, Kaithwas G. Effect of lycopene against gastroesophageal reflux disease in experimental animals. *BMC Complement Altern Med.* 2015;15:110.
21. Ozkan E, Akyüz C, Dulundu E, Topaloglu U, et al. Protective effects of lycopene on cerulein-induced experimental acute pancreatitis in rats. *J Surg Res.* 2012;176(1):232-8.
22. Jian WC, Chiou MH, Chen YT, Lin CN, et al. Twenty-eight-day oral toxicity study of lycopene from recombinant *Escherichia coli* in rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2008;52(2):163-8.
23. Mellert W, Deckardt K, Gemhardt C, Schulte S, et al. Thirteen-week oral toxicity study of synthetic lycopene products in rats. *Food Chem Toxicol.* 2002;40(11):1581-8.
24. Lowe GM, Booth LA, Young AJ, Bilton RF. Lycopene and beta-carotene protect against oxidative damage in HT29 cells at low concentrations but rapidly lose this capacity at higher doses. *Free Radic Res.* 1999;30(2):141-51.
25. Karppi J, Laukkanen JA, Sivenius J, Ronkainen K, Kurl S. Serum lycopene decreases the risk of stroke in men: a population-based follow-up study. *Neurology.* 2012;79(15):1540-7.
26. Renju GL, Muraleedhara Kurup G, Bandugula VR. Effect of lycopene isolated from *Chlorella marina* on proliferation and apoptosis in human prostate cancer cell line PC-3. *Tumour Biol.* 2014;35(11):10747-58.
27. de Oliveira MR, da Rocha RF, Pasquali MA, Moreira JC. The effects of vitamin A supplementation for 3 months on adult rat nigrostriatal axis: increased monoamine oxidase enzyme activity, mitochondrial redox dysfunction, increased β -amyloid (1-40) peptide and TNF- α contents, and susceptibility of mitochondria to an in vitro H₂O₂ challenge. *Brain Res Bull.* 2012;87(4-5):432-44.
28. Calabrese V, Mancuso C, Calvani M, Rizzarelli E, et al. Nitric oxide in the central nervous system: neuroprotection versus neurotoxicity. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8(10):766-75.
29. de Oliveira MR, Moreira JCF. Acute and chronic vitamin A supplementation at therapeutic doses induces oxidative stress in submitochondrial particles isolated from cerebral cortex and cerebellum of adult rats. *Toxicol Lett.* 2007;173(3):145-50.
30. West KP Jr, Khatry SK, LeClerq SC, Adhikari R, et al. Tolerance of young infants to a single, large dose of vitamin A: a randomized community trial in Nepal. *Bull World Health Organ.* 1992;70(6):733-9.
31. Agoestina T, Humphrey JH, Taylor GA, Usman A, et al. Safety of one 52-mumol (50,000 IU) oral dose of vitamin A administered to neonates. *Bull World Health Organ.* 1994;72(6):859-68.
32. Zhu YH, Jiang JG, Chen Q. Characterization of cDNA of lycopene beta-cyclase responsible for a high level of beta-carotene accumulation in *Dunaliella salina*. *Biochem Cell Biol.* 2008;86(3):285-92.