

*Curso Post- Encuentro Escuelas de
Ozonoterapia*

5 de junio de 2010

*Bioquímica de la Ozonoterapia /
Bases Científicas del Uso Terapéutico
del Ozono*

L.B.Q. Carla Núñez Lima
Ozonoterapia México

Propiedades físico-químicas del Ozono

Ozono → Derivado del griego “ozen”. Significa “que despide olor”. Es el gas más importante de la estratósfera, alcanzando su máxima concentración por encima de los $1000\mu\text{g}/\text{m}^3$ a una altura de 20-30 km.

Es un efectivo filtro protector contra las radiaciones UV del Sol, que ayudan a mantener el balance biológico en la Biosfera.

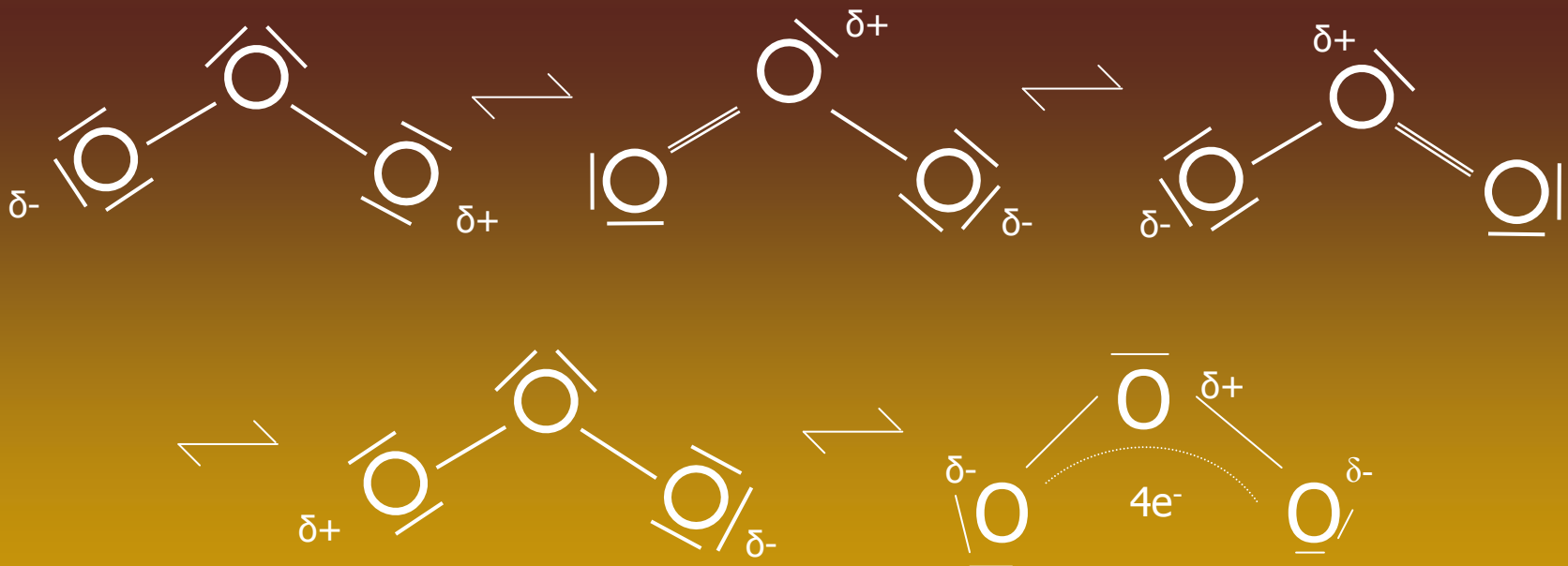
Propiedades físico- químicas del Ozono

Gas de naturaleza inestable, color azul cielo, de olor picante y ácido, perceptible a concentraciones de 0.02 ppm.

Compuesto por 3 átomos de oxígeno (O_3). Sólo superado por el Fluor y el Persulfato ($S_2O_8^{2-}$) en cuanto a poder oxidante.

Propiedades físico- químicas del Ozono

Tiene $8e^-$ en sus orbitales, 4 quedan orbitando entre dos de los átomos de O de la forma angular, formándose la nube e^- (híbrido en resonancia)



Propiedades físico- químicas del Ozono

Principales constantes comparativas entre el O₃ y el O₂

	Ozono	Oxígeno
Punto de ebullición (a 760 mm Hg) (líq-gas)	-111.9°C	- 182.96°C
✓ Punto de Condensación (gas-líq)		
Punto de fusión (sol-líq)	-192.7°C	- 218.4°C
✓ Punto de Congelación (líq-sol)		
Peso Molecular (uma)	48	32
Peso específico en forma líquida a -183°C (kg/m ³)	1.571	1.14
Solubilidad (cm ³) en 100 ml de agua (0°C)	49.0	4.89
	0.02 M	1.5x10 ⁻³ M

➤ En forma líquida y sólida el O₃ es altamente explosivo. Comparándolo con otros agentes oxidantes, es el tercero más reactivo; sólo superado por el fluor y el persulfato (S₂O₈²⁻)

Propiedades físico- químicas del Ozono

- Veloc. de descomposición = 10^5 - 10^6 M⁻¹. S⁻¹
- Tiempo de reacción con la bicapa = 7×10^{-8} seg
- ✓ La reactividad intrínseca de la molécula
- ✓ La accesibilidad con que el O₃ pueda reaccionar con ella
- ✓ La abundancia de esa molécula en el organismo
- δ O₃ = 1.66 (Aire = 1)
- Masa = 1litro de O₃ = 2.14g
1ml de O₃ = 2.14mg
1mg de O₃ = 0.47ml

Reacciones del ozono con compuestos aromáticos

- Han sido menos estudiadas, que con los compuestos alifáticos insaturados, debido a su mayor complejidad y la formación preferente de compuestos poliméricos
- Creciente interés como resultado de la aplicación cada vez más creciente en el tratamiento de aguas residuales, en donde hay elevadas concentraciones de compuestos aromáticos.
- Vel reacción: 10^{-1} - 10^{-2} L.mol⁻¹.S⁻¹
(Menos velocidad está dada por la deslocalización de los electrones en la conjugación de los dobles enlaces)

Reacciones del ozono frente a compuestos orgánicos saturados

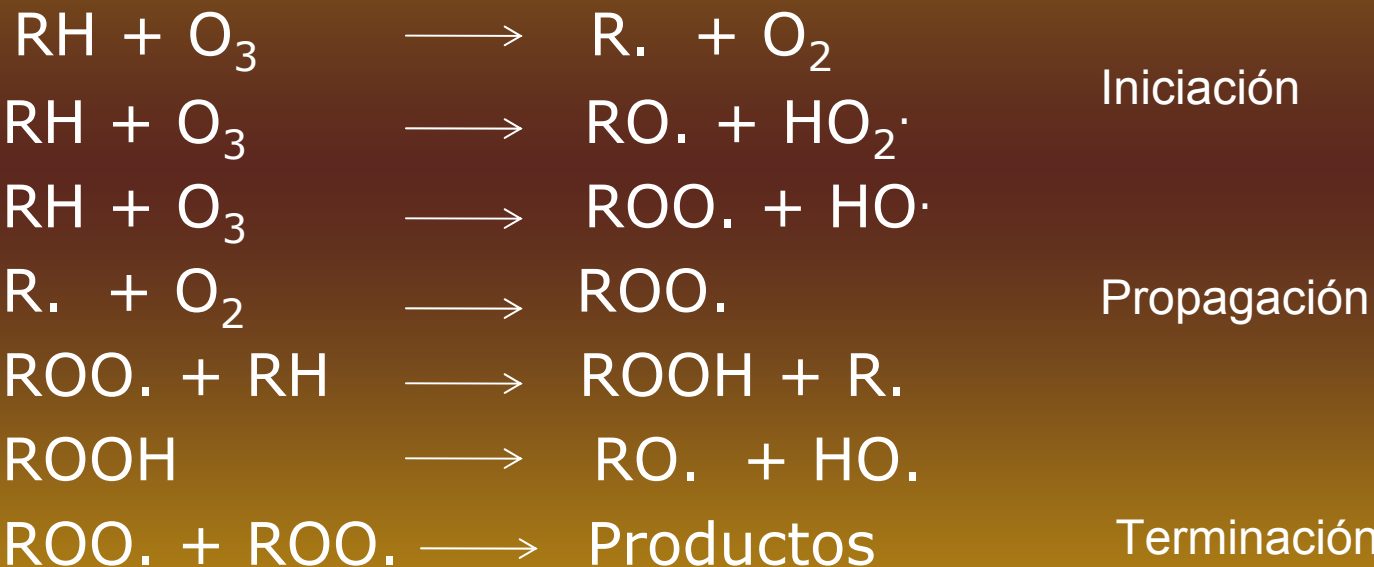
Ejemplos: hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, carbohidratos, ácidos, aminoácidos, etc.

Frente a estos compuestos el ozono reacciona generalmente substrayendo un átomo de hidrógeno en forma de radical, dejando formados otros radicales orgánicos y el radical $\cdot\text{OH}$. Estos radicales, por su parte, inician un conjunto de reacciones de propagación en presencia del oxígeno.

Vel. de reacción: Entre 1000 y 1 000 000 de veces más pequeña que con los compuestos insaturados.

Reacciones del ozono frente a compuestos orgánicos saturados

El mecanismo de reacción del ozono con los compuestos saturados se puede expresar de forma general por el conjunto de ecuaciones siguientes:

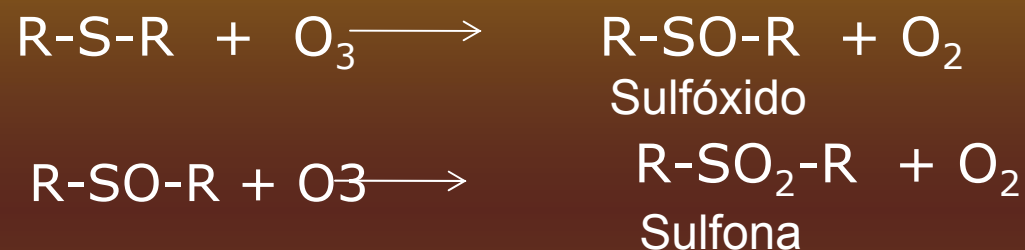


RH: Molécula orgánica saturada con cualquier tipo de función química.

Caso alcoholes: Vel. Reacción: 10^{-1} - 10^{-2} L.mol⁻¹.S⁻¹

Reacciones del ozono frente a compuestos orgánicos azufrados

El ozono reacciona con los sulfuros orgánicos para formar sulfóxidos y sulfonas de la siguiente manera:



El azufre (presente en enzimas y aminoácidos). Entre ellos destacan: cisteína, cistina, metionina.

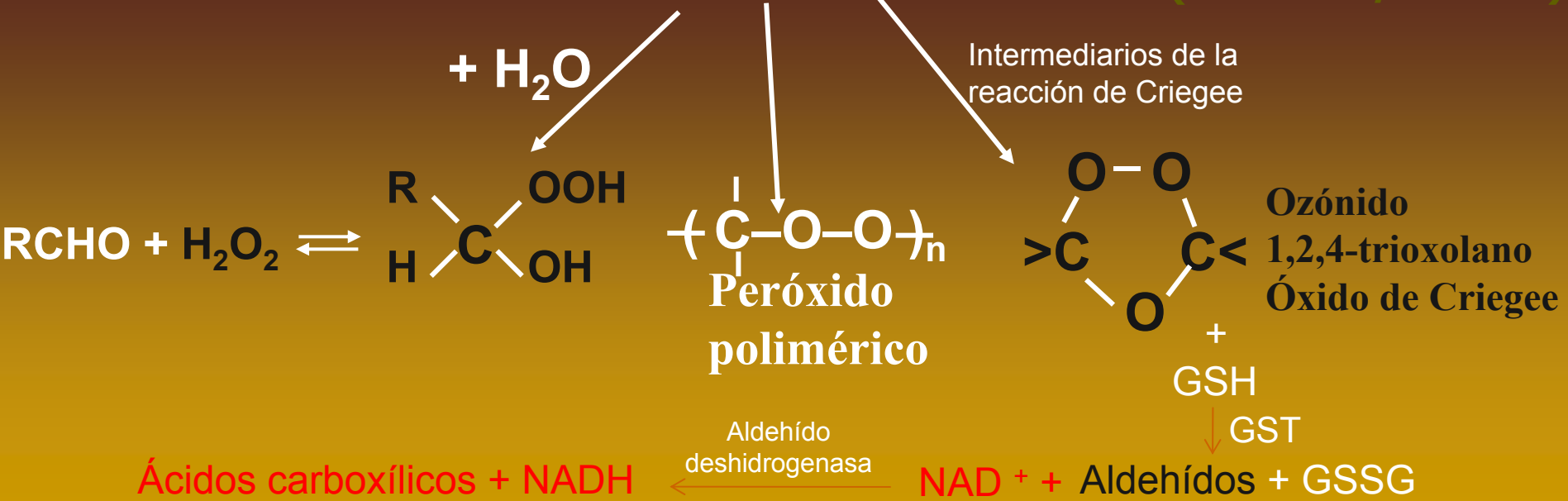
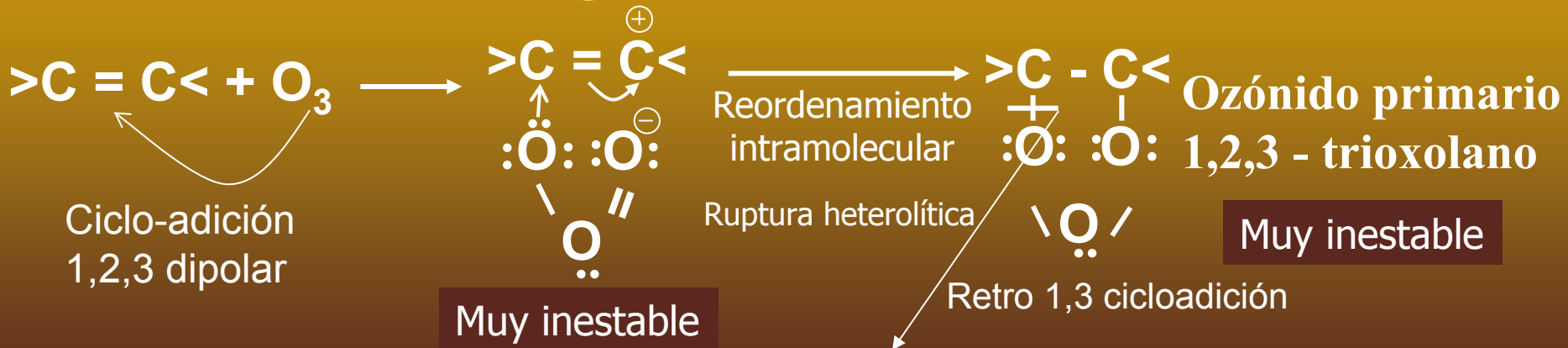
Las constantes de velocidad de reacción entre el ozono y la cisteína, a diferentes PH y en medio acuoso son superiores a $10^4 \text{L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{S}^{-1}$

Efectos biológicos y terapéuticos del ozono

Mecanismos de acción. Aspectos generales.

1. Relacionados con la generación de productos secundarios
 - Interacción con enlaces dobles C=C (plasma y membranas celulares)
2. Reacción del O₃ con ác.grasos P.I. (fluídos y memb. celulares) } peróx, ozónidos, aldehídos
 - En cantidades adecuadas controladas ejercen dif. acciones biológicas y terapéuticas (2^{os} mensajeros, act. de enz., mediadores químicos, mediadores de la respuesta inmune)

Reacción del ozono con ácidos grasos insaturados



Efectos biológicos y terapéuticos del ozono

La reacción del ozono con compuestos como: AO, proteínas, carbohidratos, ag.pi



Fase inicial: A pesar del consumo importante del ozono por los AO del plasma, existe formación de ERO capaces de disparar algunas vías bioquímicas (0.5 a 1min son neutralizadas, convirtiendo al ozono en agua)

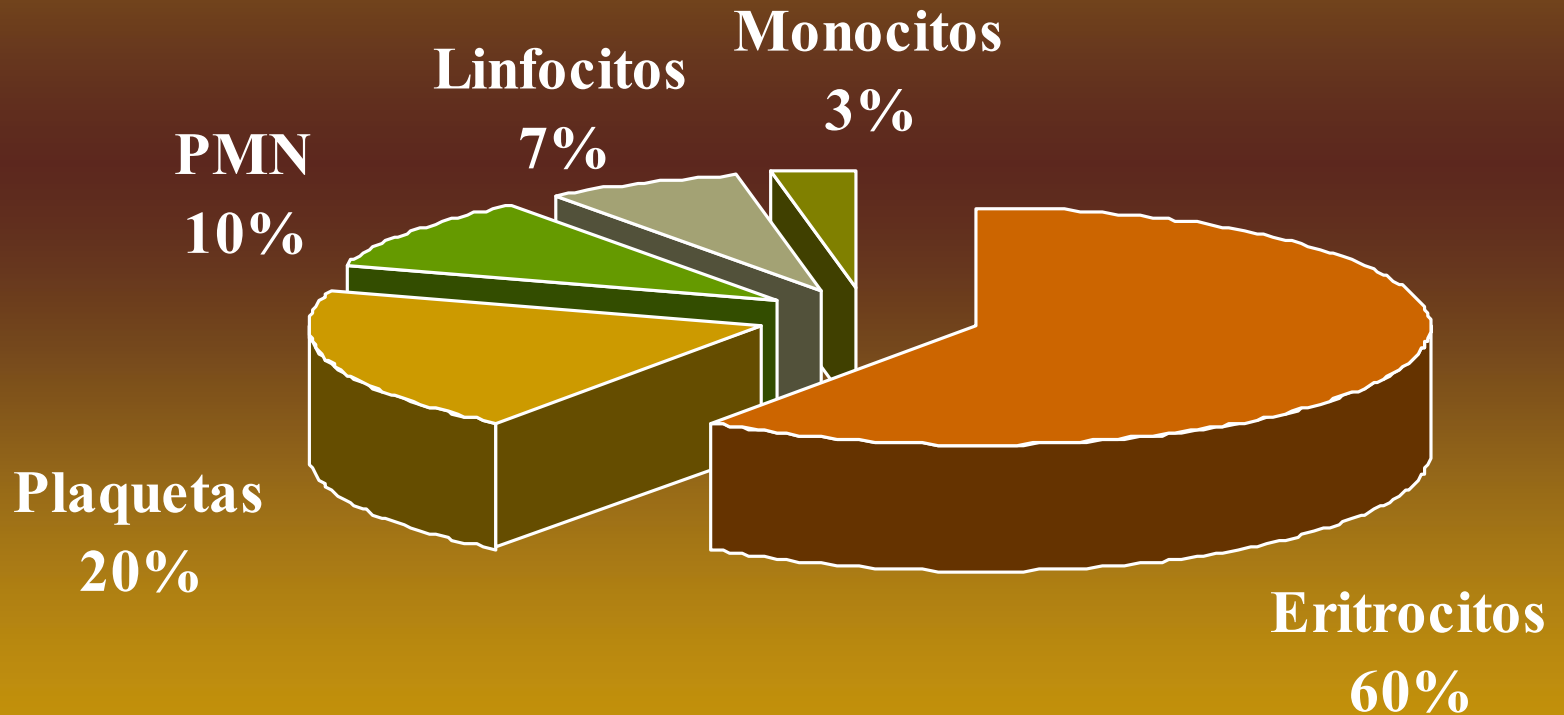
Fase tardía: Donde se forman productos de oxidación lipídica como: ROO., hidroperóxidos (R-OOH), MDA, 4-HNE, H₂O₂. Este peróxido formado y los POL son los responsables de los efectos terapéuticos y biológicos tardíos del ozono.

Efectos biológicos y terapéuticos del ozono



Estos efectos biológicos alcanzan resultados terapéuticos cuando el O_3 es aplicado a las dosis adecuadas y por una vía no dañina.

Componentes celulares de la sangre que reaccionan con el ozono

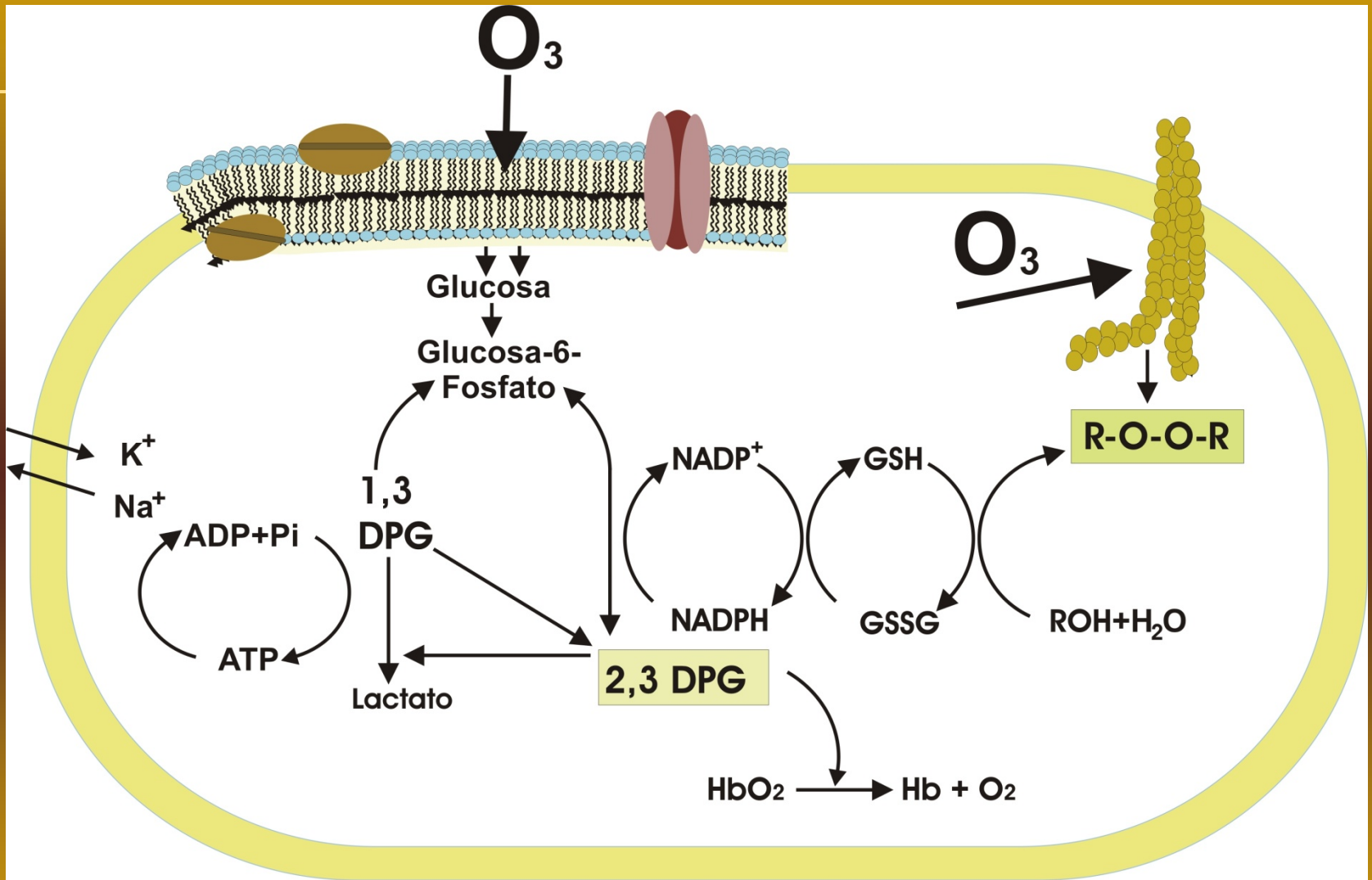


Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

1. Cambio en las propiedades reológicas de la sangre
2. ↑ Vel. de glicólisis en el eritrocito

1.1. Cambios Reológicos

- ✓ Revierte la aglomeración eritrocitaria presente en las enfermedades arteriales oclusivas (mejora las cargas eléctricas transmembrana)
- ✓ Incremento en la flexibilidad y plasticidad eritrocitaria.
- ✓ Favorece el transporte y entrega de oxígeno tisular



Glucolisis Anaerobia: $Glucosa + 2 ADP + 2 Pi \longrightarrow 2 Lactato + 2 ATP + 2 H_2O$

Glucolisis Aerobia: $Glucosa + 8 ADP + 6 H^+ + 8 Pi + O_2 \longrightarrow 2 Piruvato + 8 ATP + H_2O$

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

↑ Glicolisis } ↑ G6PDH

↑ Aporte de NADPH al ciclo de Krebs y a la CTE para promover ↑ defensas AO en los g.r.

↑ 2,3 DPG (↑ sesión de O₂ tisular por la OxyHb)

↑ síntesis de ATP (↑ actividad de las ATPasas transmembranales, manteniéndose el potencial de membrana en reposo)

↑ Intercambio Iónico

↓ Agregación eritrocitaria

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

Se han encontrado incremento en las [ATP] en pacientes con degeneración macular senil (forma atrófica) después de un ciclo de 14 sesiones de MAHT.

□ *Bocci V. Oxygen-Ozone Therapy. A critical Evaluation. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2002: 121-170*

□ *Diadori A, Bocci V, Carraro F, Nuti A, Corradeschi F, Ferrari G et al. Ozonotherapy and age related macular degeneration: a pilot study. In: Ceccherelli F, Giron F, editors. L'Ozonoterapia nel 2000. Torino: Edizioni Libreria Cortina, 1999:33-45*

Viebahn reporta el mismo efecto en pacientes de la Tercera Edad y en atletas, después de O₃R.

□ *Viebahn-Hänsler R. Einfluss auf den erythrozytenstoffwechsel. In: Beck EG, Viebahn-Hänsler R, editors. Ozon-Handbuch.Grundlagen. Prävention. Therapie. Landsberg: Ecomed, 1999:1-15*

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

En un sistema sano, el 2,3 DPG se presenta en las mismas cantidades molares que la misma hemoglobina. Puede deslizarse en el centro de la estructura cuaternaria de la hemoglobina y al mismo tiempo liberar cuatro moléculas de oxígeno:



En el almacenamiento y transfusión de sangre con todos sus elementos el 2,3 DPG juega una parte muy especial y puede tomarse como una medida de la funcionalidad de las células rojas de la sangre (es decir, de la función de transferencia de oxígenos).

A los 10 días: Disminución del DPG en 10% de su valor inicial

A los 30 días: Ausencia de 2,3 DPG, con el consecuente aumento de afinidad del oxígeno por la Hb.

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

Fue posible demostrar la presencia de 2,3 DPG en todas las conservas de sangre cuyo límite final de cuatro semanas se había pasado en forma deliberada, después de poner el ozono en forma de finas burbujas. Después de un período de incubación de tres horas, el contenido de 2,3 DPG no manifestó ningún cambio en ninguna de las cinco muestras, mientras que hubo un incremento considerable en la medición después de 24 horas; cayendo nuevamente sólo en un 20% durante un período posterior de 24 horas (30 µg/ml).

Stryer 1992, Mueller-Eckhardt, 1988.

Este proceso de reactivación en la sangre preservada debe ser de un interés particular en el tratamiento de ésta para su reutilización, ya que la función de transferencia de oxígeno de las células rojas de la sangre, puede ser garantizada inmediatamente después de una infusión de sangre.

Viebahn, 1992.

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

Formación del 2,3 DPG:

Vía glicolítica:



Normalmente los tejidos hipóxicos tratan de liberar mediadores como el factor de hipoxia inducible para corregir la hipoxia local.

Habría que investigar si se liberan estos factores al ozonizar la sangre y cómo actuarían, si favoreciendo la actividad de la 2,3-DPGM o regulando su síntesis e inhibiendo la 2,3 DPGP.

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

- Los POL pueden inducir proteínas de estrés oxidativo, como la hemo-oxigenasa 1 (HO-1)

Cataliza la ruptura del grupo Hemo:

Hemo

→ Biliverdina

→ Bilirrubina

→ AO lipofílico

↓
CO

(las trazas de CO contribuyen, junto a NO a la regulación de la vasodilatación, vía GMPC)

- Snyder SH, Baranano DE. Heme oxygenase: a font of multiple messengers. *Neuropsychopharmacol* 2001; 5:294-8.
- Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Research* 2006; 37: 425-35 .

Efectos del ozono sobre el metabolismo del oxígeno

Hipótesis Bocci (Oxygen-Ozone Therapy. A critical Evaluation. 2002)



"ERITROCITOS SUPERDOTADOS"

Si la hipótesis es correcta, cada día durante el proceso de ozonización la médula creará nuevos glóbulos rojos con características suficientes para satisfacer las vías de biosíntesis y energéticas.

Luego de una separación por gradientes de densidad, Bocci ha encontrado que los eritrocitos jóvenes (más ligeros), contienen más G6PDH, que los más viejos, generados antes de la terapia.

Tal hipótesis concuerda con resultados de trabajos previos.

- Chow CK, Tappel AL. Activities of pentose shunt and glycolitic enzymes in lungs of ozone exposed rats. Arch Environ Health 1973; 26:205-8
- Freeman BA, Miller BE, Mudd JB. Reaction of ozone with human erythrocyte. In: Lee SD, Mudd JB, editors. Assessing toxic effects of environmental pollutants. Michigan: Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, 1979:151-71

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Características fundamentales del Sist. Inmune:

.Especificidad

.Señalización intercelular

.Variedades diversas de funcionalidad de c/ elem.

Diferentes funciones: humoral ó cel
(reguladas por interleuquinas)

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Características fundamentales del Sist. Inmune:

Puede adoptar grandes vías:

TH1 (cel): INF $\beta\gamma$, IL2, 4, 10, TGF β , NK,
macrófagos, cel T

(inmunidad a helmintos, protozoos,
reacciones de rechazo (trasplantes))

TH2 (humoral): IL1, TNF α , Factor estimulador de
colonias de granulocitos y monocitos, IL3,5,8, células
plasmáticas, Anticuerpos y subclases

(Asma, lupus, esclerodermia, artritis reumatoidea)

TH3: TGF, IL 16, IL 17

Se integran e/ sí a partir de IIs (IL 4, IL 10 e INF γ)

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Interleuquinas

- ❖ Existen 22 tipos.
- ❖ Hormonas con función endocrina y exocrina.
 - F. Autocrina (se regulan ellas mismas)
 - F. Paracrina (regulan células vecinas)
 - F. Merocrina (regulan células a distancia)
- ❖ Regulan funciones de órganos y tejidos y producción de Anticuerpos.
- ❖ Regulan proliferación celular
- ❖ Protagonistas de respuesta inmune

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

La Ozonoterapia tiene una acción inmunomoduladora, a través de la síntesis y liberación de Citoquinas Inmunoestimuladoras y/ó Inmunosupresoras

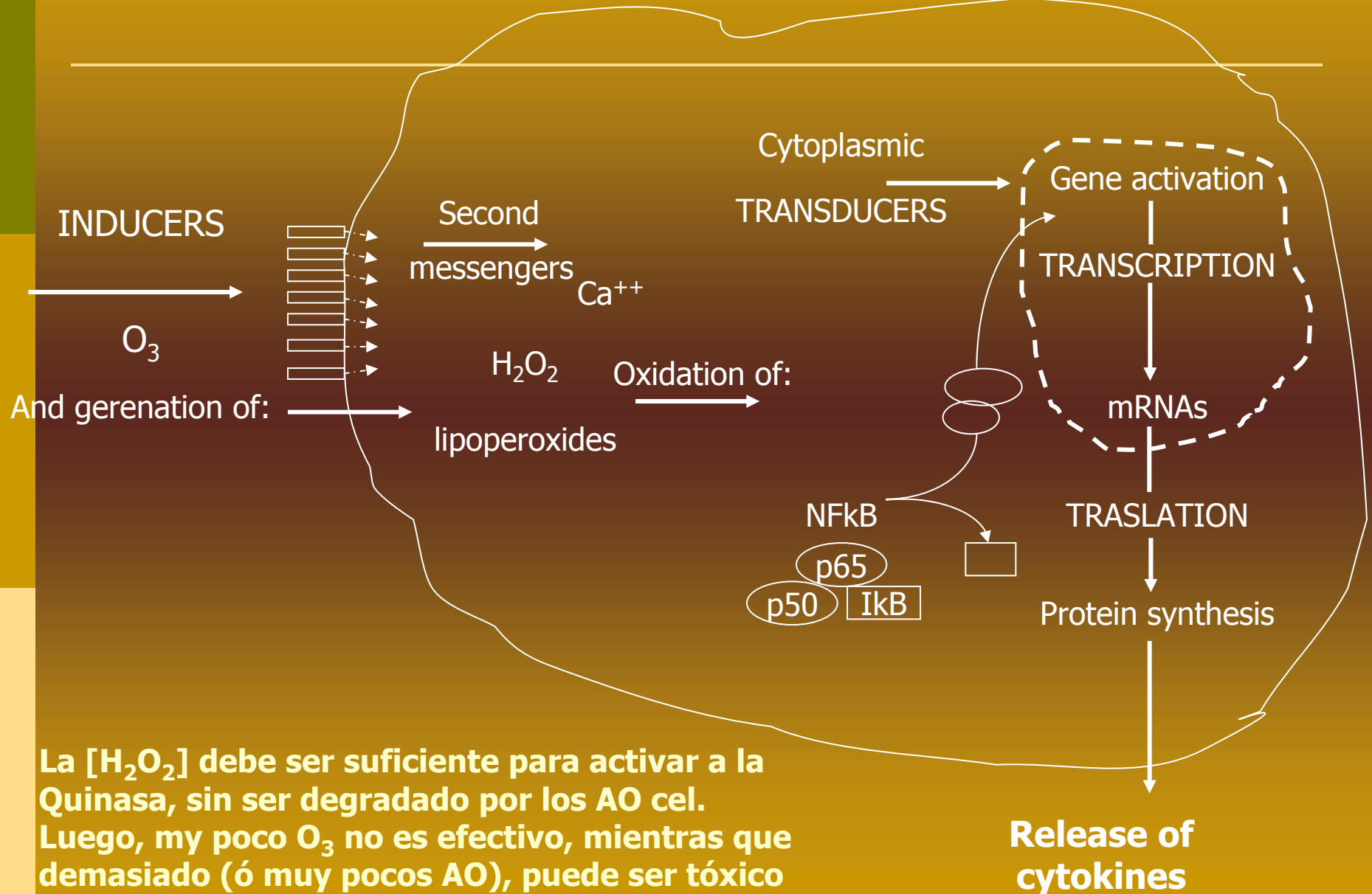
Bocci.V., et al. Lymphokine and citoquine research,
12(2),121,1993

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Se han reportado resultados satisfactorios al aplicar Ozonoterapia, tanto a pacientes con afecciones caracterizadas por una respuesta inmunológica exagerada (enf. autoinmunes); así como a otros con déficit de sus funciones inmunológicas.

Menéndez S., et al. Proc. 12th ozone World Congress Lille France, Vol. Ozone in Medicine, 271,274, 1995

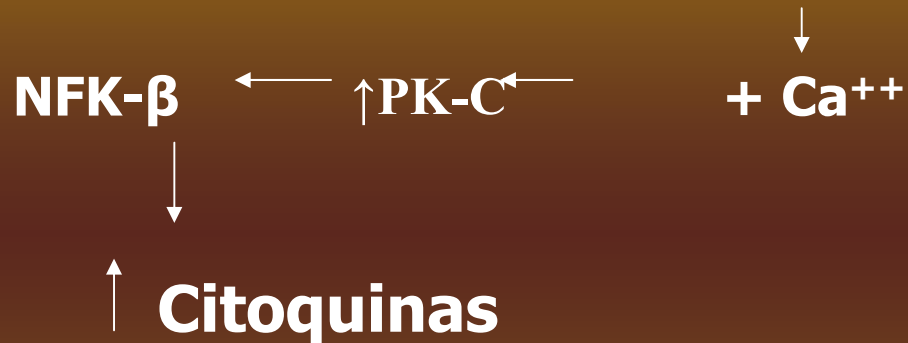
Estudio (esquemático) de la inducción de citocinas a través del ozono en células mononucleares (leucocitos). (Bocci 1996).



La $[H_2O_2]$ debe ser suficiente para activar a la Quinasa, sin ser degradado por los AO cel. Luego, muy poco O_3 no es efectivo, mientras que demasiado (ó muy pocos AO), puede ser tóxico

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

O₃ → Lípidos de memb → Aldehídos, ozónidos,
peróxidos, H₂O₂



IL proinflamatorias: IL1, IL6, IL8, TNF α

IL 5,4,2 → ↑ Cel. Plasmáticas ó Acpos

(proc. Autoinmunes)

IL anti-inflamatorias: IL10, IL 13, IL 2, INF α, γ ,

GTF β (Factor Transformador del Crecimiento β)

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Bajo condiciones controladas, el O₃ es un inductor potente de citoquinas → Respuesta inmune +,
(atóxico, no aterogénico, no tolerogénico)

La acción inmunológica del O₃ está dirigida a:

- Monocitos y linfocitos T → ↑ citoquinas e Interferones
- O₃ → ↓ antagonistas de las citoquinas (IL-10 y TGFβ1) → Supresión citotoxicidad autorreactiva
- O₃ → Estimular genes de activación del INF γ, que al mismo tiempo son genes de represión de la IL 4 → ↓ IgE → Reg. Asma

[O₃] → 10-78 μg/ml



Liberación de IFN β y γ

TNF-alfa

IL 1β,2,4,6,8,10

Factor estimulador de Colonias de Granulocitos y Monocitos (8GM-CSF)

Factor transformador del crecimiento β1

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Inducción de citocinas en sangre por ozono, dependientes de la concentración de ozono (*Bocci 1995*).

[O ₃]µg/ml	IL-1 (pg/ml)	IL-2 (iU/ml)	GM-CSF (pg/ml)	IFN-β (iU/ml)	IFN-γ (iU/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
Control Aire estéril	80 (100%)	0.9	122	0	0.5	8	18
11					1.5	20	22
25					1.0	28	30
42	145 (182%)	1.7	247	22	1.2	23	32
78	160 (200%)	1.8	283	30	2.1	35	52

- La oleada principal de inmuno activación se presenta hasta una concentración de 42 µg/ml. Un incremento posterior en la concentración produce una activación menor.
- El 1er máximo de IFN se observa a los 11µg/ml.
- TNF-α y la IL-6 muestran una moderación elevada a los 25 µg/ml, pero no existe ninguna elevación posterior después de que se alcanzan los 78 µg/ml

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

- Esto confirma muchos años de experiencia empírica ganada durante la práctica general; es decir, que las concentraciones de entre 20 y 40 $\mu\text{g/ml}$ son capaces de hacer una contribución positiva a la inmuno activación. Así, a menudo que se incrementa la concentración inicial, la liberación del IFN- γ también se incrementa alcanzando su punto óptimo de 40 a 60 $\mu\text{g/ml}$, el efecto completo es inverso cuando llegamos al umbral de los 80 $\mu\text{g/ml}$, presumiblemente debido a la elevación del nivel de daño membranal correspondientemente.

O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

También Bocci plantea que la MAHT, bajo un protocolo de 225ml de sangre (más 25 ml de solución de Citrato de Sodio al 3.8%), tratada con 225 ml de gas (O₂-O₃) y [O₃] que van de 20µg/ml hasta 40-50µg/ml, por varios meses (2/sem); luego de cada reinfusión de sangre, un pequeño porcentaje de células inmunes es activado y se aloja en diversos órganos. Éstas, posteriormente, liberan citoquinas en el microambiente en el que se encuentren que, finalmente, activan a las células vecinas y, así, poco a poco, refuerzan la respuesta inmunológica.

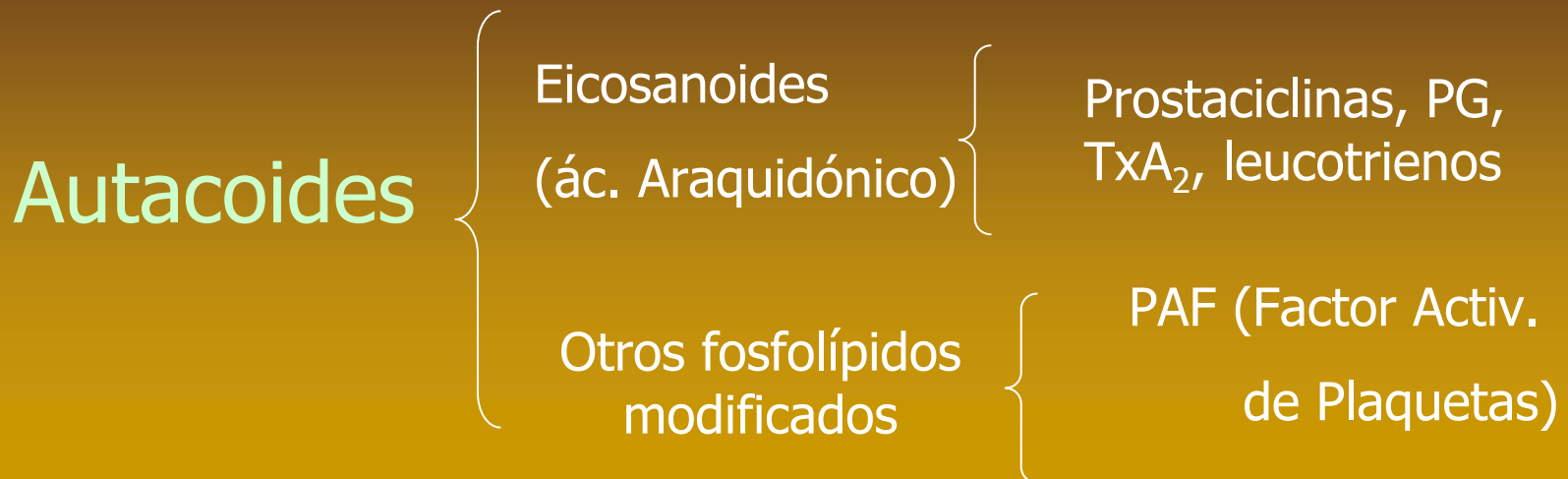
O₃ como agente modulador de la respuesta inmune

Estas mediciones confirmaron también que las concentraciones de ozono superiores a 80 µg/ml están reservadas para aplicaciones tópicas; es decir, para desinfección, limpieza y cicatrización.

Efectos del O₃ sobre la síntesis y/ó liberación de Autacoides

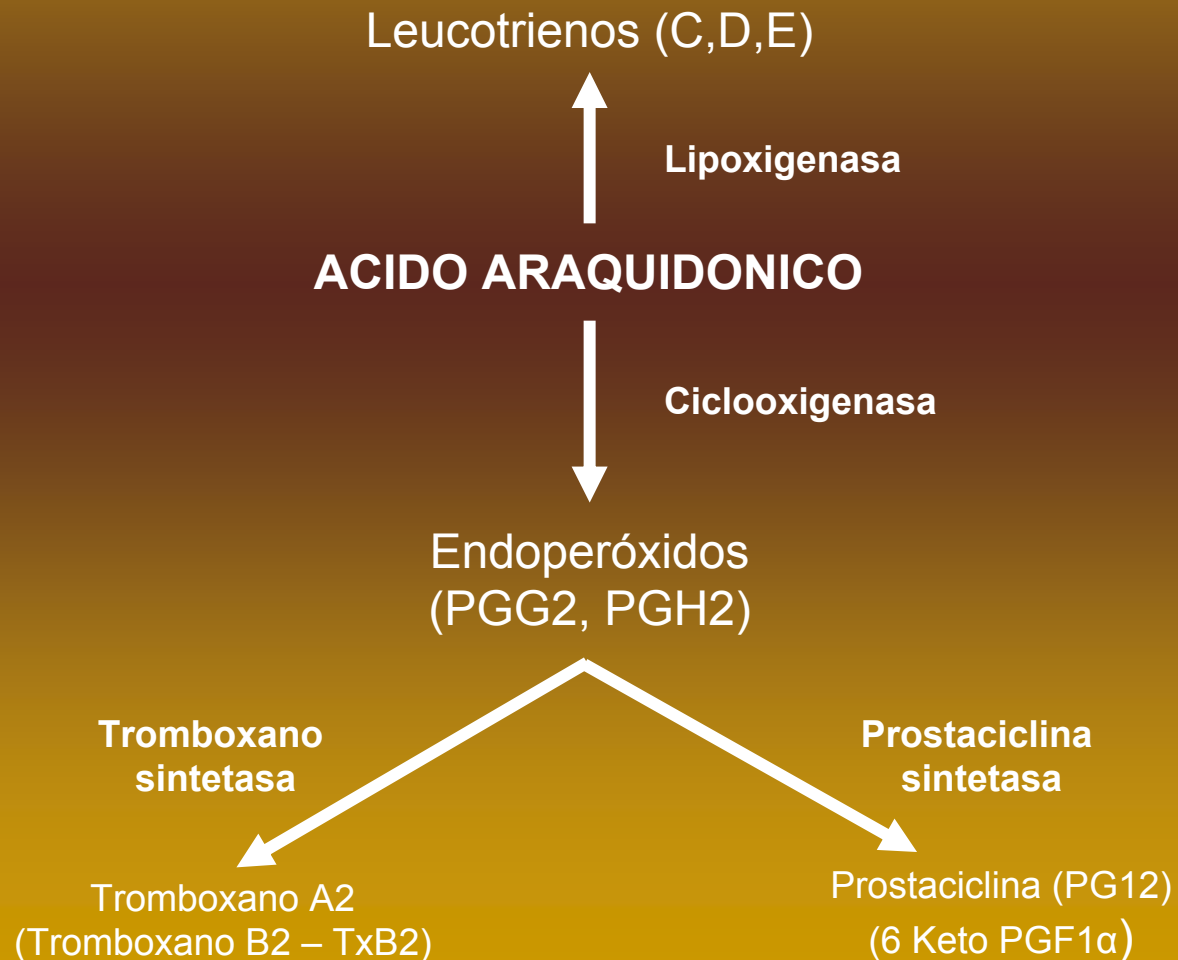
Autacoides: del griego "autos"(propio), "akos"(agente medicinal ó remedio)

Término utilizado para agrupar a cierto número de sustancias endógenas con determinadas acciones fisiológicas y farmacológicas, de vida media muy breve, las que participan en muchos eventos fisiológicos ó patológicos.

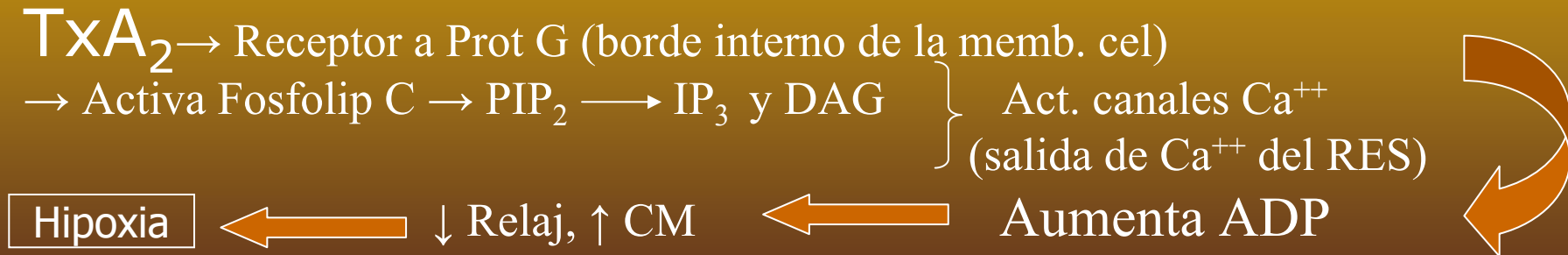


Efectos del O₃ sobre la síntesis y/ó liberación de Autacoides

Tienen lugar en el Retículo Sarco-Plasmático



Efectos del O_3 sobre la síntesis y/o liberación de Autacoides



$Tx A_2$ interviene en la síntesis, segregación y en la adhesión plaquetaria

\uparrow Agregación plaquetaria (\uparrow viscosidad) \rightarrow Flujo turbulento

Potente VC. Promueve CM fibras musculares lisas Reduce la luz del vaso

Amplificadores e inductores de la agregación plaquetaria:

- Endotelio dañado
- ADP
- Trombina
- Adrenalina/Noradrenalina
- Factor agregante plaquetario

Hipoxia

Prostaciclina (6KetoPGF1 α)

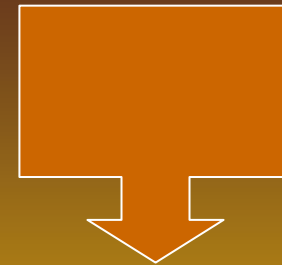


Efectos vistos en cáncer de próstata, shock séptico y accidentes vasculares encefálicos (Alemania)

↑ Guadenilato ciclasa

↓
↑GMPc (impide segmentación de ATP)

↓
No E suf. para que se de unión a-m
(se desfosforila la miosina y pierde afinidad por la actina)



Relajación

Efectos del O₃ sobre la síntesis y/ó liberación de Autacoides

Estudios Cuba

- ❑ Pacientes (O₃R, 4 mg dosis). 20 sesiones con ≠ Enfermedades
- Asma bronquial
- Atrofia del nervio óptico
- Demencia senil
- Glaucoma
- Osteoartrosis
- Pacientes post infartados (infarto de miocardio agudo)
- Pacientes con Accidente Vascular periférico
- Pacientes quemados
- Diabetes

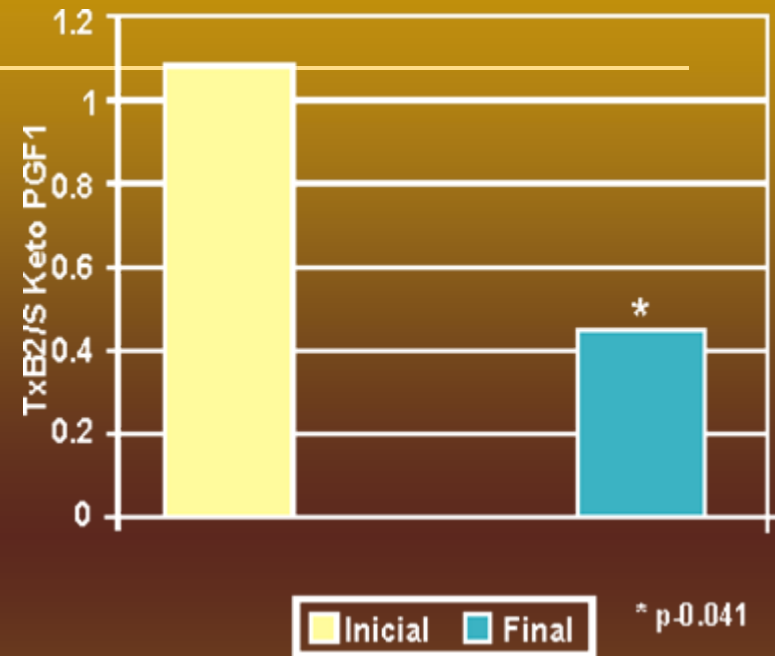
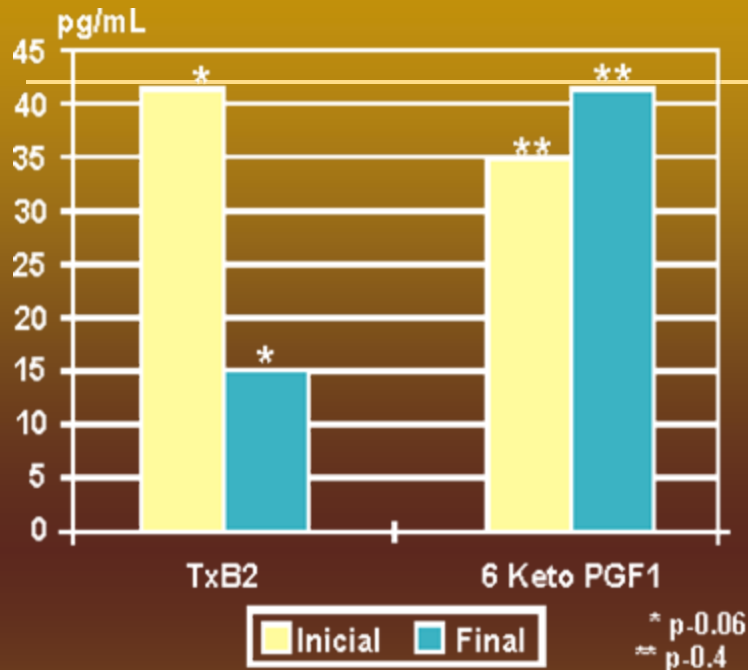
(se evidencia igualmente en pacientes con tromboangeítis obliterante, en eventos de I/R, pacientes con glomérulo nefritis, enfermedad renal crónica, entre otros; así como en estudios pre clínicos en animales)

Método: medición sanguínea de TxB₂ y TxB₂/6- ketoPGF1 α ,
antes y después de O₃Tx

López R, Cabezas O, León, OS. Efecto profiláctico del ozono sobre los niveles de calcio y otros mediadores del estrés oxidativo en fracciones subcelulares hepáticas e influencia de los eicosanoides sobre el preconditionamiento oxidativo .

Memorias del 3er. Simposio internacional de Aplicaciones del Ozono; 2000,27-30 de junio; C. Habana, Cuba.

Efectos del O_3 sobre la síntesis y/o liberación de Autacoides



Resultados:

↓ TxB₂ y TxB₂/6ketoPGF₁, significativamente

(la 6 ketoPGF₁ mide la PG₁₂(vasodilatadora)) → ↑ PG₁₂

Los metabolitos del Ác. Araquidónico → Músculo Liso → ↑ flujo vascular

Tener en cuenta medición del tiempo de Protrombina antes, durante y después del tto.

ESTOS RESULTADOS SON DE LOS MÁS BRILLANTES DE LA OZONOTERAPIA Y SE EVIDENCIAN EN TODOS LOS PACIENTES TRATADOS. EXPLICA MÁS DEL 50% DE SUS EFECTOS BENEFICIOSOS

Concluyendo:

El principal papel de la Ozonoterapia está en mantener el adecuado balance biológico de estos eicosanoides, dado que estos dependen e influyen en una gran variedad de eventos del organismo humano.

El O₃ como regulador metabólico

Esta acción está sustentada en múltiples observaciones clínicas, en estudios bioquímicos realizados en pacientes tratados con O₃ con diferentes patologías.

Parámetros metabólicos estudiados:

Glucosa, creatinina, Hb, Hto, Prot. totales, DHL, lipoproteínas, colesterol, triglicéridos, enzimas hepáticas, bilirrubina, ác. úrico y algunos oligoelementos.

León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Pérez L et al. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. Med Inflamm 1998;7:289-94

Al-Dalain SM, Martínez G, Menéndez S, Re L, Giuliani A, Candelario -Jalil E et al. Therapeutic efficacy of ozone medical treatments in patients with diabetic foot. Eur J Pharmacol 2005;523:151-61

El O₃ como regulador metabólico

Modelos: Pacientes con Retinosis Pigmentaria
Pacientes con insuficiencia arterial
Pacientes con cardiopatía isquémica.

Parámetros medidos:

. Colesterol total; .HDL; .LDL; .TG

(se midieron antes, durante y después de 15 sesiones de tto con MAHT, 5mg dosis)

Resultados:

Pacientes arteríticos: ↓ del Col Total de 11.8%

HDL no cambios

↓ TG del 46.1%

Pacientes con Retinosis: ↓ Col total de 14.8%

↓ TG del 49.5%

Hernández F., et al.

La Ozonoterapia endovenosa y los lípidos sanguíneos de pacientes arteríticos y con Retinosis Pig.

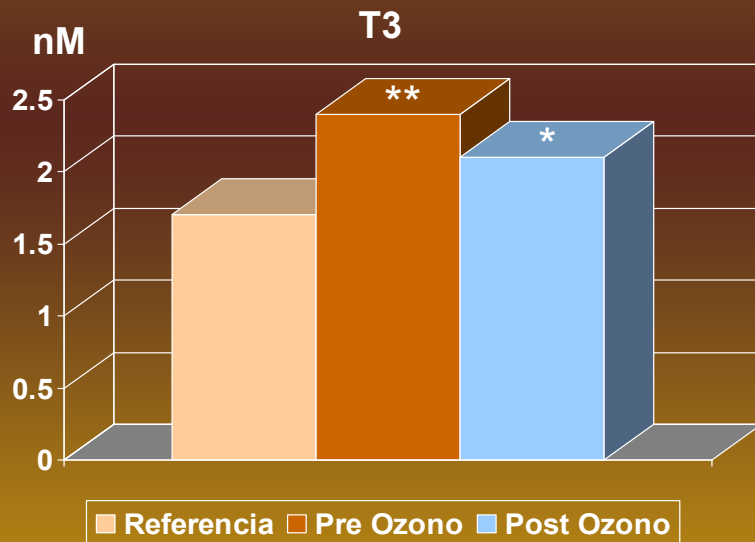
1er Congreso Inter. De Aplicaciones del Ozono. C. Habana, Libro de Resúmenes, 12,1990

El O₃ como regulador metabólico

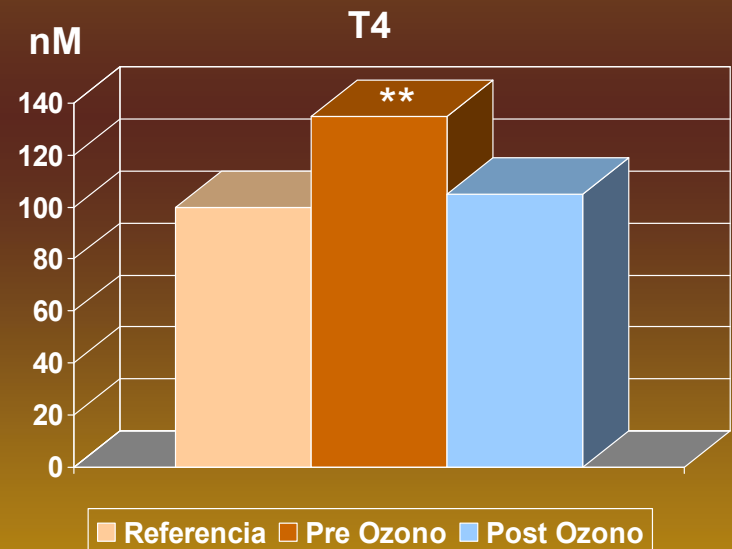
Modelo: 500 Niños con discapacidad auditiva (20 O₃R).

[O₃]:40µg/ml / Vol: 50-150ml (estudio a 5 años)

Parámetro	Antes O ₃	Después O ₃
T ₃ y T ₄	Valores ↑ normal	Normales



* p<0.05
** p<0.01



** p<0.01

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

1er efecto biológico que se detecta de la Ozonoterapia (1a GM).

O₃ → Acción germicida de amplio espectro (bactericida, virusida y fungicida)

- ✓ Limpieza y desinfección de heridas infectadas y procesos sépticos locales
- ✓ Puede ser combinada con O₃Tx sistémica, aceites veg. ozonizados, curas locales con H₂O ozonizada.
- ✓ Sin resistencia microbiana, toxicidad o efectos secundarios
- ✓ Acorta los procesos curativos en infecciones que evolucionan lentamente (semanas ó meses)

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

Mecanismo de Acción Germicida

a) *Sistémica*: 1) Formación de peróxidos y ERO

Potencian la acción defensiva normal del organismo



Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. Am J Med 2000; 109:33-44

2) Modulación del Sist. Inmune

Mediado por
Citoquinas



Bocci V. Oxygen-Ozone Therapy. A Critical Evaluation. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2002:121-170

b) *Local*: Inactivación del microorganismo, por ruptura oxidativa de sus membranas.

Viebahn R. The biochemical process underlying ozone therapy. OzoNachrichten1985;4:18-30.
Viebahn R. The Use of ozone in Medicine . 3rd English ed. Iffezheim, Germany:ODREI-Publishers,1999:95-119

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

O₃ → virus, hongos, bacterias, protozoos, helmintos, clamidea, etc → Barre con todo el espectro microbiológico

Efecto directo del O₃ en virus

Virus → Se introducen a la cel a través de receptores.

Ej R. viral: N- acetil Glicosamida (grupo N, =, grupo cetona)

O₃ → Modificación estequiométrica del R. → No recon. viral

(si virus desenvuelto, se plantea que puede atacar directamente a la cápside; pero esto no se ha demostrado bien aun)

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

Efecto indirecto O₃ en virus

A través de IL:

O₃ → NFK-β → ↑ sínt. de INF_{α,γ,β}



Bloqueo paso 3 de la replicación viral

(ensamble virus-célula)

O₃ → Estimula cél. plasmáticas para producir Anticuerpos

↙ Estimula Fagocitosis por macrófagos

De ahí importancia del O₃ para tto de hepatitis C, B, A e incluso, para inactivar VIH (pruebas in vitro).

ES IMPORTANTE IR ESCALONANDO DOSIS, DE BAJAS A MEDIAS Y ALTAS, PARA LOGRAR FINALMENTE EL EFECTO GERMICIDA, UNA VEZ QUE ESTOS PACIENTES, GENERALMENTE ESTÁN EN FRANCO ESTRÉS OXIDATIVO.

Propiedades germicidas del O_3 .

Su empleo en Medicina

Bacterias

```
graph TD; Bacterias((Bacterias)) --> EfectoDirecto[Efecto directo]; Bacterias --> EfectoIndirecto[Efecto indirecto];
```

Efecto directo

Actuando a nivel de membrana cel

Creando estrés oxidativo (H_2O_2 , alcohiperóxidos, etc), que la bacteria no puede combatir.

Ataca grupos SH, tiólicos.

Afección mitocondrial

Destrucción del genoma bacteriano

↓ ATP

Efecto indirecto

Estimula fagocitosis por macrófagos

Contribuye a la presentación de antígenos que reconocen los macrófagos

Se destruye la bacteria y macrófago se la presenta a las Cel T

Estimulador de neutrófilos, ILs (factor estimulador de colonias de g.b y de monocitos) → fagocitosis

Propiedades germicidas del O₃.

Su empleo en Medicina

Helicobacter Pílori (trabajos recientes en Cuba)

Bacteria relacionada con el empeoramiento y aparición de las úlceras pépticas y la gastritis.

Tto habitual:

Toxiciclina (interviene en la síntesis de la subunidad 50 ribosomal)

Metronidazol (desestabiliza el DNA del código genético de la bacteria)

Omeprazol (inhibe la bomba de protones)

Erradicación del parásito

Tto recomendado: O₃R (indirecto) + Aceite ozonizado (efecto directo)

Test de Ureasa ó cultivo directo: se detecta la bacteria

Propiedades germicidas del O₃.

Su empleo en Medicina

¿Qué sucede con las bacterias inherentes de la flora intestinal?

Dado que muy difícil seguir la farmacocinética del ozono, por su exacerbada reactividad, podemos inferir hipotéticamente que su capacidad de no reacción con la flora intestinal (a bajas dosis; menores de 40µg/ml) está determinada por factores como:

- ❖ Es reconocida como propia
- ❖ Localización: Las bacterias de la flora intestinal están rodeadas de mucosas, vasos sanguíneos, microvellosidades, nervios, enzimas, entre otras. No están expuestas directamente al ataque del ozono.
- ❖ Depende de la actividad intrínseca de la molécula (tienen menos Cys en su estructura).
- ❖ Estudios toxicológicos hechos en ratas, conejos, perros y en el humano, corroboran este hecho (tubo digestivo, aparato faríngeo, aparato bronquial), llegando a dosis hasta 10 veces por encima de las terapéuticas.

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

Protozoos (G. lamblia, euglena, ameba)

Acción indirecta

Estimulando circulación entérica
Estimulando secreción de Acpos.
Estimulación cel T, cel plasmáticas, macrófagos.
↑ IgA secretora (protectora de la mucosa tubo dig.)

Acción directa

Ectoplasma de G. Lamblia se deforma, se vuelve pálido (disco suctorial)



Estructura a la que se ancla el enterocito



Diarreas, hemorragias, Síndrome de mala absorción, enteritis, etc

El O₃ es efectivo para Giardiasis, amebiasis e inmunodeficiencia intestinal

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

Helmintos

(Nemátodes. Ej: necator americano, oxiuros, etc)

El O₃ actúa frente al huevo y frente al parásito adulto

Se ha visto en ensayos de lab. que actúa aumentando la respuesta inmune humoral

Tto recomendado: O₃R ó MAHT, combinados con aceite O₃

Caso aceite: en cápsulas ó gotas (20 gotas en ayunas, 20 gotas 3hrs después de la última comida)

Oxiuros → Aceite O₃ → 3 días (noche) y descansar 5 días. Repetir.

Propiedades germicidas del O₃. Su empleo en Medicina

Hongos (Cándida albicans,
epidermofitum (epidermofitosis), tricofitum (tiñas))

Acción directa

Aldehídos, peróxidos, H₂O₂ → Abren poros al hongo, que terminan matándolo por diferencia osmótica.

Se activa complemento (C9), porina.

Se ha comprobado que, a mayores concentraciones de O₃, aumenta % de inhibición de crecimiento fúngico.

De ahí la eficacia del O₃ para el tto de la candidiasis intestinal, la candidiasis vaginal y la candidiasis oral, para la epidermofitosis (escamosa, vesiculosa, interdigital macerada), tiñas, etc.

Ozono como agente modulador del estrés oxidativo

Estrés oxidativo

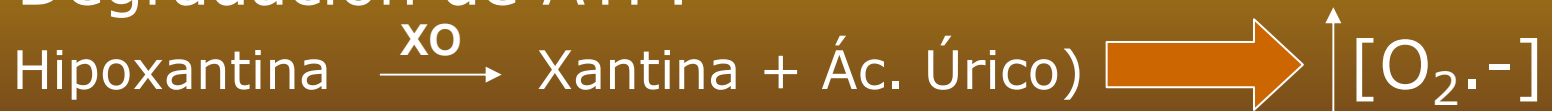
Estado caracterizado por el DESBALANCE que se establece entre las especies AO cel y las pro-oxidantes; donde el equilibrio de desplaza hacia la formación de especies Oxidantes.

Fuentes biológicas de formación de ERO

- ❖ Neutrófilos → ↑[NADPH oxidasa]. El H_2O_2 en presencia de Fe, se oxida y se reduce, generando $OH\cdot$ -
- ❖ Mitocondrias → O_2 se acopla a CTE (acepta $4e^-$), donde se evidencian consecutivas reacc. REDOX, con *liberación radicalica*. Regularmente entre 2-5% de los e^- transferidos a lo largo de la cadena no completan la cascada de transporte, y son producto de una reducción monovalente, de un solo electrón, resultando un RL de cada electrón impar, dando lugar a la formación de compuestos parcialmente reducidos, generalmente el temido *anión superóxido*, capaz de desencadenar reacciones de elevada toxicidad.

Fuentes biológicas de formación de ERO

❖ Degradación de ATP:

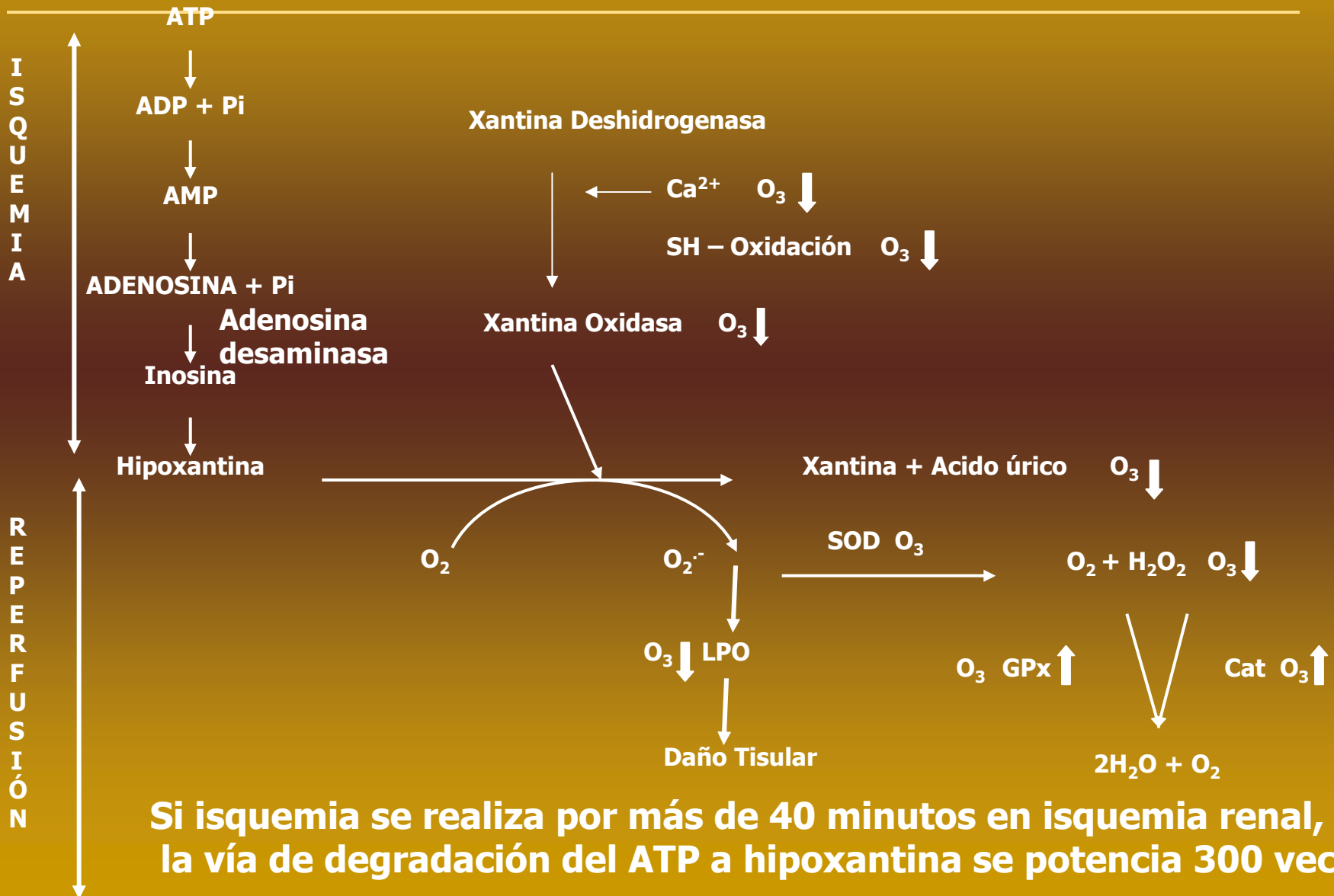


(XDH usa NADP^+ como aceptor e^- ; pero en condiciones patológicas, ante un exceso de Ca^{++} intracelular, las proteasas la convierten en XO, que usa O_2 molecular como aceptor de e^-)



❖ Peroxisomas $\rightarrow \uparrow [\text{Catalasa}] \rightarrow \uparrow [\text{H}_2\text{O}_2]$

Modulación del estrés oxidativo (ensayos preclínicos (Cuba))



Si isquemia se realiza por más de 40 minutos en isquemia renal, la vía de degradación del ATP a hipoxantina se potencia 300 veces

Fuentes biológicas de formación de ERO

- ❖ **Fagocitosis:** Macrófagos → ↑ [mieloperoxidasa] → Convierte el NaCl en Ác. Hipocloroso (HClO). También contribuye al ↑ $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , óxidos de Nit.
- ❖ Síntesis de Prostaglandinas a partir del Ác. Araquidónico → ↑ [OH.]
- ❖ Hidroquinonas, leucoflavinas, catecolaminas, ferredoxina reducidas → Se oxidan espontáneamente → ↑ $O_2^{\cdot-}$

Fuentes biológicas de formación de ERO

- ❖ La hemoglobina y mioglobina al ser convertidas en metahemoglobina y metamioglobina \longrightarrow Lib. lenta $O_2^{\cdot-}$
- ❖ La reducción univalente de Oxígeno molecular por Fe^{2+} , Co^{2+} y Ni^{2+} , cuando estos iones están coordinados a ligandos específicos, tales como oligopéptidos sencillos $\longrightarrow O_2^{\cdot-}$

Fuentes exógenas de formación de ERO

- ❑ Xenobióticos (benzopirenos, quinonas, pesticidas, fungicidas, etc)
- ❑ Humo del cigarro → Óxidos de nitrógeno
- ❑ Componentes de la dieta (sales de hierro y cobre, compuestos fenólicos)



Producción de oxi-radicales, vía reacción de Fenton.



- ❑ Radiaciones
- ❑ Hiperoxia

Ozono como agente modulador del estrés oxidativo

La producción de ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) :

- Parte del metabolismo biológico normal
- Necesario para el adecuado funcionamiento de una serie de procesos vitales (Ej: fagocitosis, mediadores químicos, señalizadores, 2^{os} mensajeros, activadores enz.)
- Su incremento está asociado estrechamente a la patogenia de una amplia gama de padecimientos y al envejecimiento
- Compuestos de acción rápida (vida media menor a 1 seg)

Daños mediados por ERO

- ❑ Peroxidación de lípidos celulares (poli-insaturados preferentemente)
- ❑ Alteración de aminoácidos estructurales
- ❑ Alteración de proteínas funcionales
- ❑ Alteración del metabolismo celular
- ❑ Daño neuronal presente en determinadas enfermedades degenerativas del SNC; así como en la Diabetes Mellitus

Daños mediados por ERO

- Ruptura de cadenas de ADN y daño a sus bases nitrogenadas (el H_2O_2 es el que mayormente daña al ADN (aldehídos también; pero estos tienen su función biológica, que no les permite estar a muy altas conc.)

H_2O_2 → Daña a las histonas (prot. básicas) que rodean al DNA → Le brindan protección y el medio que requiere para su buen funcionamiento. Atacan al N de las bases nitrogenadas.

Asma bronquial: ERO producen injuria tisular, que provoca contracción del músculo liso, incremento de la permeabilidad vascular, respuesta bronquial exagerada y liberación de mediadores de la inflamación.

Especies Reactivas de Oxígeno y Nitrógeno *(ERO / ERN)*

1. Radical hidroxilo (OH.)
2. Anión Superóxido ($O_2^{\cdot -}$)
3. Óxido nítrico (NO.)
4. Lipoperóxidos (ROO.)

0.02pmoles/cel/día
ó 0.15 mol en todo
el cuerpo

Radicales

Libres

(electrones
desapareados
en su último
nivel de E)

1. Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2)
2. Oxígeno singlete (1O_2)
3. Ácido hipocloroso (HClO)

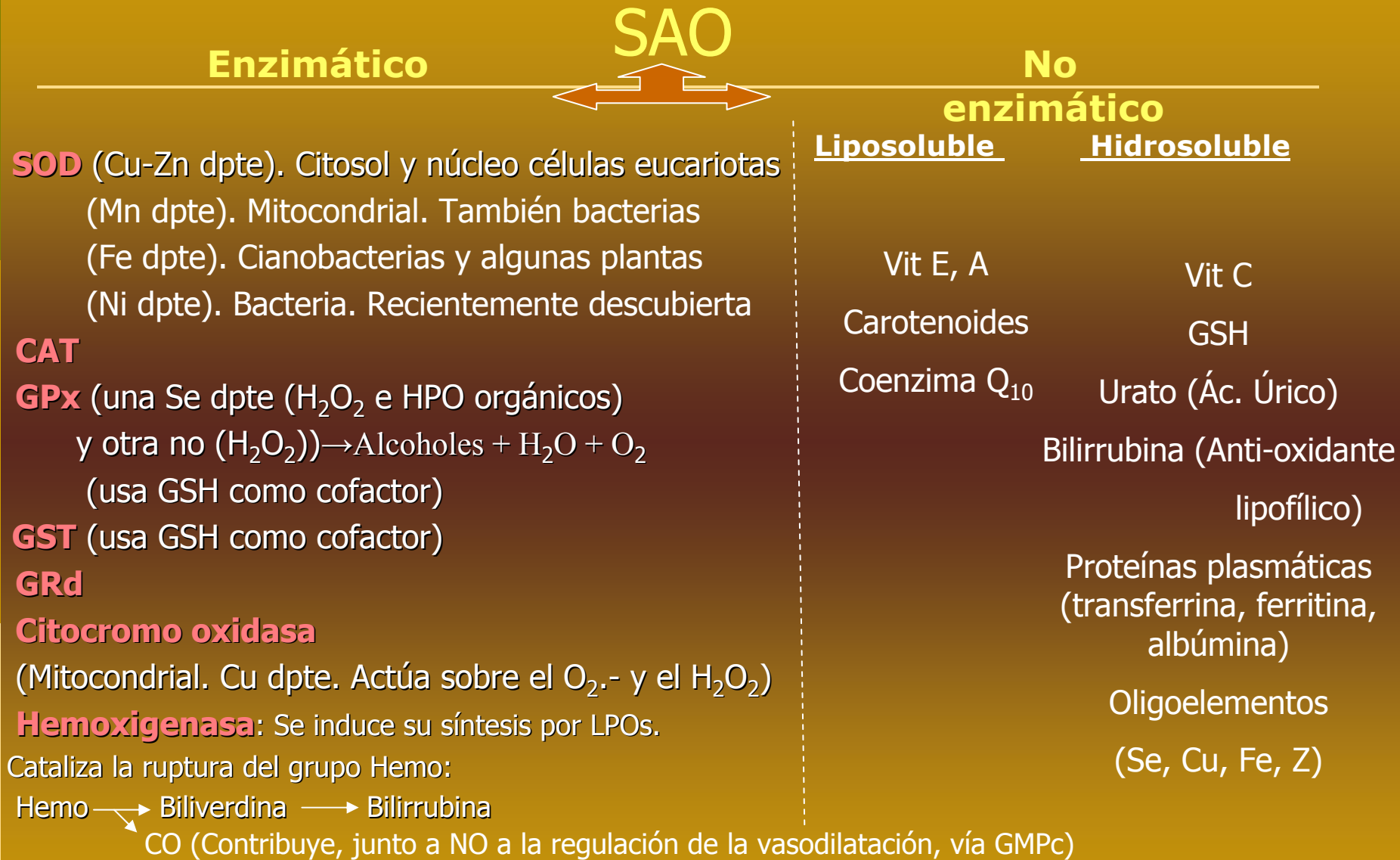
Especies no
Radicálicas

Especies reactivas de Nitrógeno

NO. (Óxido nítrico)

$O=NOO^-$ (Peroxinitrito)

Sistemas Antioxidantes y ERO



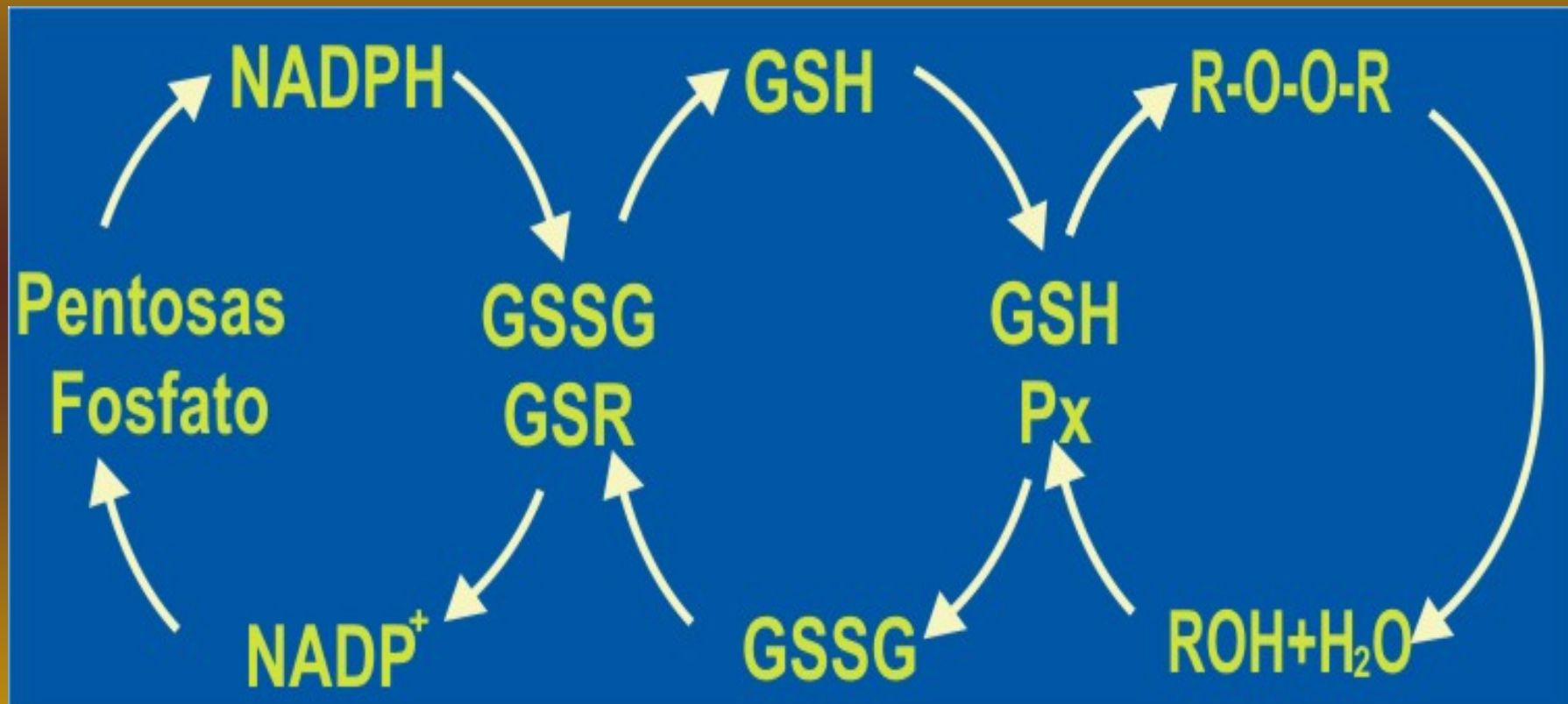
La excesiva producción de ERO y/ó una inadecuada defensa AO, provocan acumulación de ERO → Lesiones tisulares → Desarrollo de patologías

Sistemas Antioxidantes y ERO

En la aplicación sistémica de ozono en las células rojas de la sangre, el sistema de protección oxidativa responde inmediatamente lo cual puede verse como el primer factor limitante de dosis. Con el fin de activar las enzimas antioxidantes, una concentración de peróxidos o de ozono bajas se necesita.

El rango de estimulación efectivo es por debajo de los 40µg/ml , aunque el que parece ser el nivel óptimo se alcanza entre los 10 y 30 µg/ml.

Sistemas Antioxidantes y ERO



SAO (Sist. de Defensa AO)

SOD



↓ CAT



✓ Reacción de Haber- Weiss:



✓ Reacción de Fenton:



Reacción catalizada por metales de transición, como el Hierro y el Cobre:



Nota: estas enzimas están reguladas genéticamente a través factores externos que aceleran la expresión genética.

□ O_2 , O_3 , esteroides,

Modulación del estrés oxidativo

(ensayos de laboratorio (Cuba))

O₃tx y PRECONDICIONAMIENTO OXIDATIVO (Isquemia- Reperusión Hígado). Ratas.
(Arteria hepática se ocluyó 90' (Isquemia lóbulo derecho 90') + Reperusión 90').

¿A qué patologías se asocia en el humano?.

- Shock hipovolémico
- Shock séptico
- Shock tóxico
- Insuficiencia cardíaca
- Paciente quemado
- Cardiopatía isquémica
- Enfermedad cerebral isquémica y hemorrágica
- Trasplantes
- Entre otras

Isquemia: Disminución del flujo sanguíneo a nivel tisular en un tiempo dado (Segrega ATP, crea PH ácido (acidosis láctica), el núcleo experimenta cambios, se derivan ERO, etc)

Reperusión: Entrada de sangre a un tejido de manera desordenada a un tejido u órgano, que fue previamente isquemizado.

(Proceso muy dañino igualmente. Reentrada masiva del calcio al citoplasma y sus consecuencias)

Modulación del estrés oxidativo

(ensayos de laboratorio (Cuba))

3 grupos de estudio con 6 animales c/uno:

- Control: Sano
- Grupo de I/R
- Grupo I/R (pero que recibieron 10 ttos de O₃R previos). Dosis 1mg/kg peso.

Se pretrataron los animales y, al día siguiente de inducirles el daño, se hacen las mediciones de parámetros a analizar.

Modulación del estrés oxidativo (ensayos de laboratorio (Cuba))

Parámetros bioquímicos	Control	I/R	Ozono + I/R
ASAT *= TGP (U/L)	39.5 ± 2.7	151.7 ± 13.8*	57.0 ± 14.4^
ALAT** = TGO (U/L)	23.7 ± 2.0	255.7 ± 32.8*	54.5 ± 20.1^
Lactato (μmol/g)	5.2 ± 1.2	21.5 ± 1.8*	11.9 ± 3.8^
H ₂ O ₂ (μmol/g)	31.8 ± 4.1	64.2 ± 3.8*	37.8 ± 4.7^
SOD (U/mg proteína)	12.4 ± 1.4	6.6 ± 2.0*	16.0 ± 0.5^
GSH (nmol/mg proteína)	8.4 ± 1.4	4.3 ± 1.1*	7.9 ± 1.1^

*ASAT: Aspartatoaminotransferasa // ** Alaninoaminotransferasa

Resultados:

$[GSH]_{O_3 + I/R} \approx [GSH]_{control} \neq [GSH]_{I/R}$

↑sig. $[SOD]_{O_3 + I/R} \rightarrow \downarrow ERO$

↑ $[H_2O_2]_{I/R} \rightarrow$ Inh SOD por su sustrato

$H_2O_2 + CitP_{450} \rightarrow FeO +$ (radical ferrilo)

$H_2O_2 + Met$ transición $\rightarrow OH^-$

Efecto de la Ozonoterapia en el Tratamiento del Estrés Oxidativo asociado a la Diabetes.

Saied M. Al-Dalien, Silvia Menéndez, Gregorio Martínez, José I. Fernández-Montequín, Eduardo J. Candelario y Olga S León.
Centro de Investigaciones y Evaluación Biológica. Univ. de la Habana. CIO. Instituto de Angiología y Cirugía Vascular. CUBA

Diabetes:

Caracterizada por anomalías metabólicas que conllevan al inadecuado metabolismo de los carbohidratos, que deriva de una mala producción y utilización de la Glucosa.

Complicaciones a largo plazo:

- ✓ Desórdenes micro y macro vasculares, con desarrollo de aterosclerosis temprana
- ✓ Neuropatías que involucran al SNAutónomo y Somático
- ✓ Disfunciones neuromusculares
- ✓ Baja resistencia a las infecciones

Todas estas complicaciones crónicas involucran a ojos, riñones, corazón, nervios y vasos sanguíneos.

Efecto de la Ozonoterapia en el Tratamiento del Estrés Oxidativo asociado a la Diabetes.

Saied M. Al-Dalien, Silvia Menéndez, Gregorio Martínez, José I. Fernández-Montequín, Eduardo J. Candelario y Olga S León.
Centro de Investigaciones y Evaluación Biológica. Univ. de la Habana. CIO. Instituto de Angiología y Cirugía Vascular. CUBA

Grupo de 20 pacientes, ambos sexos, con problemas ulcerosos en extremidades inferiores, divididos en 2 grupos:

1^{er} grupo: Control. 10 pacientes. Tratados con métodos convencionales de antibióticos vía sistémica y local

2^o grupo: 10 pacientes. O₃R, 20 sesiones. 10mg dosis y bolsa de ozono a [80µg/ml] durante 1 hora.
Posteriormente curaciones con aceite ozonizado.

Se tomaron muestras de sangre antes de iniciar el tratamiento y 24 hrs. después del último tratamiento.

Se midieron los siguientes marcadores:
Glucosa, catalasa, SOD y Peroxidación lipídica (MDA)

Balance AO- Pro-oxidantes en pacientes con microangiopatía

Grupos	Glucosa	GSH	SOD	MDA	CAT
<i>Ozono</i>					
Inicial	9.08 ± 33.89	2532 ± 752	59.8 ± 31.3	5.22 ± 1.80	268.3 ± 112
Final	6.03 ± 2.69*	2310 ± 877	56.6 ± 33.0	3.12 ± 1.50*	408.3 ± 116*
<i>Control</i>					
Inicial	9.77 ± 4.16*	2263 ± 903	51.8 ± 21.3	5.52 ± 2.96	183.5 ± 80.0
Final	9.59 ± 3.68	2163 ± 372	47.5 ± 25.3	7.70 ± 4.95	178.1 ± 55.0

* P < 0.05

Grupo Ozono: ↓ Glucosa al final el tratamiento, con un ↑ act. CAT y ↓ POL (todos con diferencias significativas).

Grupo Control: No se observaron cambios significativos en los parámetros estudiados.

Conclusiones del Estudio

Es conocido que los pacientes diabéticos tienen bajos niveles de AO (enzimáticos y no enzimáticos)

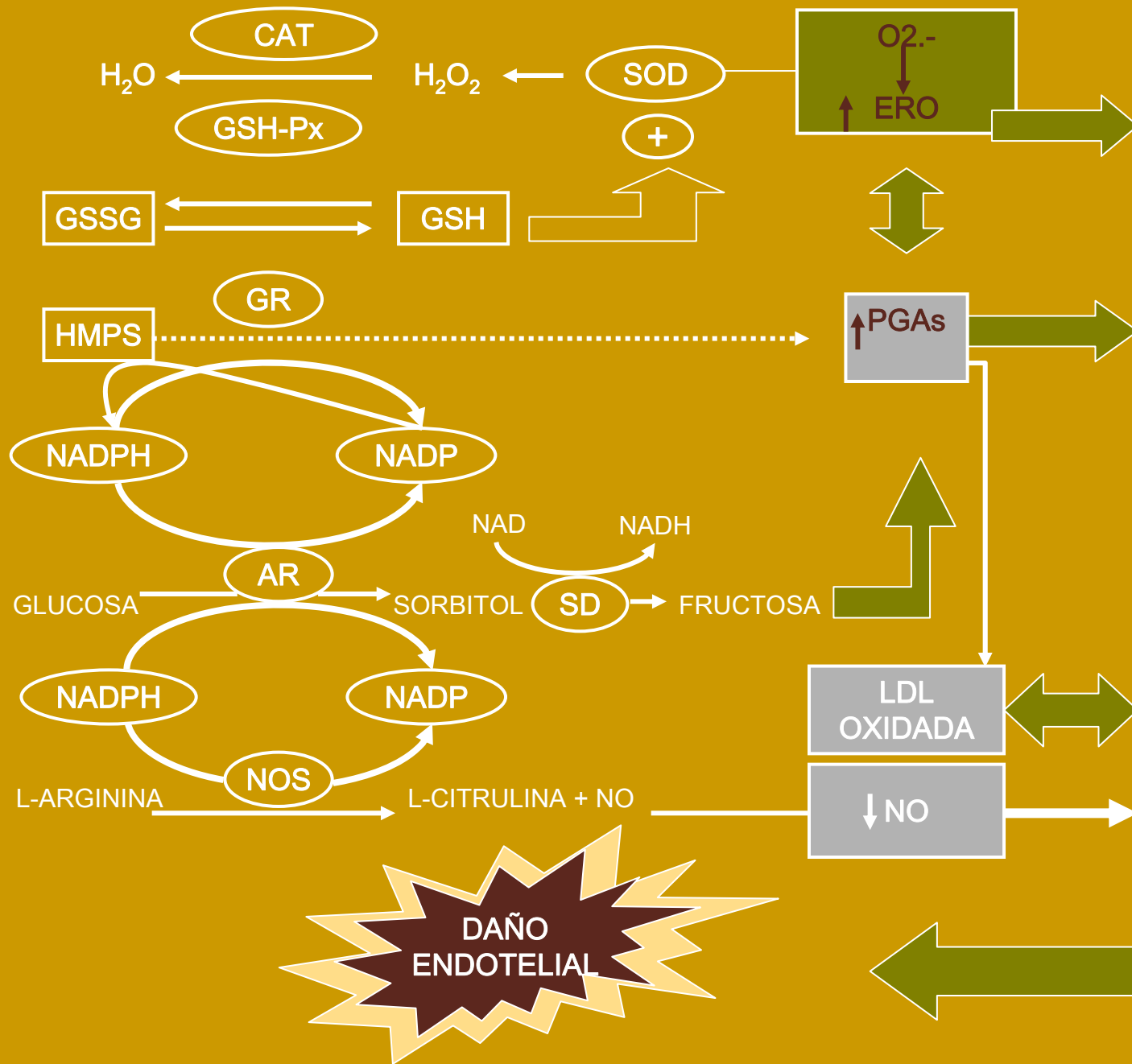


INCREMENTO DEL DAÑO OXIDATIVO

Las células PMN y los linfocitos, lo mismo en pacientes con Diabetes Tipo I ó II, muestran una disminución del doble de la act. de la SOD.

Los altos niveles de H_2O_2 en pacientes diabéticos, relativos al daño tisular a los que conlleva la enfermedad, condiciona el \uparrow CAT, que promueve la \downarrow POL y no obtención de nuevas ERO (Ej: OH.)

Los \downarrow niveles de MDA, también presuponen la disminución de la POL, que aunado a los efectos protectores del ozono con el incremento de las DAO celulares, conllevan al incremento del consumo de glucosa por la cél.



Conclusiones

“Debe quedar claro que el proceso de Ozonización, independientemente de la zona ó vía por la que se aplique, representa en todos los casos, un inicial y agudo estrés oxidativo, que suministrado con dosis juiciosa y precisamente calculadas, lejos de ser perjudicial es, de hecho, capaz de generar una amplia variedad de útiles respuestas biológicas que posiblemente pueda revertir el estrés oxidativo crónico derivado del envejecimiento, infecciones crónicas, diabetes, aterosclerosis, procesos degenerativos y cáncer, entre otros. Inclusive, el acto terapéutico puede interpretarse como un atóxico y real choque terapéutico, capaz de restaurar la homeostasis”.

Bocci, V. Scientific and Medical Aspects of Ozone Therapy. State of the Art. Elseiver. May, 2005

MUCHAS GRACIAS

PROGRAMA DE ENTRENAMIENTO EN OZONOTERAPIA (PEOT)

- Niveles: Básico, Intermedio y Avanzado
- *FECHA: 12 al 18 de septiembre de 2009*

Auspician:

Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Sinaloa
Asociación Mexicana de Ozonoterapia, A. C
y Ozonoterapia México, S. A de C. V

- ***Sede: Hotel San Marcos***

Av. Álvaro Obregón 51 Norte. Col. Centro

Culiacán, Sinaloa

Tel. (667) 7 137876

01800 716 74 76 (Reservaciones)

Mayores informes: Asociación Mexicana de Ozonoterapia, AC

TEL: 01- 667 – 7531584

www.amozon.org.mx

info@amazon.org.mx