



## Ozonização do sangue sob alta pressão

H C Carvalho<sup>1-2\*</sup>, A B Fernandes<sup>1-2</sup>, C J de Lima<sup>1-2</sup>, L H Moreira<sup>1-2</sup>, H E Giana<sup>3</sup>, R A Zângaro<sup>1-2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Anhembi Morumbi, Centro de Engenharia Biomédica, São José dos Campos, Brasil

<sup>2</sup>Centro de Inovação, Tecnologia e Educação, São José dos Campos, Brasil

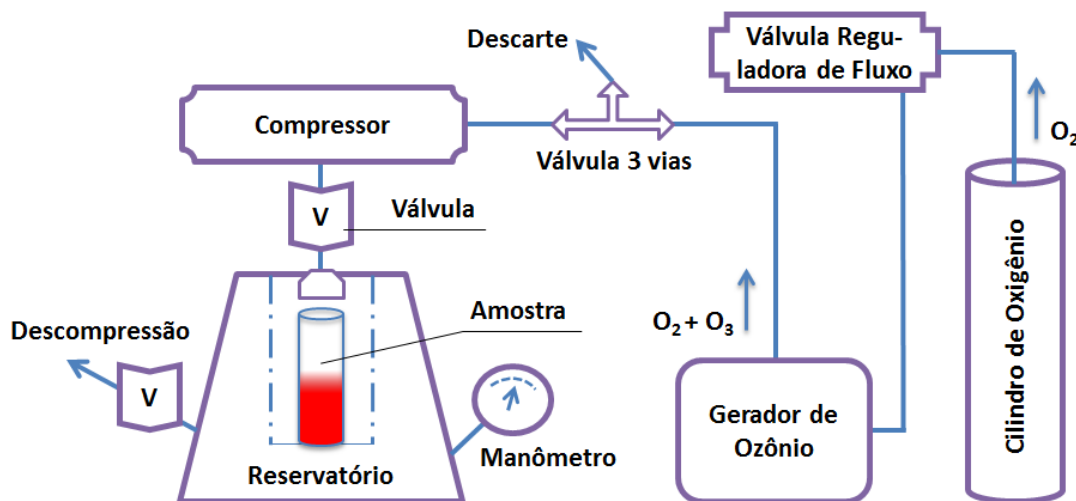
<sup>3</sup>Laboratório Oswaldo Cruz, São José dos Campos, Brasil

\*[hccarvalho.engbio@gmail.com](mailto:hccarvalho.engbio@gmail.com)

**Introdução, Motivação e Objetivo.** A utilização do gás ozônio do ponto de vista clínico vem crescendo atualmente através de inúmeras aplicações, sendo experimentadas e relatadas cientificamente em todo o mundo sob a denominação de ozonioterapia. Uma das aplicações é a ozonização do sangue, e vem ganhando destaque, pois visa induzir uma ativação oxidativa imunomodulatória sistêmica no organismo alvo como também combater os micro-organismos que possam estar presentes no fluido, no entanto, sem comprometer a integridade dos hemocomponentes. Um dos fatores principais para a eficiência das práticas terapêuticas que utilizam gás, como a auto-hemoterapia (procedimento onde o sangue é extraído do indivíduo, ozonizado, e reinfundido ao doador), é a obtenção de um elevado coeficiente de transferência de massa gás-líquido. As modalidades para ozonização do sangue, como a agitação de seringas com gás-líquido, a homogeneização mecânica das amostras, entre outros procedimentos, são muitas vezes subjetivas e ineficientes, principalmente pela baixa transferência de massa proporcionada pelo ozônio (O<sub>3</sub>) ao fluido, muitas das vezes dependente da pressão atmosférica. O presente estudo tem por objetivo aumentar a difusão do O<sub>3</sub> no sangue, e, para tal, estabeleceu-se um arranjo experimental capaz de elevar a pressão atmosférica à que está submetido o fluido sanguíneo visando aumentar a transferência de massa. Nesta fase do estudo as possíveis alterações quantitativas através da concentração dos hemocomponentes serão avaliadas neste protocolo piloto experimental.

**Métodos.** O estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Anhembi Morumbi (parecer: 2.804.126; CAAE: 95144318.0.0000.5492). Foi utilizado o sangue total de um indivíduo masculino, 29 anos, saudável e não fumante; autor deste trabalho (H.C.C.). O sangue foi coletado por um profissional especializado por meio de punção periférica de veia do antebraço direito. Um dispositivo a vácuo (Vacutainer, BD Diagnostics, EUA) ofereceu a interposição do vaso sanguíneo para a coleta nos tubos de vidros com 4mL de capacidade contendo EDTA como anticoagulante, sendo coletado 2mL de sangue em cada tubo. Foram coletados 3 tubos, sendo um para controle, um para oxigenação a alta pressão (controle gás O<sub>2</sub>) e um para ozonização a alta pressão (O<sub>3</sub>). A Figura 1 apresenta o sistema proposto, onde após a coleta sanguínea o tubo tinha a tampa retirada e era imediatamente inserido em um reservatório plástico resistente com 2L de capacidade, sendo sua pressão interior elevada para 2kgf/cm<sup>2</sup> e acompanhada em tempo real por um manômetro analógico acoplado ao reservatório. O aumento da pressão era realizado por um compressor estático de ar livre de óleo (LF-550C, O3Tech, China), utilizado para a compressão do oxigênio medicinal ou ozônio. Os tubos eram submetidos aos gases por 5 minutos cada, a partir da estabilização da pressão em 2kgf/cm<sup>2</sup>. O ozônio era produzido por um gerador de ozônio calibrado (KHT-20GWOA2, DGOzone, China) que oferecia 20g/h. Após a exposição a alta pressão, o tubo era tampado e as amostras mantidas resfriadas até a análise do sangue, sendo esta conduzida por um analisador hematológico automatizado (XT-4000i, Sysmex, Brasil), e realizada em triplicada para cada amostra.

Figura 1. Sistema para ozonização do sangue a alta pressão.



**Resultados.** A Tabela 1 apresenta a concentração dos cinco hemocomponentes avaliados através do hemograma das amostras de sangue na situação controle e submetidas a alta pressão de oxigênio e ozônio. Observa-se na Tabela 1 que a média ( $\Sigma$ ) das concentrações dos gases se manteve estável frente aos valores na situação controle, e com um desvio padrão ( $\sigma$ ) consideravelmente pequeno.

Tabela 1. Parâmetros hematológicos na situação controle e nos gases a alta pressão.

Parâmetro Hematológico	Controle		Oxigênio		Ozônio	
	$\Sigma$	$\sigma$	$\Sigma$	$\sigma$	$\Sigma$	$\sigma$
Leucócitos (mil/uL)	5,98	0,02	6,46	0,12	5,45	0,08
Eritrócitos (milhões/uL)	6,04	0,03	6,00	0,03	6,04	0,03
Hemoglobina (g/dL)	17,86	0,04	17,80	0,06	17,85	0,08
Hematócrito (%)	50,16	0,20	49,90	0,26	50,28	0,29
Plaquetas (mil/uL)	223,00	2,00	220,33	1,11	222,16	8,25

**Discussão e Conclusão.** Com a crescente utilização do ozônio na área da saúde, novas metodologias devem ser propostas de maneira complementar aos processos tradicionais, e que permitam aumentar a eficiência na transferência do gás aos fluidos biológicos. O procedimento proposto revelou que com o oxigênio e na concentração de ozônio e tempo de exposição utilizados não houve alteração frente a condição inicial nos cinco parâmetros hematológicos avaliados, fator este de caráter *in vitro* fundamental para o fluido ser utilizado *in vivo* ou em aplicações como manutenção da qualidade em bolsas de sangue ou insumos que utilizam o sangue como matéria prima. Novos protocolos, que exigirão análise estatística, podem contribuir na investigação dos efeitos nos diversos componentes do sangue, e compostos gerados por uma exposição mais elevada de pressão, um tempo mais longo de exposição ao ozônio e concomitantes as concentrações de ozônio no intervalo da janela terapêutica (10-80mg/L). A análise microscópica da morfologia dos hemocomponentes e os efeitos gerados *in vivo* após uma prática de auto-hemoterapia com este sangue também deverão ser investigados.

**Palavras-chave.** Ozônio; sangue; ozonioterapia; transferência de massa; alta pressão.