



Curso Aepromo Infiltraciones en aparato locomotor  
6-7 Mayo 2016

# Bases Bioquímicas de los Efectos del Ozono



**Gregorio Martínez Sánchez, Pharm.D, Ph.D.**

**gregorcuba @ yahoo.it**



Dr. Gregorio Martínez Sánchez, Ph.D.

# “Experto Universitario en Ozonoterapia y Factores de Crecimiento Ozonizados”

**Bases Bioquímicas de los Efectos del Ozono**

**Soluciones ozonizadas**

**Mecanismos Generales de Acción del Ozono**

**Ozono en el Dolor y la Respuesta Inmune**

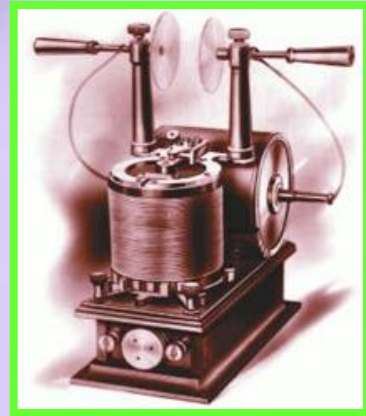
**Relación Dosis Efecto. Dosis y Vías  
Recomendadas**

**Diagnóstico del Estrés Oxidativo**

**Efectos del O<sub>3</sub> sobre el genoma**



Christian Friedrich  
Schönbein  
(1799 -1868)



1915

Tratamientos  
tópicos

1968

Auto hemo mayor  
Medicina General



1981

Ortopedia

# Ozono, desde su descubrimiento a las aplicaciones clínicas

2014...

**GENOMICA** Evidencias  
Nrf2/EpER

2000....

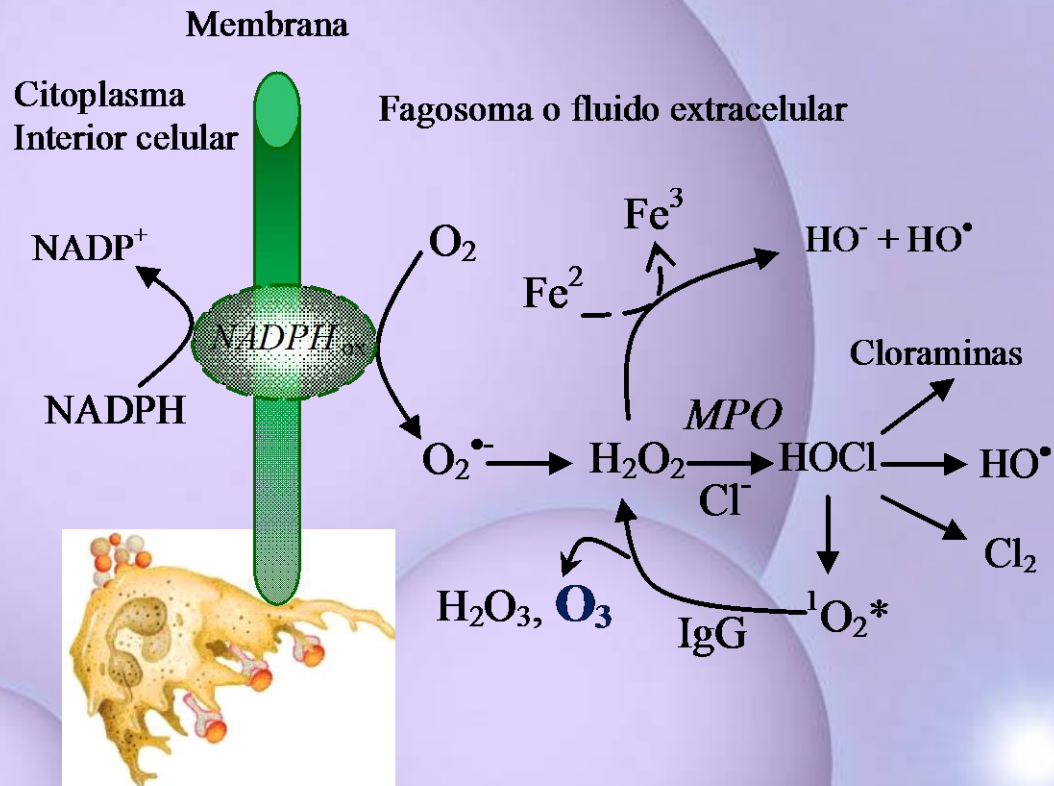
Ensayos clínicos. Guías internacionales.  
Revistas especializadas, Congresos.  
Sociedades científicas ...

## PROTEOMICA

León OS, Menéndez S, Merino N, Castillo R,  
Sam S, Pérez L, Cruz E, Bocci V. Ozone

**oxidative preconditioning**: a  
protection against cellular damage by free  
radicals. Mediators of Inflammation **1998**;  
7:289-294.

# Representación esquemática de los procesos que conducen *in vivo* a la formación de $O_3$ por parte de neutrófilos activados.



Babior BM, Takeuchi C, Ruedi J, Gutierrez A, Wentworth P, Jr. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Mar 18;100(6):3031-4.

# Retos actuales de la O3 Terapia

Uso de generadores no aptos

Falta de homogeneización

Toxicidad del Ozono

Falta de datos científicos clínicos sólidos

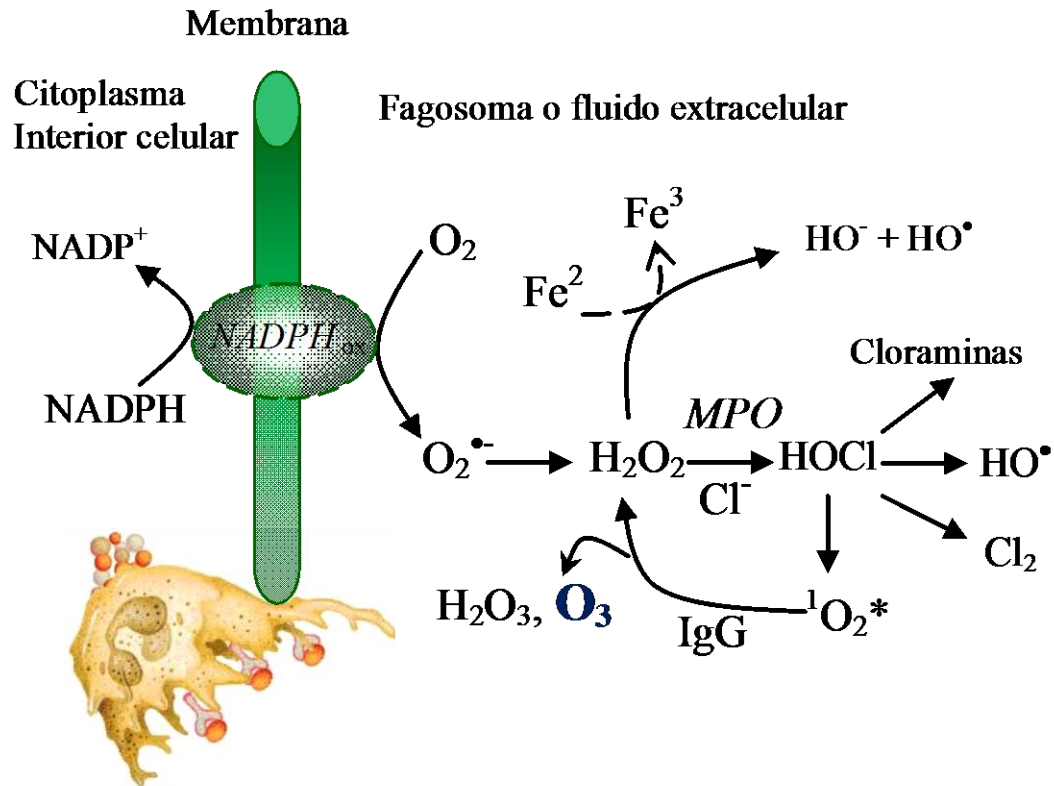
Los charlatanes

Falta de regulaciones y desinterés de las autoridades

Falta de financiamiento

Médicos escépticos o poco informados

# Representación esquemática de los procesos que conducen *in vivo* a la formación de $O_3$ por parte de neutrófilos activados.



Babior BM, Takeuchi C, Ruedi J, Gutierrez A, Wentworth P, Jr. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Mar 18;100(6):3031-4.

# Propiedades químico físicas del ozono

Peso Molecular	48 g / mol
Densidad (0 °C/101,3 KPa)	2,154 g/L
Punto de Ebullición (101,3 KPa)	-111,9 °C
Punto de Fusión	-192,5 °C
Umbral olfativo	0,02 ppm
Potencial Redox	2,07 V
Solubilidad en Agua 20/30°C	20 / 1,5 mg/L

# Potencial Redox de algunos agentes oxidantes

	Potencial Redox (v)
Fluor	2,85
Ozono	2,07
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	1,76
MnO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	1,68
Cloro	1,36
ClO <sub>2</sub>	0,95



# CAMPOS DE ACTUACIÓN DE LA OZONIZACIÓN EN AGUAS



## Medicina

Aseo y desinfección del cirujano en el pre operatorio.  
Desinfección de utensilios de quirófano y de odontología.  
Lavado de heridas.  
Enjuagues bucales en odontología.

Purificación de aguas en piscinas.  
Tratamientos de aguas de balnearios.  
Tratamientos de embotelladoras.  
Desinfección de productos alimenticios.  
Alimentos recién recolectados (naranjas, zanahorias, patatas, etc.).  
Desinfección de animales sacrificados.  
Tratamiento de peces capturados.  
Preparado de aguas para la elaboración de hielos.  
Tratamientos en acuicultura, hidropónicos y piscicultura.  
Actuación en sistemas de regadío.

Lavanderías industriales.  
Depuración de aguas residuales.  
Utilización en aguas de aseos públicos y de viviendas.

# Eficacia de la desinfección con ozono en aguas contaminadas con *Clostridium perfringens*

	O3	O3 + H2O2
Agua Natural	3,6	2,7
NaCl 0,9%	0,42	0,06

Notas:

Cantidad de ozono en mg/L necesaria para reducir la concentración microbiana en 4 unidades logarítmicas

Concentración inicial de *Clostridium perfringens*  $10^6 - 10^8$  UFC/100 mL  
Concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0,04 mM

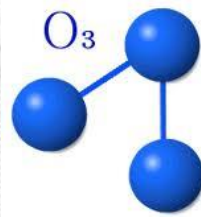
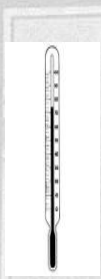
Ref. Lanao M. *et al.* (2007) La eficacia del ozono en la desinfección por *Clostridium perfringens*. Cosemar Ozono.

# Agua ozonizada

Agua pH 7,00  
Temperatura °C

Tiempo de vida del  
ozono (min)

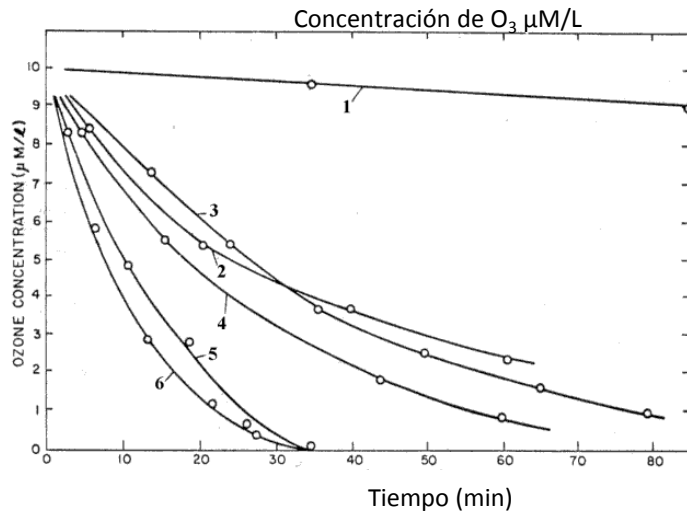
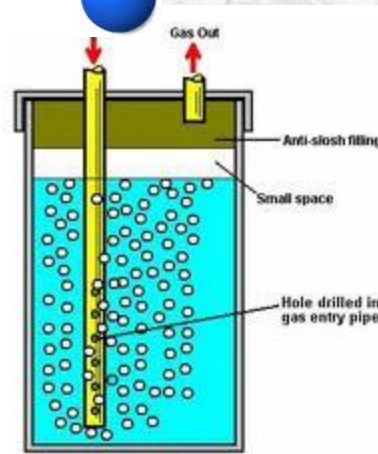
15	30
20	20
25	15
30	12
35	8



Agua 15 °C  
pH

Tiempo de vida del  
ozono (min)

7,6	30
8,5	10
9,2	5
10,19	2
10,4	1

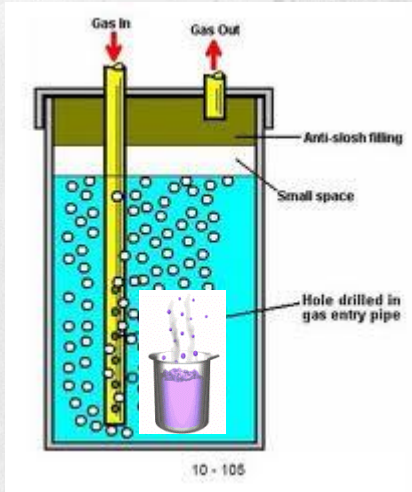
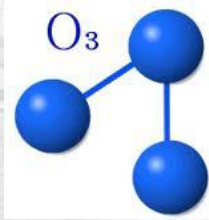


## Aplicaciones Médicas:

- Tratamiento y desinfección de heridas
- Para eliminar el pus y limpiar áreas necróticas
- Eliminar gérmenes en general
- Lavado de cavidades quirúrgicas
- Gastritis



# Agua ozonizada



- Obtención

1 vol. de agua + = volumen de O<sub>3</sub>

5 min de burbujeo

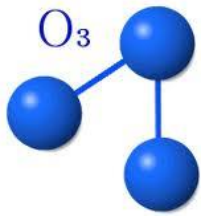
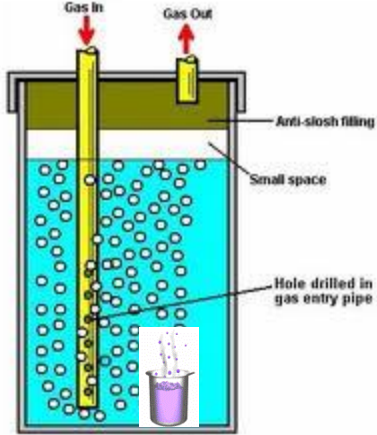
Concentración en H<sub>2</sub>O se reduce  $\frac{1}{4}$

- Estabilidad

5 oC el tiempo de vida media es de 110 h

A 20 oC el tiempo de vida media es de 9 h

# Agua ozonizada



Patología	Concentración Final	Modo de Aplicación
Escaras / Heridas	25 µg/mL	Rociar o por inmersión
Hongos / Candidiasis Vaginal	25 µg/mL	Rociar / inmersión / Lavados
Psoriasis	25 µg/mL	Rociar o por inmersión
Parodontitis / Prevención de Caries	10 µg/mL	Enjuagues
<i>Helicobacter Pylori</i>	2,5 µg/mL	Ingerir
Gastritis	2,5 µg/mL	Ingerir
Úlcera gástrica	2,5 µg/mL	Ingerir

# Aceites Ozonizados. Historia

OBSERVATIONS  
ON THE  
MEDICAL ADMINISTRATION  
OF  
OZONIZED OILS.

BY  
THEOPHILUS THOMPSON, M.D., F.R.S.,  
PHYSICIAN TO THE HOSPITAL FOR CONSUMPTION, ETC.

Received May 23d.—Read June 28th, 1859.

28 de Junio de 1859

Burbujeo con O<sub>2</sub> + Exposición al SOL (U.V)



Aceite de Girasol  
Aceite de Cacao  
Aceite de Hígado de peces



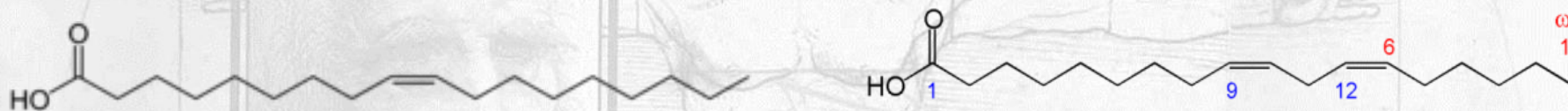
Tuberculosis



Mejorías

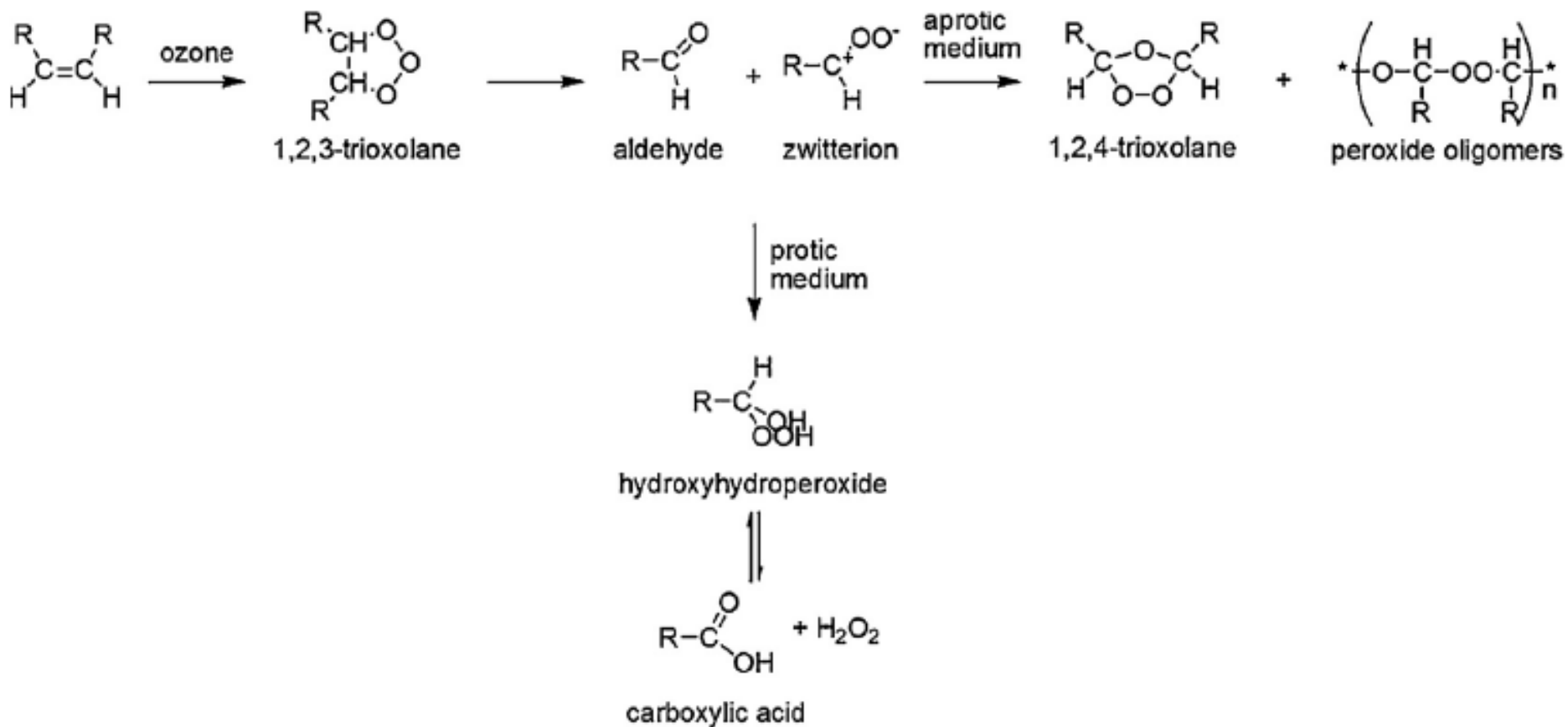
**1904** Se inician las ventas en Farmacia en los EE.UU. Del aceite de oliva ozonizado, con el nombre de "Glycozone."

# Composición porcentual de ácidos grasos insaturados (oleico y linoleico) de aceites vegetales seleccionados.



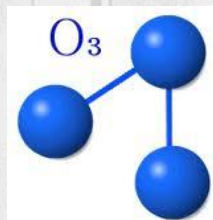
Aceite vegetal	Oleico	Linoleico
Oliva	65-85	4-15
Girasol	28-35	60-70
Soja	20-30	50-65
Coco	5-8	0,9-2
Teobroma	37-38	1-2
Palma	39-46	7-11

# Química. Mecanismo de Criegee





# Aceites Ozonizados. ¿Cómo se hacen?



## Generador de ozono

Entrada: O<sub>2</sub>

O<sub>2</sub> pureza, temperatura

O<sub>2</sub> humedad



## Reactor Farmaceutico

Control: Calidad de la materia prima

Temperatura de reacción

Tiempo de Reacción

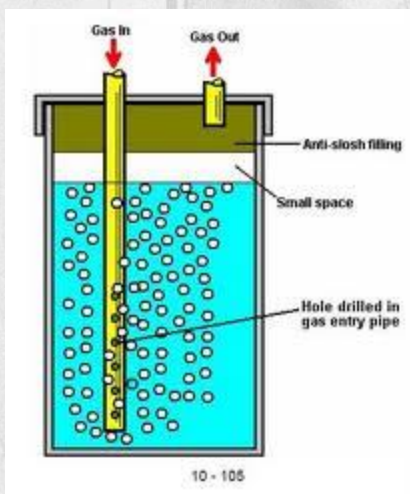
O<sub>3</sub> flujo

O<sub>3</sub> concentración

Agitación

Viscosidad

Neutralización de gases residuales



## Pasos Principales:

Reacción

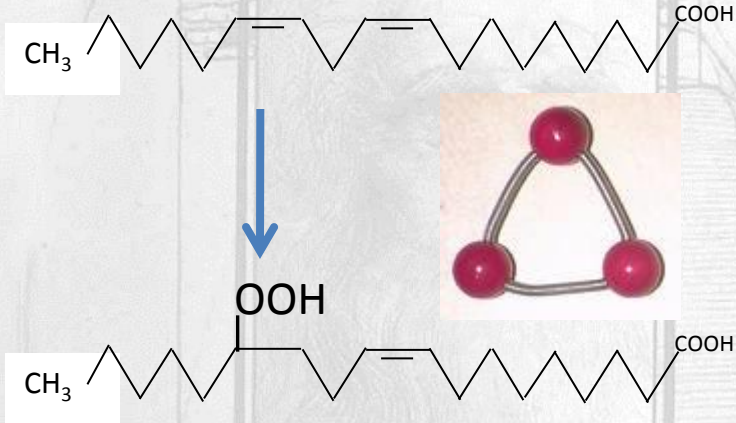
Parada

Control de calidad

Standard Operation Procedures according Good Manufacturing Practices. Ozonia 3000® Production Cycle 2014. Innovares, Italy.

Iacopo Zanardi, Valter Travagli, Alessandro Gabbrielli, Luisa Chiasserini, Velio Bocci. Characterisation of sesame oil derivatives as dermatological preparations. Lipids. 2008, 43(9): 877-886

# Aceites ozonizados. Aplicaciones Clínicas



Germicida General

Analgésicos

Antinflamatorio

Vs. Celulitis

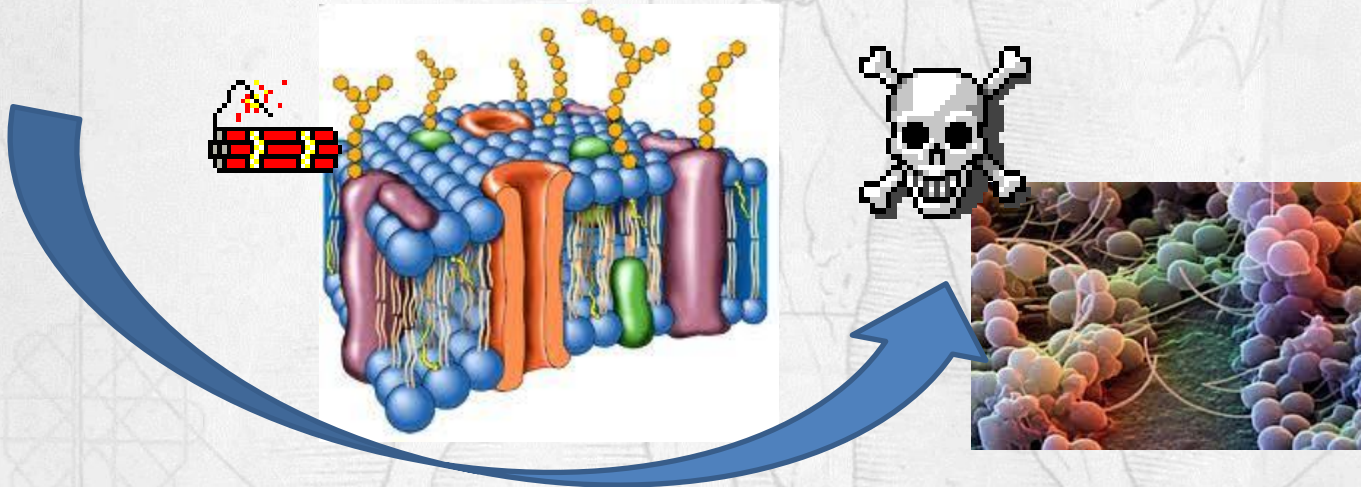
Anti envejecimiento



# Aceites Ozonizados. Mecanismo

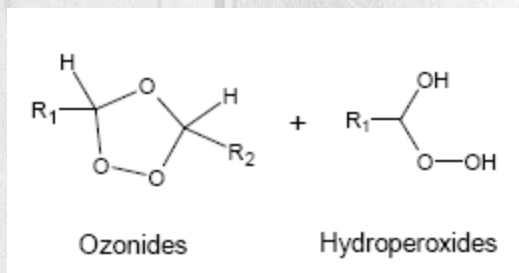
**Oxidación directa:** la liberación de ozono, trioxolanos y lipoperóxidos pudiera destruir directamente los microorganismos mediante su oxidación.

**O<sub>3</sub>, formaldehído, trioxolane y lipoperóxidos**



# Aceites Ozonizados. Mecanismo

**Citotoxicidad:** compuestos como trioxolanos, lipoperóxidos y aldehídos, son citotóxicos para los microorganismos y pueden inactivar rutas enzimáticas claves para su supervivencia.

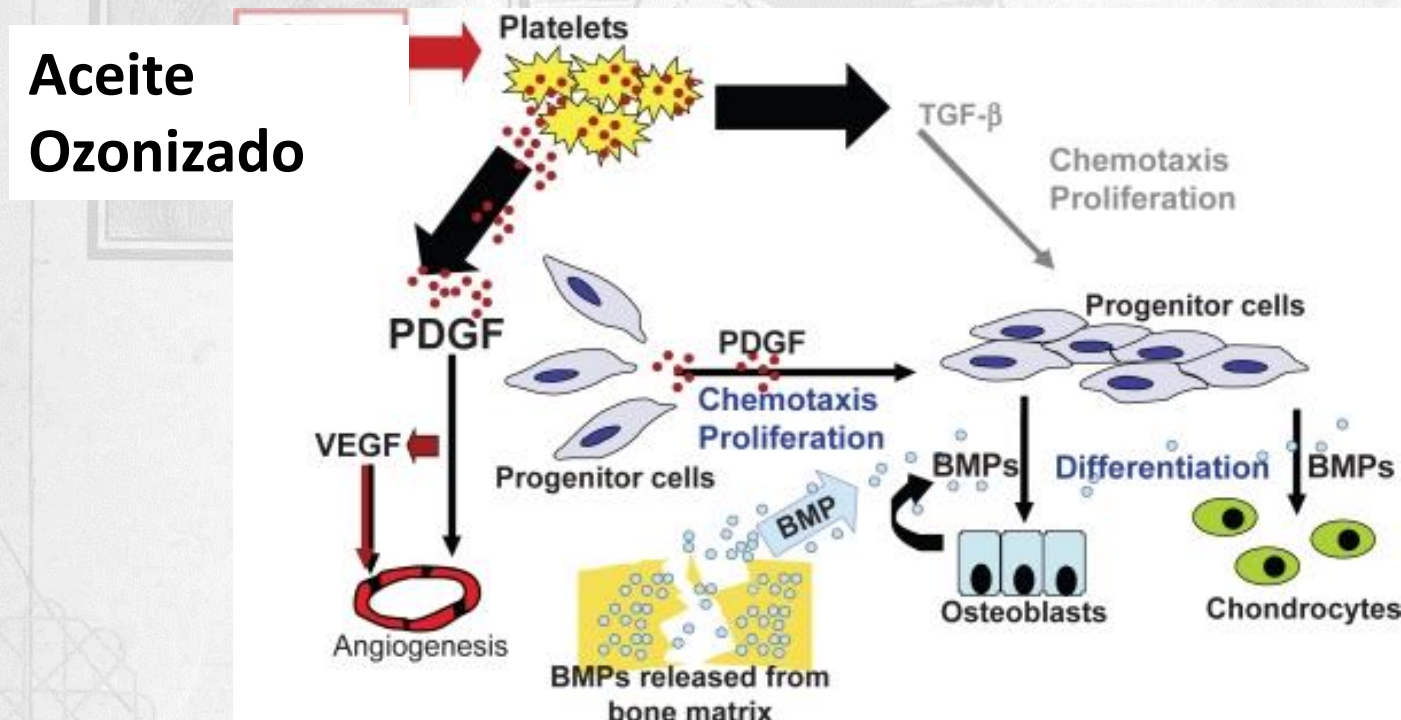


Inactivación de proteínas,  
lípidos insaturados,  
peptidoglicanos, ADN, ARN,  
enzimas respiratorias

**Lisis /  
muerte**

# Aceites Ozonizados. Mecanismo

**Liberación de factores de crecimiento:** Diversos componentes de los aceites ozonizados pueden liberar factores de crecimiento como PDGF, TGF- $\beta$  y VEGF que pueden incidir en la remodelación tisular.



G. Valacchi, Y. Lim, G. Belmonte et al., "Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice," *Wound Repair and Regeneration*, vol. 19, no. 1, pp. 107–115, 2011.

Hee et al. Therapeutic Effects of Topical Application of Ozone on Acute Cutaneous Wound Healing. *J Korean Med Sci* 2009; 24: 368-74

# Aceites Ozonizados. Mecanismo

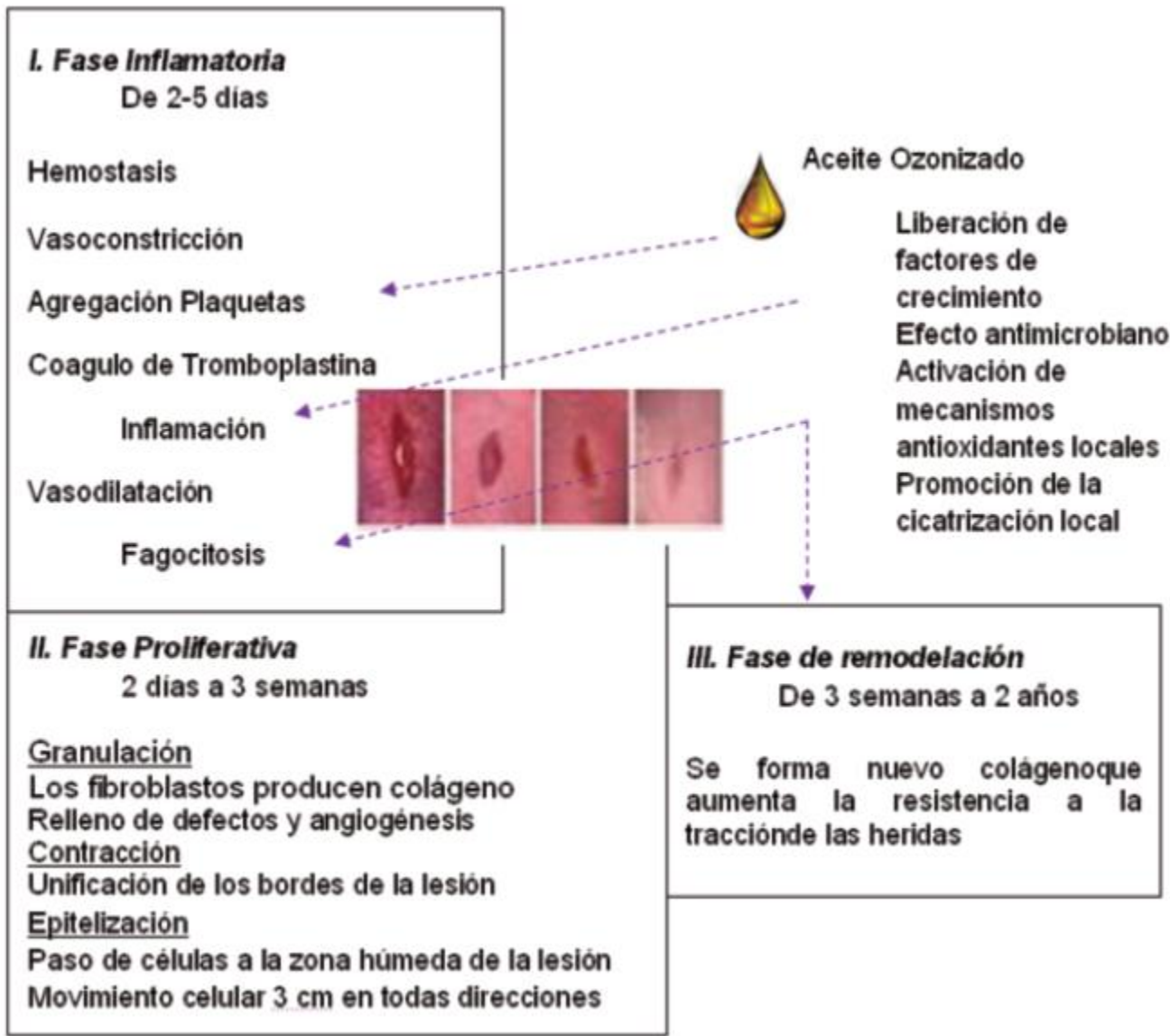
**Pre-condicionamiento oxidativo:** la oxidación local de los tejidos por los componentes de los aceites ozonizados pueden estimular mecanismos antioxidantes endógenos y promover la reparación de los tejidos.

Abu-Gharbieh E, Bayoumi FA, Ahmed NG. Alleviation of Antioxidant Defense System by Ozonized Olive Oil in DNBS-Induced Colitis in Rats. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:967205.

Zamora Z, González R, Guanche D, Merino N, Menéndez S, Hernández F, Alonso Y, Schulz S. Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm Res.* 2008 Jan;57(1):39-43.

Zamora Rodríguez ZB, González Alvarez R, Guanche D, Merino N, Hernández Rosales F, Menéndez Cepero S, Alonso González Y, Schulz S. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:65873.

# Mecanismo probable mediante el cual los aceites ozonizados participan en el proceso de cicatrización



# Aceites ozonizados. Indicadores de Calidad

Análisis	Método	Límite
Aspecto / Color	Organoléptico	Líquido transparente amarillo claro
Olor	Organoléptico	Característico, acre, no rancio
Solubilidad	Farmacopea Europea	Insoluble en agua, muy soluble en cloroformo, éter, éter de petróleo y parafina líquida
Densidad	Farmacopea Europea	<b>0.98 ± 0.02 g/mL</b>
Índice de ácidos	Farmacopea Europea	< 30 mg KOH / 1 g
<b>Índice de peróxido</b>	Farmacopea Europea Modificado	<b>3500±300 mEq O<sub>2</sub> / kg</b>
Índice de yodo	Farmacopea Europea	<b>60.00 ± 20.00 g / 100 g</b>
Viscosidad	Farmacopea Europea	<b>625.00±40 .00 mPa·s</b>

Council of Europe (2010). *European Pharmacopoeia 7<sup>th</sup> Edition*, Druckerei C. H. Beck, ISBN 978-92-871-9700-2, Nördlingen, Germany. Metodo: 2.2.5. Relative Density. 2.2.10 Viscosity-Rotating Viscosimeter Method, 2.5.1. Acid Values, 2.5.4. Iodine Value, 2.5.5. Peroxide Value.



## Especificaciones Aceites Ozonizados

Method	Especificaciones	Intervalos de IP		
		Altos	Medio	Bajos
Aceites Tratamientos Locales	IP (mEq/kg)	800-1200	600-400	400-200

- 400 IP: Para administración oral en post-cirugía y tratamiento de infecciones del TGI como *Helicobacter pylori*. Revitalización facial, rosacea, acné y estimulación de la granulación.
- 600 IP: mucosa vaginal (bulbo vaginitis) y rectal (hemorroides), nasal, úlceras tópicas, fase de epitelización, tratamiento de escaras
- 400-600 IP: heridas, úlceras tópicas, quemaduras en proceso de granulación
- 800-1200 IP: En heridas y úlceras severamente infectadas, gingivitis, alveolitis, *herpes simplex*, *herpes zoster*.

# Aceites Ozonizados en patologías humanas

## Bacterias, hongos, virus, protozoo, ácaros ..

*Streptococcus pyogenes, Haemophilus influenzae, Bordetella pertussis, Helicobacter pylori, Staphylococcus aureus*

*Candida albicans, Trichophyton mentagrophytes, Microsporum canis, Trichophyton rubrum*

*Human papilloma virus, Herpes simplex*

*Giardia lamblia*

# Aceites Ozonizados en patologías humanas

## Infecciones, Remodelación tisular, Inflamación..

Periodontitis, Alveolitis, Gingivitis aguda necrosante, Tratamiento de canales infectados, gingivo-estomatitis, gingivo-estomatitis herpética aguda.

Tonsilitis Aguda

Virus del Papilloma Humano

Conjuntivitis hemorrágica epidémica

Escaras, fístulas, heridas quirúrgicas

Úlceras de miembros inferiores, pié diabético

Tynea Pedis

# Comparación de la actividad antibacteriana de aceite ozonizado con clorhexidina y yodo povidona

Disk	Dilution	O3-Oil	CHX	PVP-I	F-ratio
0	Undiluted	30,67±0,58	27,00	28,00	97*
1	1:2	29,00±1,00	24,00	25,00±1,00	31,5*
2	1:4	27,33±0,58	21,00±1,00	25,00	69,25*
3	1:8	25,00	18,33±0,58	23,33±0,58	162,50*
4	1:16	25,33±1,15	10,00±1,00	21,00	241*
5	1:32	24,00	0	19,00	65535*
6	1:64	20,33±0,58	0	17,00±1,00	802,75*
7	1:128	19,00	0	13,67±0,58	2593*
8	Neg. control	0	0	0	/

Diámetro de halo de inhibición en mm. *Porphyromonas gingivalis*

O3-Oil Aceite de oliva ozonizado IP. 580

CHX Clorhexidina 0,2%

PVP Polivinil pirrolidona 10 %

## O3 y la síntesis de mediadores hormonales

**Saunas de ozono:** hormonas del crecimiento y beta endorfinas

En pacientes hipertensos disminuye la presión arterial debido a que reajusta el sistema renina-angiotensina-aldosterona.

**Autohemoterapia:** produce una regulación y estabilización del ciclo menstrual.

## O3 y la regulación metabólica

**Ozono rectal:** T3/T4, creatinina, glicemia.

**Autohemoterapia:** colesterol y LDL.

Hemoglobina, hematocrito, proteínas totales, lactato deshidrogenasa, triglicéridos, lipoproteínas, enzimas hepáticas, bilirrubina, ácido úrico, ácido láctico y calcio, entre otras

# Efectos Biológicos del Ozono

**Sustrato**

**Blanco**

**Efectos**



Lípidos

Proteínas

Carbohidratos

Ácidos  
nucléicos

Eritrocito

Leucocito

Plaqueta

Endotelio

Médula

Otros

Más disponibilidad de O<sub>2</sub> a los tejidos

Modula el sistema inmunitario  
(liberación de citocinas)

Libera factores de crecimiento

Libera eritrocitos *superdotados*

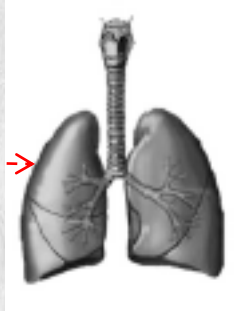
Libera células madres

Modula las enzimas antioxidantes

# El O<sub>3</sub> es tóxico ????????

“La dosis marca la diferencia entre el veneno y el remedio”  
Paracelsus (1493–1541)

Ozono **Exposición crónica**  
(0.7-0.77 mg / d)



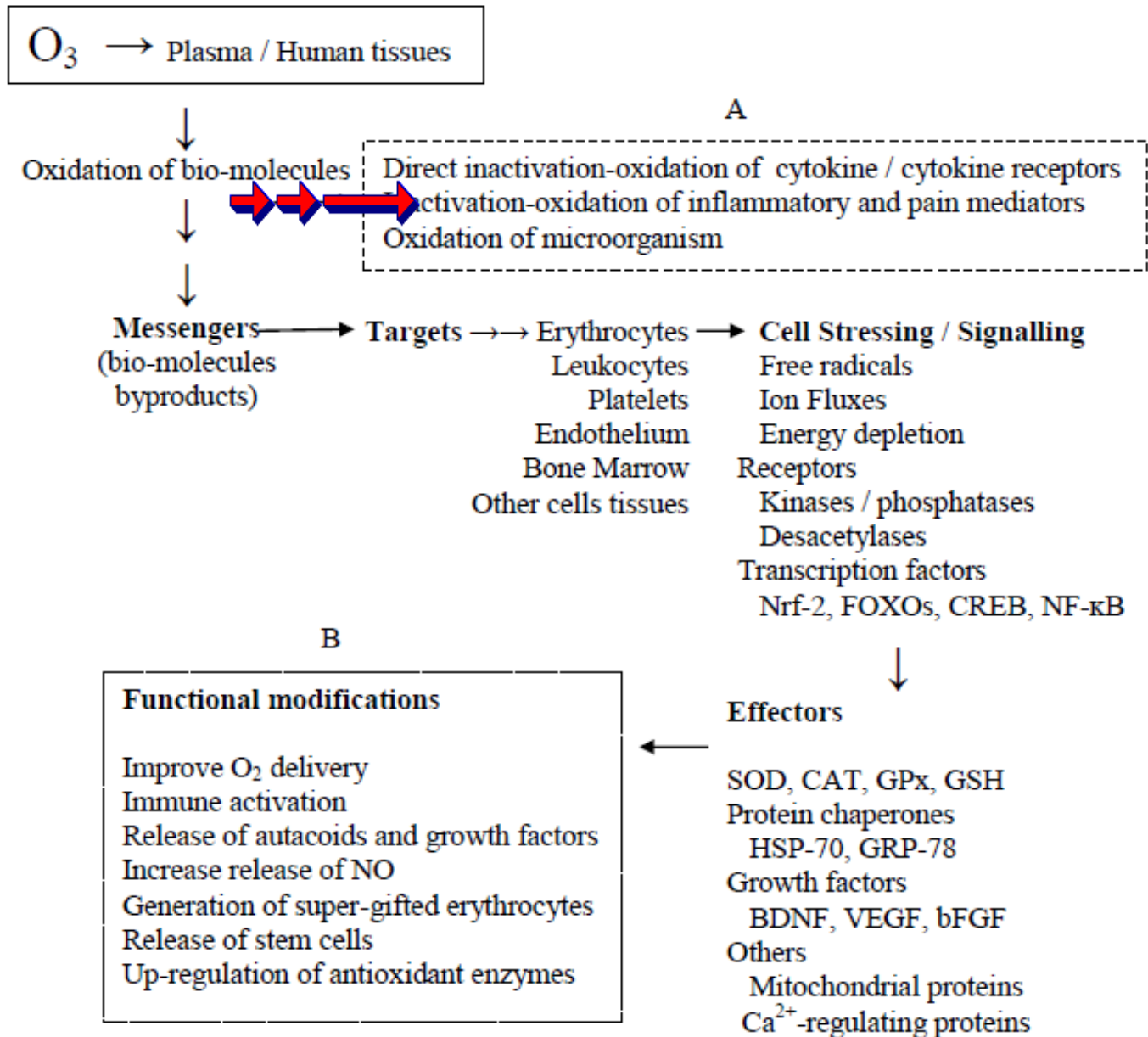
-----> **Toxicidad**

Ozono **Exposición aguda**  
(1-10 mg / d)

Sangre  
Órganos  
blanco

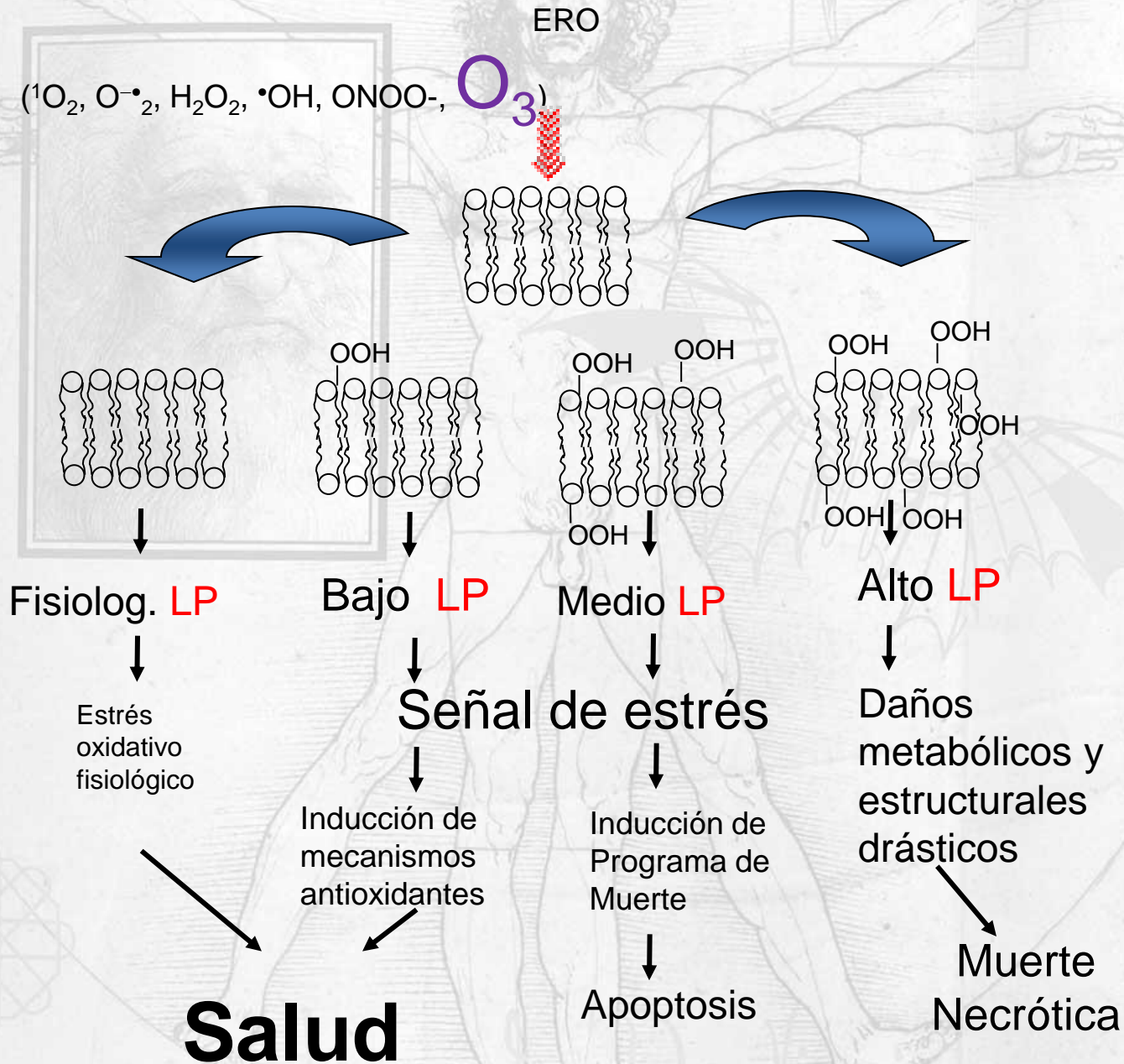


**Dosis** + **Blanco** + **Métodos** = **Eficacia terapéutica**





# Peroxidación lipídica (PL) y mecanismos de transducción de señales



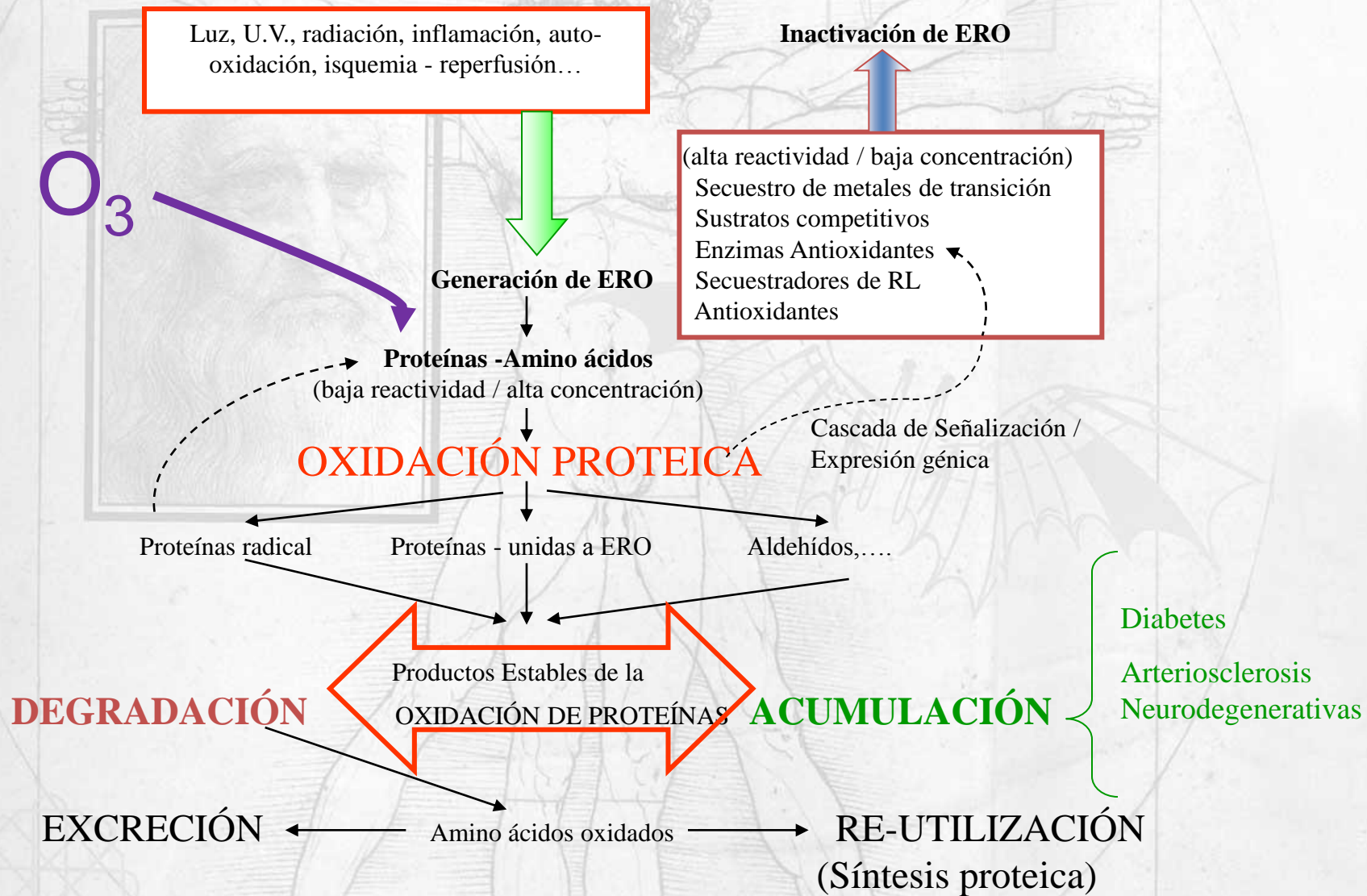
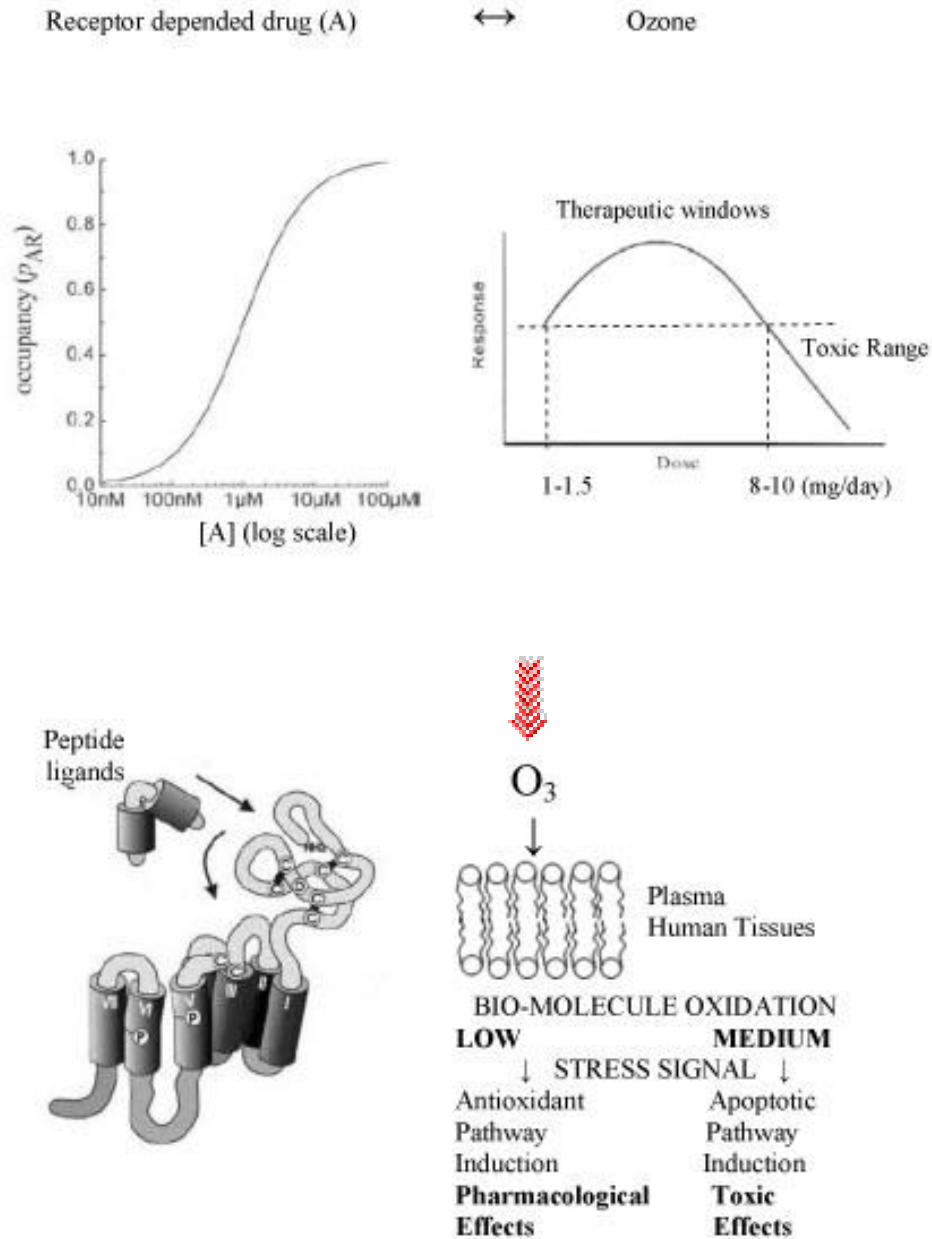


Fig 1.



# nature

Febrero 13, 2003

## **Bajas concentraciones de toxinas pasadas por alto**

Contaminantes potenciales y sus efectos beneficiosos  
a bajas dosis.

# Science

Octubre 17, 2003

## **HORMESIS: Bebiendo de un cáliz envenenado**



Edward Calabrese,  
Profesor de la Escuela de Salud Pública y  
Ciencias de la Salud, Univ. de Massachusetts

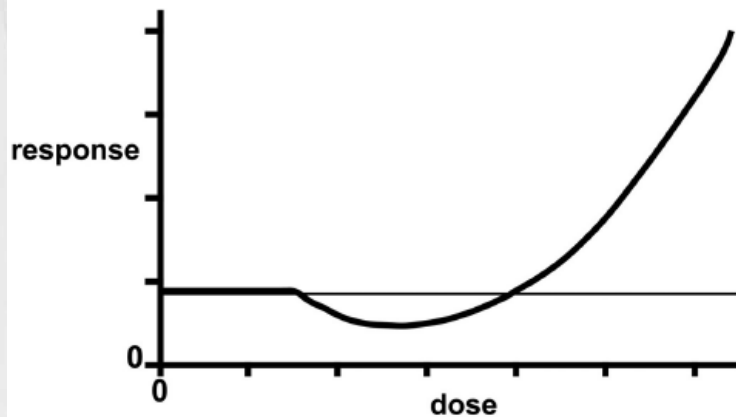
Mayo 1, 2009

Recibió el Premio Marie Curie por el trabajo:

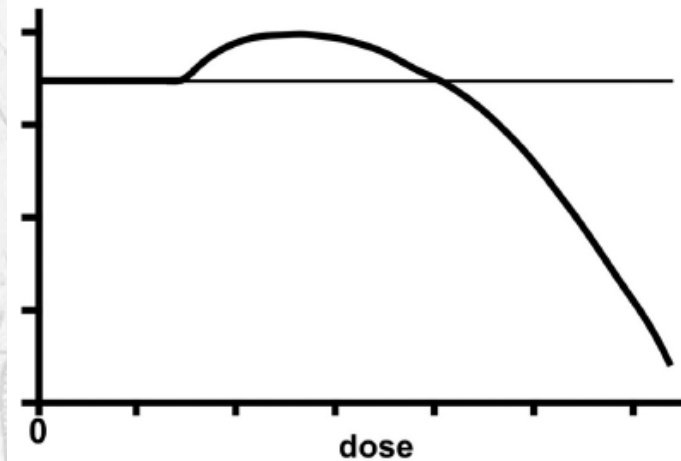
**Hormesis: Dosis bajas, Radiación y salud**

**Hormesis** relación dosis / respuesta en la cual la respuesta a una dosis baja es opuesta al de una dosis alta. Como consecuencia, una respuesta hormética refleja curvas bifásicas y no monotónicas.

"J-shaped curve"



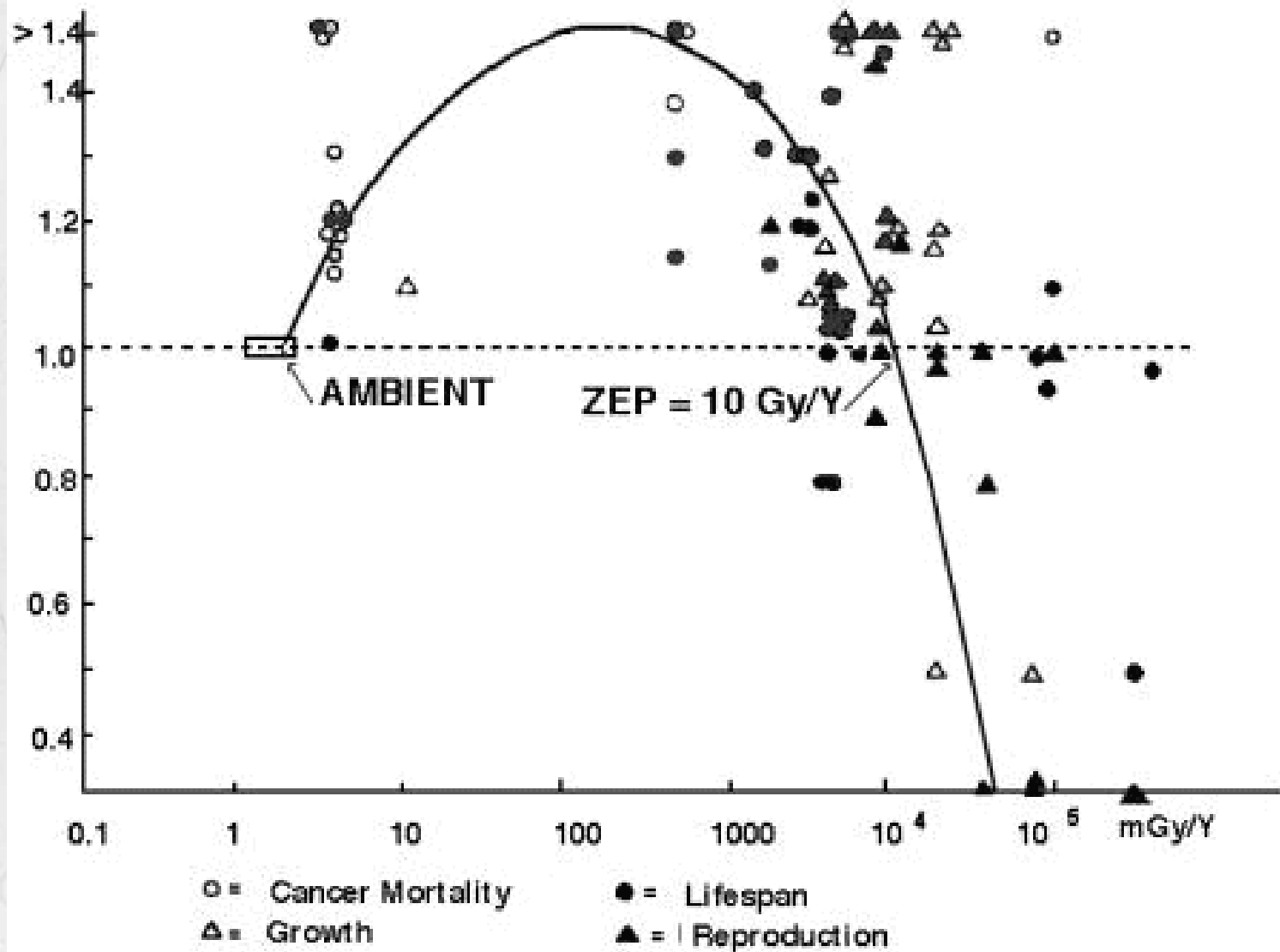
"inverted-U curve"



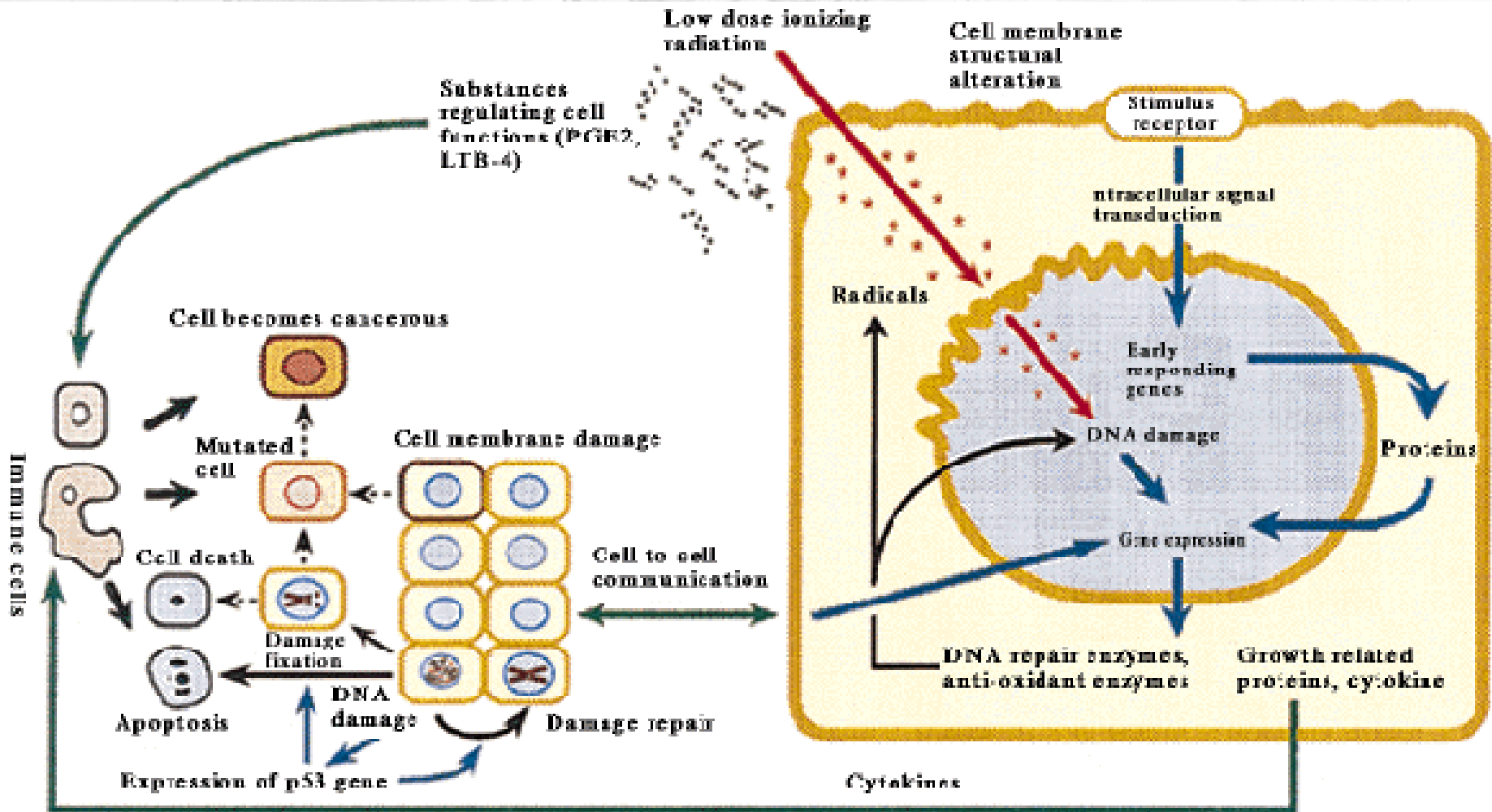
# HORMESIS y RADIACIÓN



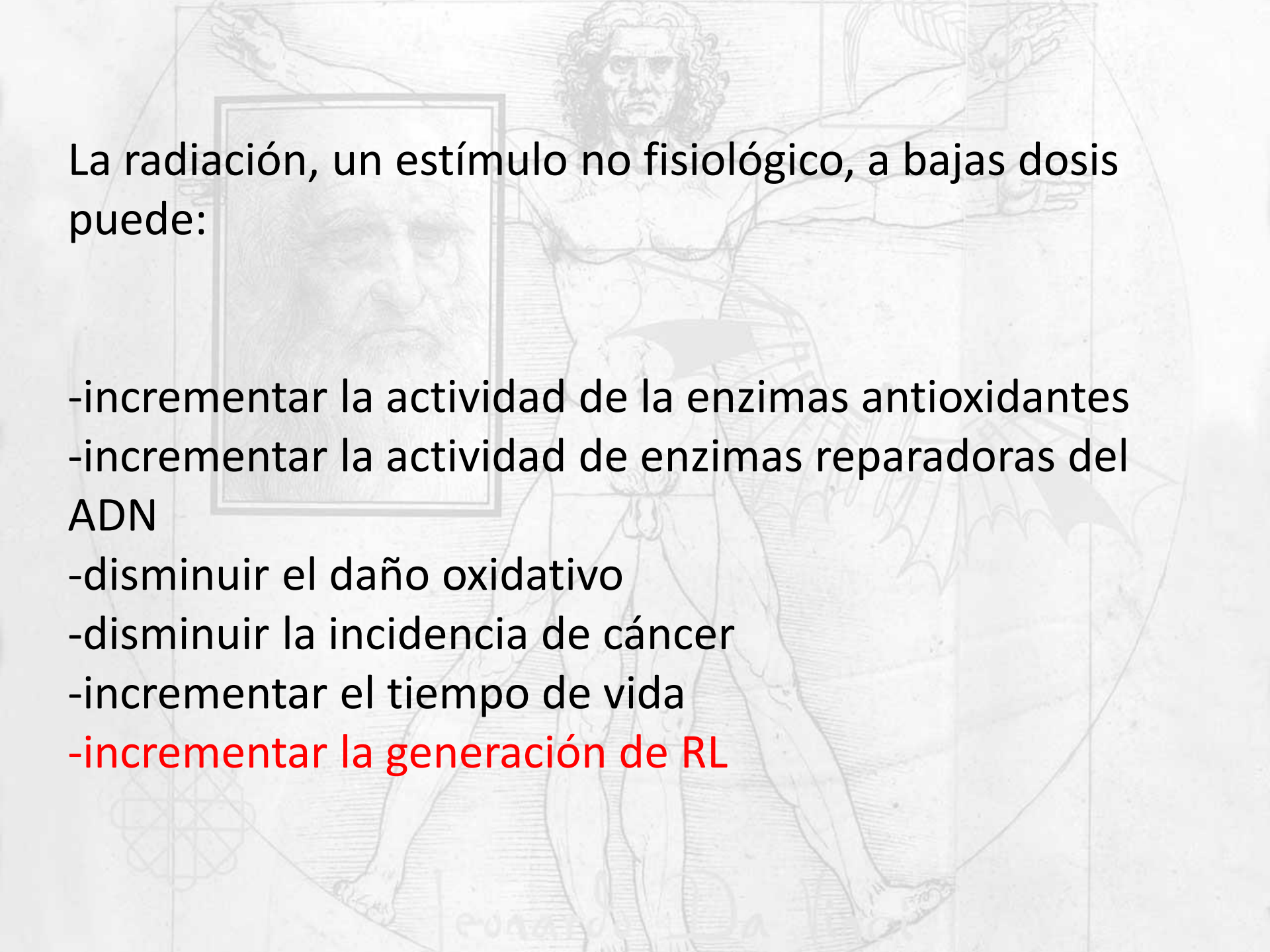
Misasa primavera caliente, Japan



# Mecanismos propuesto para explicar la Hormesis durante las exposición a radiaciones





The background of the slide features a faint, light-colored illustration of Leonardo da Vinci's Vitruvian Man. The figure is centered, with arms and legs extended, inscribed within a circle and a square. To the left of the main figure, there is a smaller, framed portrait of an elderly man with a long, white beard and hair, looking slightly to the right. The overall background is a light, textured grey.

La radiación, un estímulo no fisiológico, a bajas dosis puede:

- incrementar la actividad de la enzimas antioxidantes
- incrementar la actividad de enzimas reparadoras del ADN
- disminuir el daño oxidativo
- disminuir la incidencia de cáncer
- incrementar el tiempo de vida
- incrementar la generación de RL**

# Estresantes pueden alterar la función genética



**Estrés oxidativo**

**Nutrición**

Nitrogen restriction

Amino acid restriction

Glucose Restriction (CR)

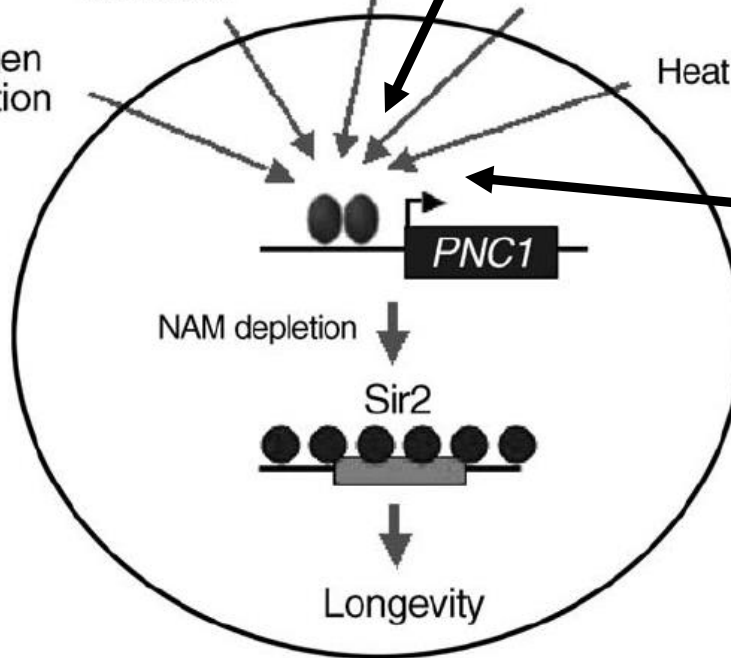
**Ejercicio**

Osmotic stress

**Estresantes ambientales**

Heat shock

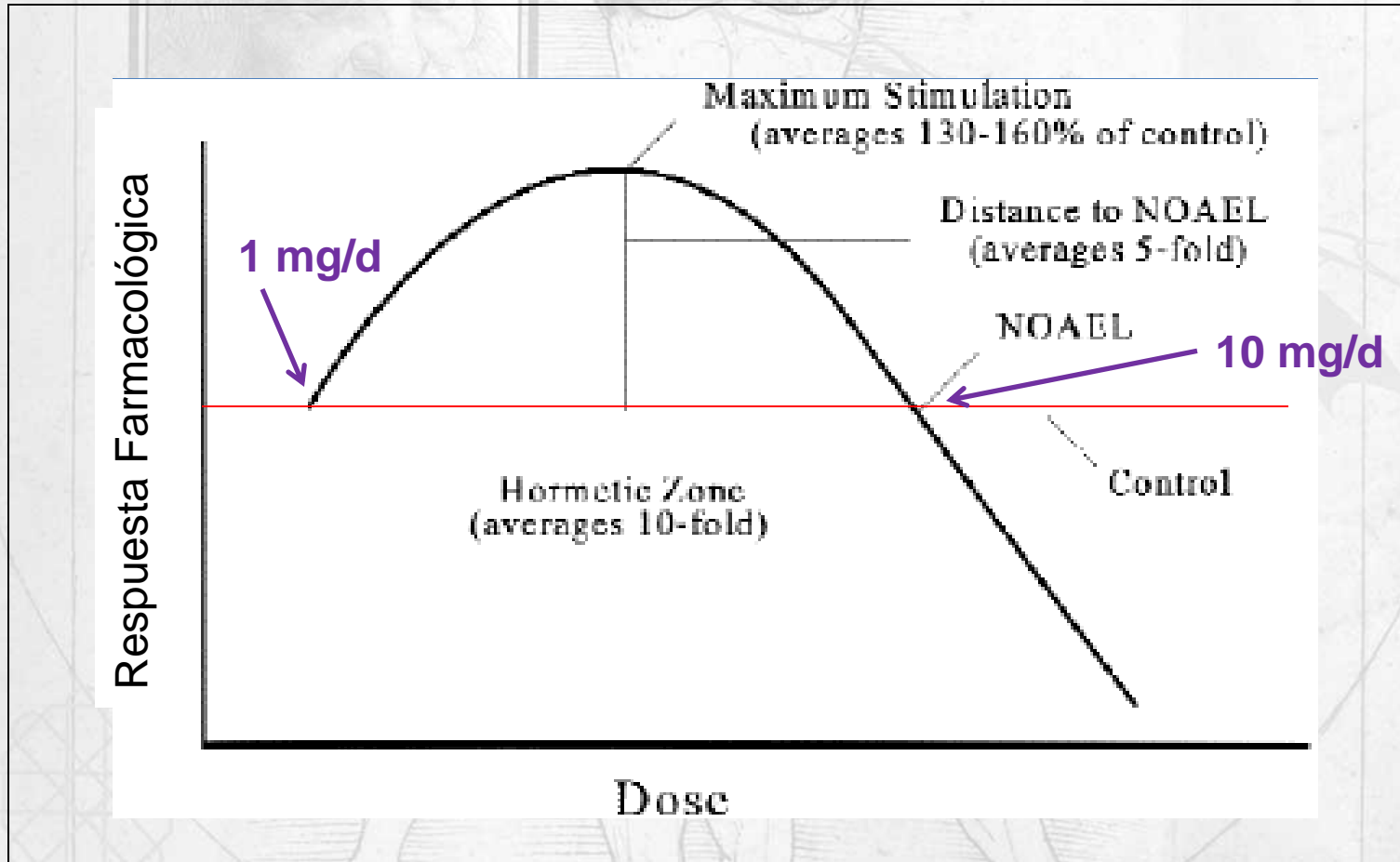
**Estrés emocional**



**Estresantes pueden actuar en a célula a nivel genético e incrementar la longevidad.**

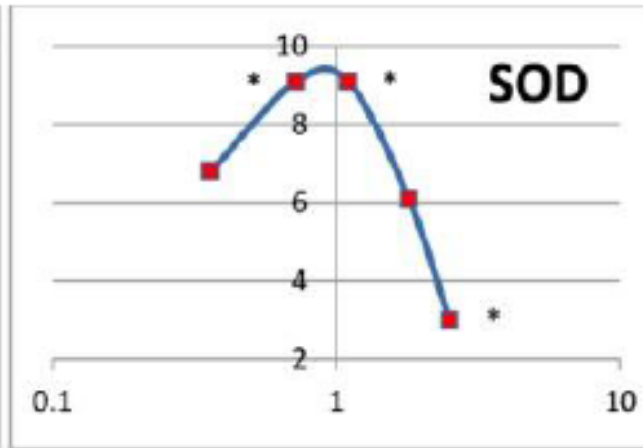
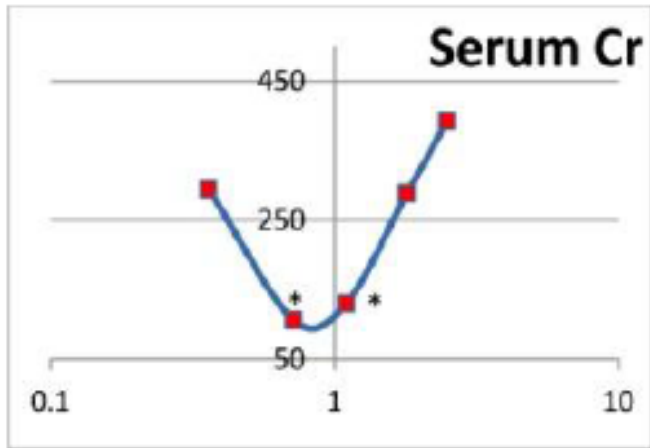
David A. Sinclair, Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation *Mechanisms of Ageing and Development* 2005, 126(9):987-1002

# Respuesta Hormetica del $O_3$



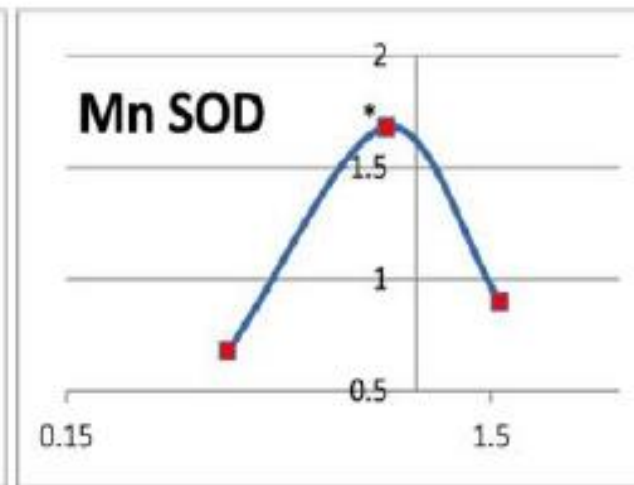
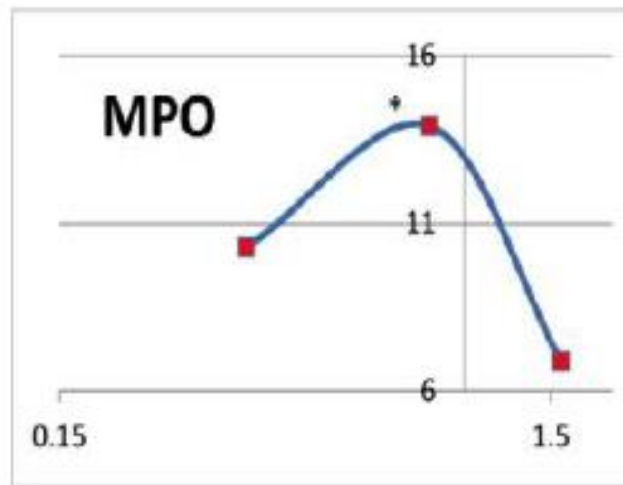
Excepto para la vía inhatoria

# Respuesta hormética del ozono



Creatinina (Cr) y superosido dismutasa (SOD) después de un tratamiento por 15 con O<sub>3</sub> en un modelo de nefrotoxicidad por cisplatino.

Enzimas antioxidantes, después de 90 días de tratamiento con O<sub>3</sub>, dosis log. (0.36, 0.85 y 1.57 mg/kg) vs. En un modelo en conejos





# Éxito Terapéutico del Ozono

$$= \sum A(B + C/D + E + F) + G + H$$

A. Buenas Prácticas Clínicas

B. Calidad del O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>

C. Dosis

D. Diagnóstico Redox

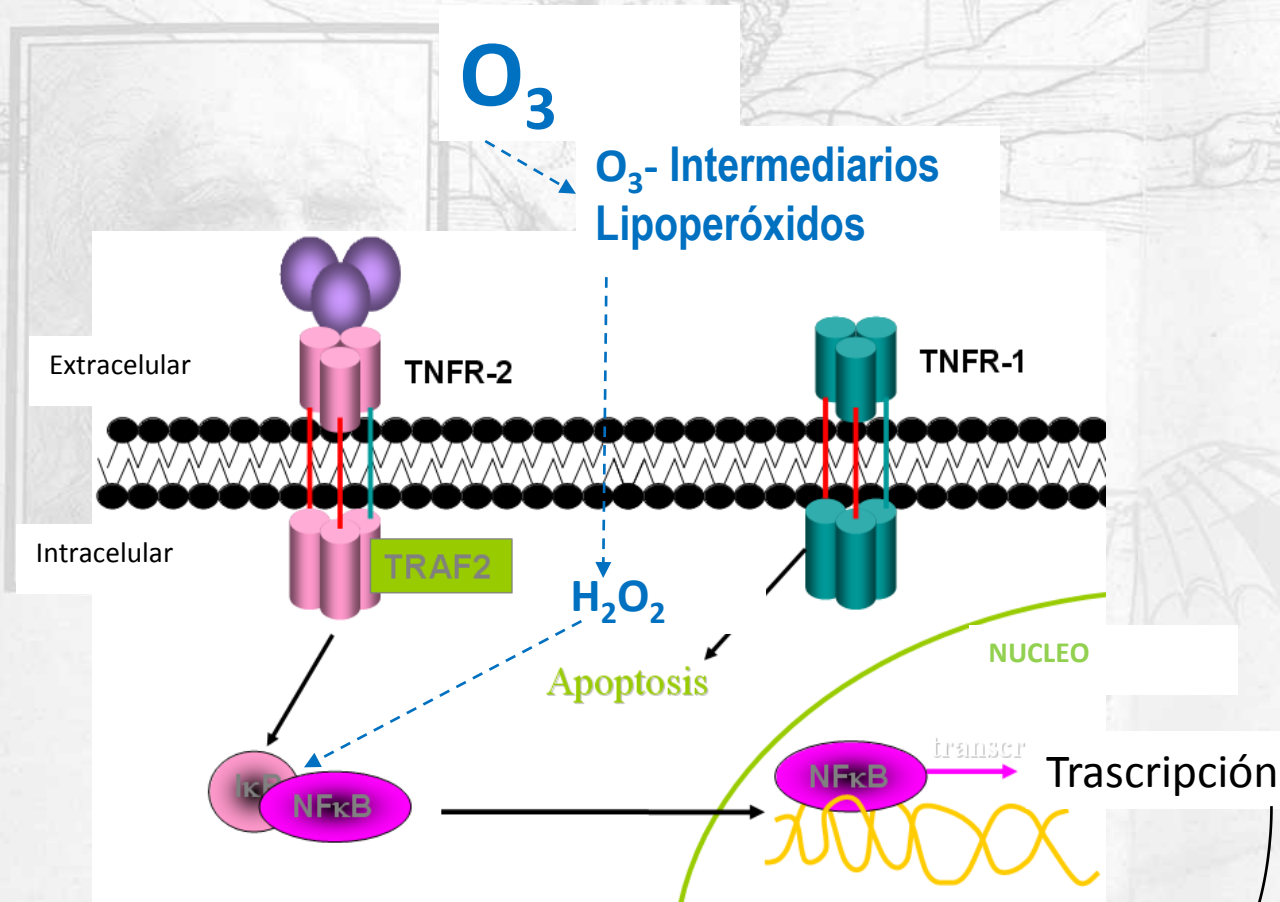
E. Experiencia del médico

F. Selección de la vía de administración

G. Factores Externos (controlables) e.j. estado nutricional

H. Factores Internos (no controlables) e.j. factores genéticos

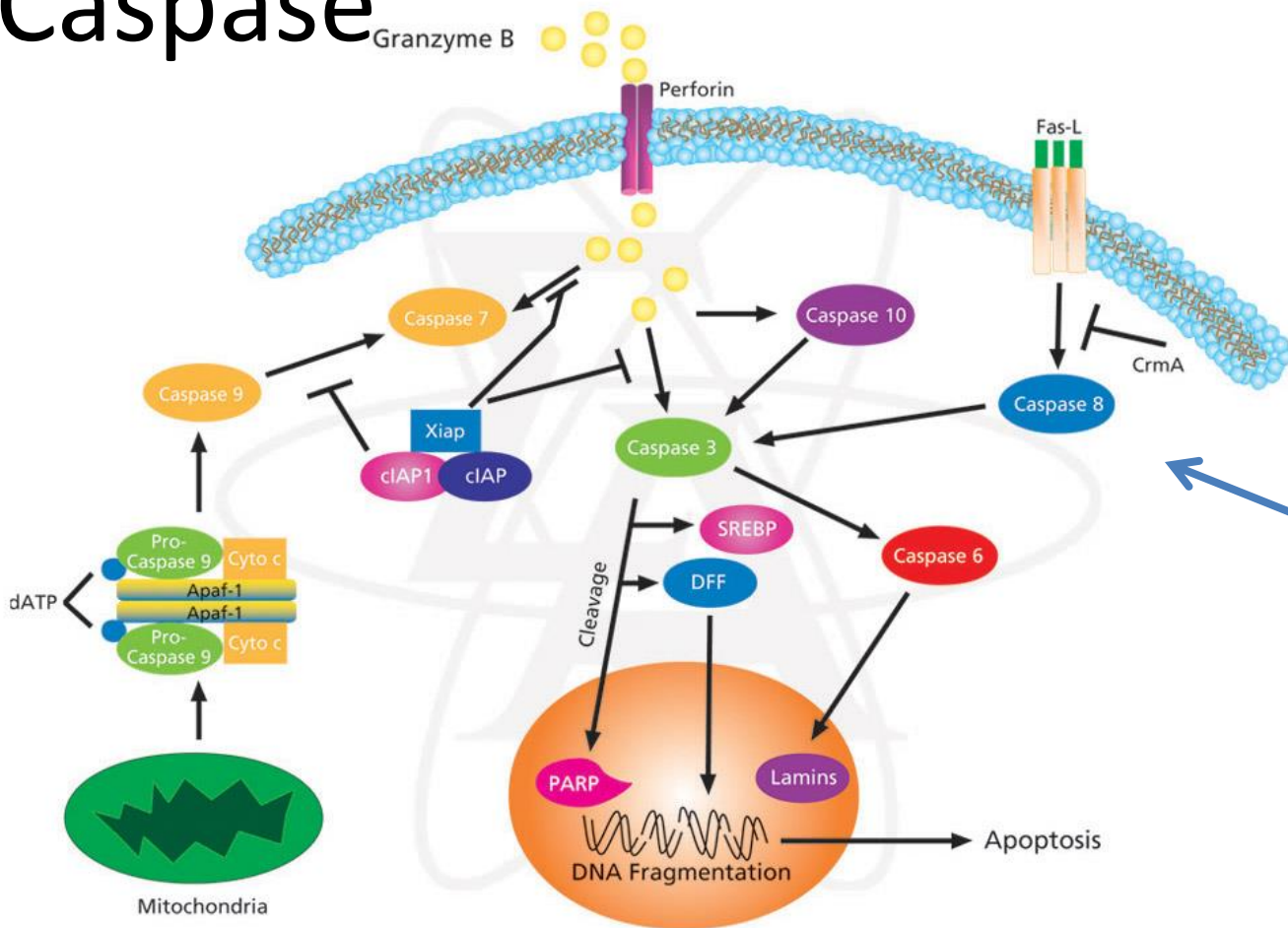
# Ozono. Modulación del sistema inmune.



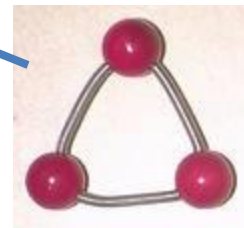
TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , Otras citocinas,  
Moléculas de adhesión ICAM-1, VCAM-1  
Proteína de shock térmico HSP-70, Proteínas de fase aguda,  
Óxido nítrico sintasa inducible (ONSi), SOD dependiente de Mn  
Hematopoyetinas, Otras proteínas

# Cascada de las Caspase

Esos resultados indican que el ozono puede ser efectivo en la **prevención del dolor neuropático**, actuando a través de un mecanismo antes no explorado, la modulación de caspasas cerebrales con efectos pro-inflamatorios y pro-apoptóticos



**Ozono** bloquea la síntesis de las caspasas 1, 8, 12



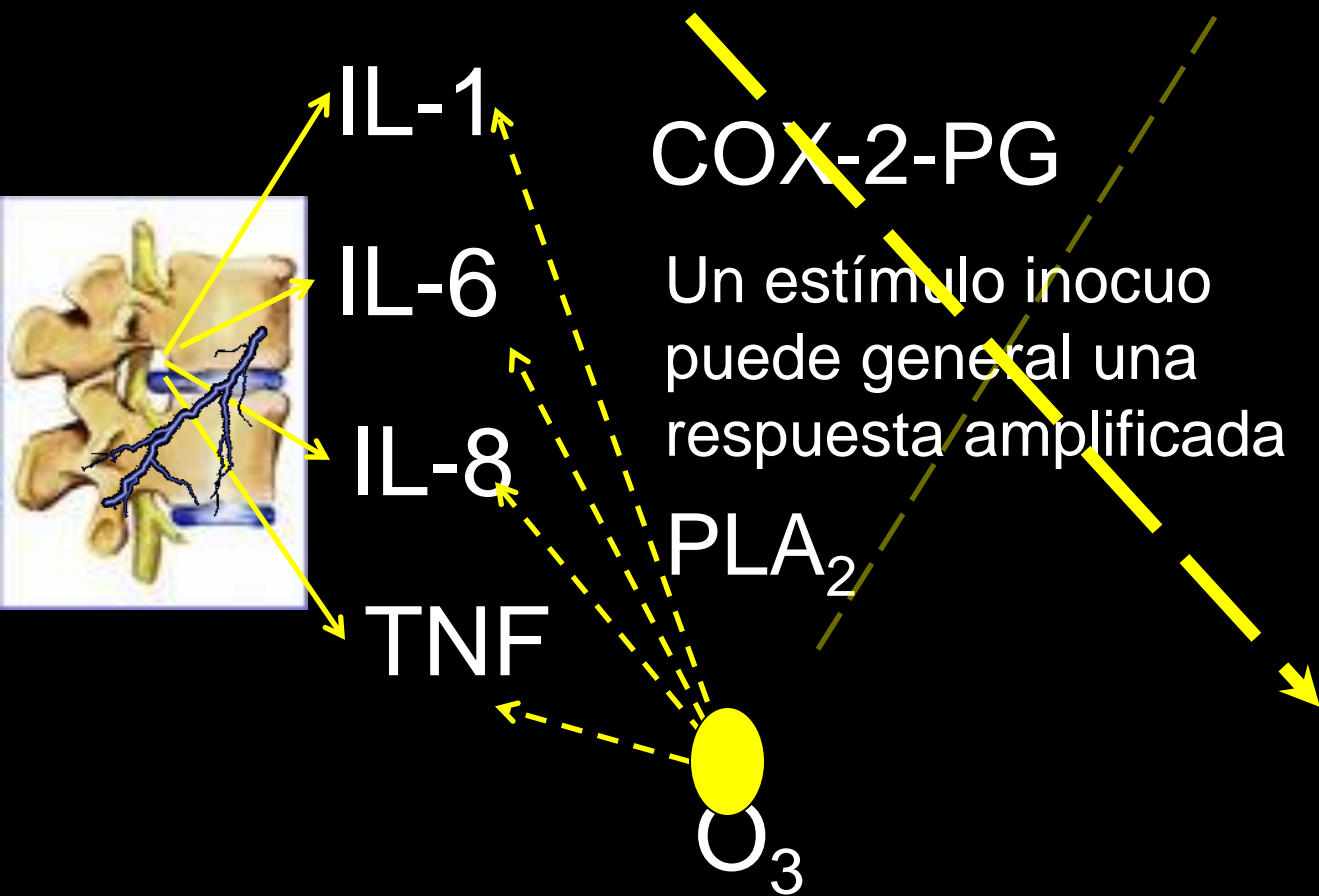
*Foto de una paciente con dolor sub-escapular 1 min después de la inyección (puntos de inyección marcados con una X) con O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> 8 µg/mL, 2-3 mL. Nótese que en la zona en la cual se refería el dolor (central y derecha en la foto) aparece una coloración rosada (eritema) mientras que en la zona donde no refería dolor (izquierda en la foto) el eritema no aparece.*



Lamberto Re, Gregorio M. Sánchez, Nabil Mawsouf. Clinical evidence of ozone interaction with pain mediators. Saudi Med J 2011; Vol. 32 (12) 1363:1367.



# O<sub>3</sub> inhibe dolor periférico



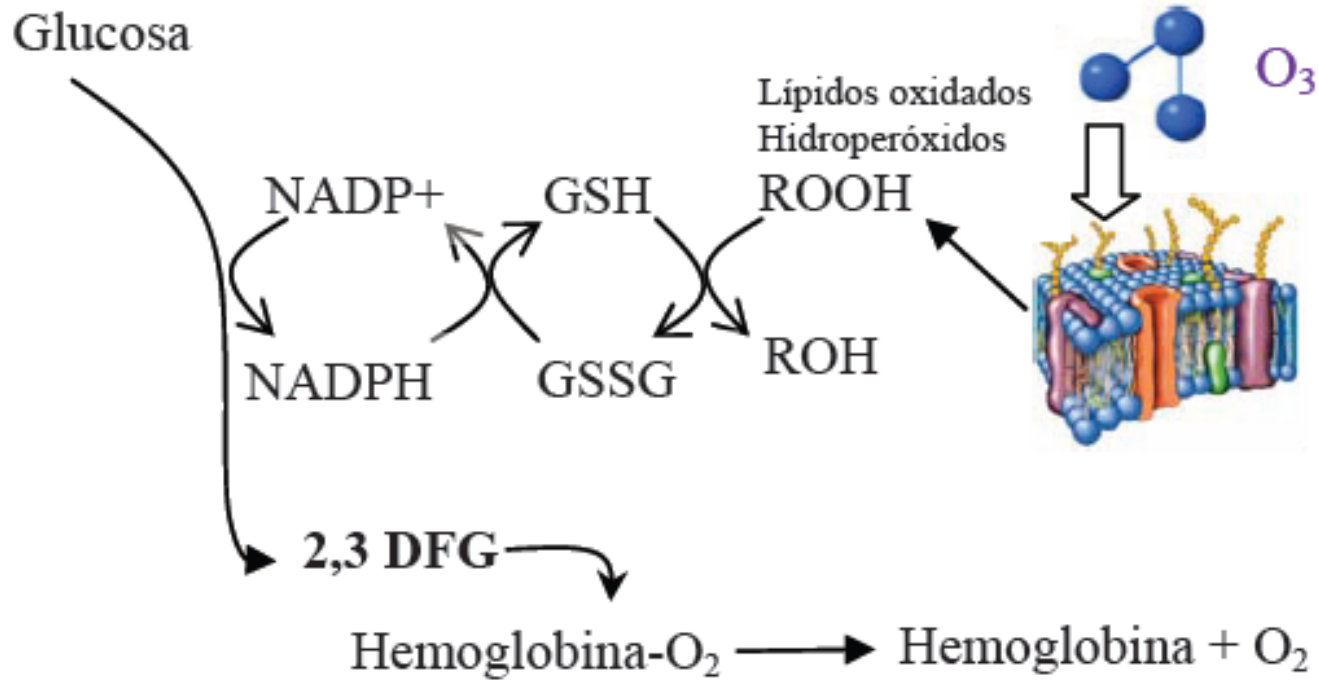
Sensibilización al dolor periférico



J Bone Joint Surg Am (2006)

Arterioscler Throm Vasc Biol 2006

La reacción del Ozono usualmente se aprecia mejor en la zona dolorosa



*Mecanismo teórico para explicar la estimulación de la síntesis de 2,3 difosfoglicerato (2,3 DFG) por el ozono. ROOH, lipo-peróxido; ROH, alcohol; GSH, glutatión reducido; GSSG, glutatión oxidado.*

# Dosis de Ozono recomendada según la modalidad de suministración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

LOCAL				
	Dosis			Observaciones
	Alta	Media	Baja	
Auricular	30	25	20	5 min
Agua ozonizada (lavados locales)	125-500	100-80	40-80	burbujear 10 min
Agua ozonizada (ingestión)	125	80	40	120 mL, burbujear 10 min
Vaginal	30-40	25	20	1-2 L/ 0,1-0,2 L/min
Vescico-uretral	20-25	15	10	1-2 L/ 0,1-0,2 L/min
Retal	30-40	20-30	5-10	100-150 mL
Bolsas	40-60	30	20	20-30 min
Sauna	10	8	5	20-30 min / Temp. 40-45 °C

Vías no recomendada: **inhalatoria**

# Dosis de Ozono recomendada según la modalidad de suministración ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

SISTEMICA				
	Dosis			Observaciones
	Alta	Media	Baja	
Gran Auto hemo- trasfusión	30-40	20-30	10-20	50-100 mL
Auto hemo Trasfusión menor	20-30	10-20	5-10	5 mL
Paravertebral	20	15	10	Aguja 22-27Gx1 ½, 5-20 mL
Subcutánea	10	8	5	1-2 mL máximo 100 mL/sesión
Intra-articular	20	10	5	1-2 mL (dedo), 5-20 mL otros
Acupuntura / reflexología	30	20	10	0,1 - 0,3 mL

Vías no recomendada: **itra venosa directa**

# Racional para el control de la dieta

Antes, Durante y Después de la ozonoterapia

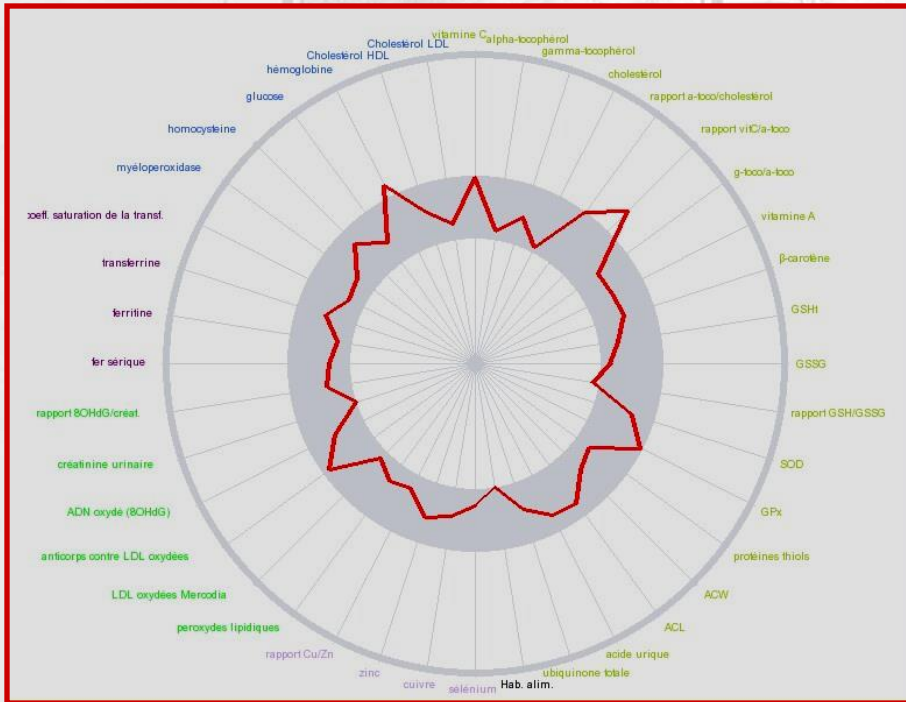
**Antes:** Valorar estado nutricional y restablecerlo a valores normales según los requerimientos

**Durante:** Mantener consumo basal de nutrientes aportados por la dieta

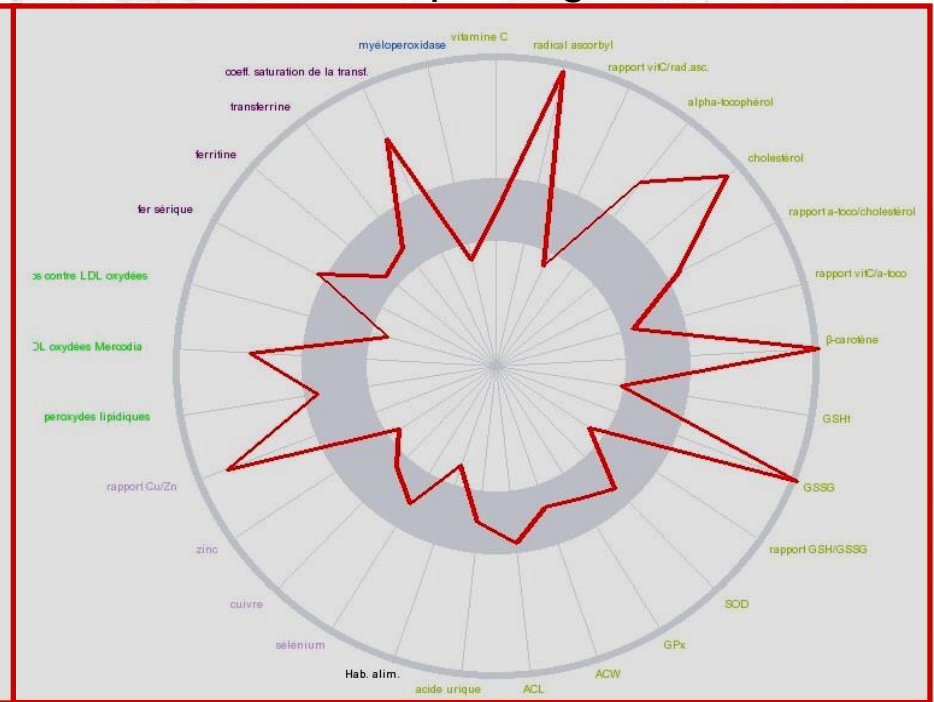
**Después:** Proceder a la suplementación con los nutrientes deficientes (Vit. E, C. Se, Mn, Cu, Zn)

# Estudios Bioquímicos → Perfil de estrés oxidativo

## Perfil Normal



## Perfil patológico



**Diganóstico del integral EO: Una foto del estado del EO en el paciente**

# Digánóstico integrado del ERO

## **Tipos de Estudios:**

**Actividad Antioxidante Tota,**

**Enzimas,**

**Indicadores de daño a Biomoléculas**

**Antioxidantes de bajo peso molecular**

## **Utilidad:**

**Diagnóstico de grupos de pacientes**

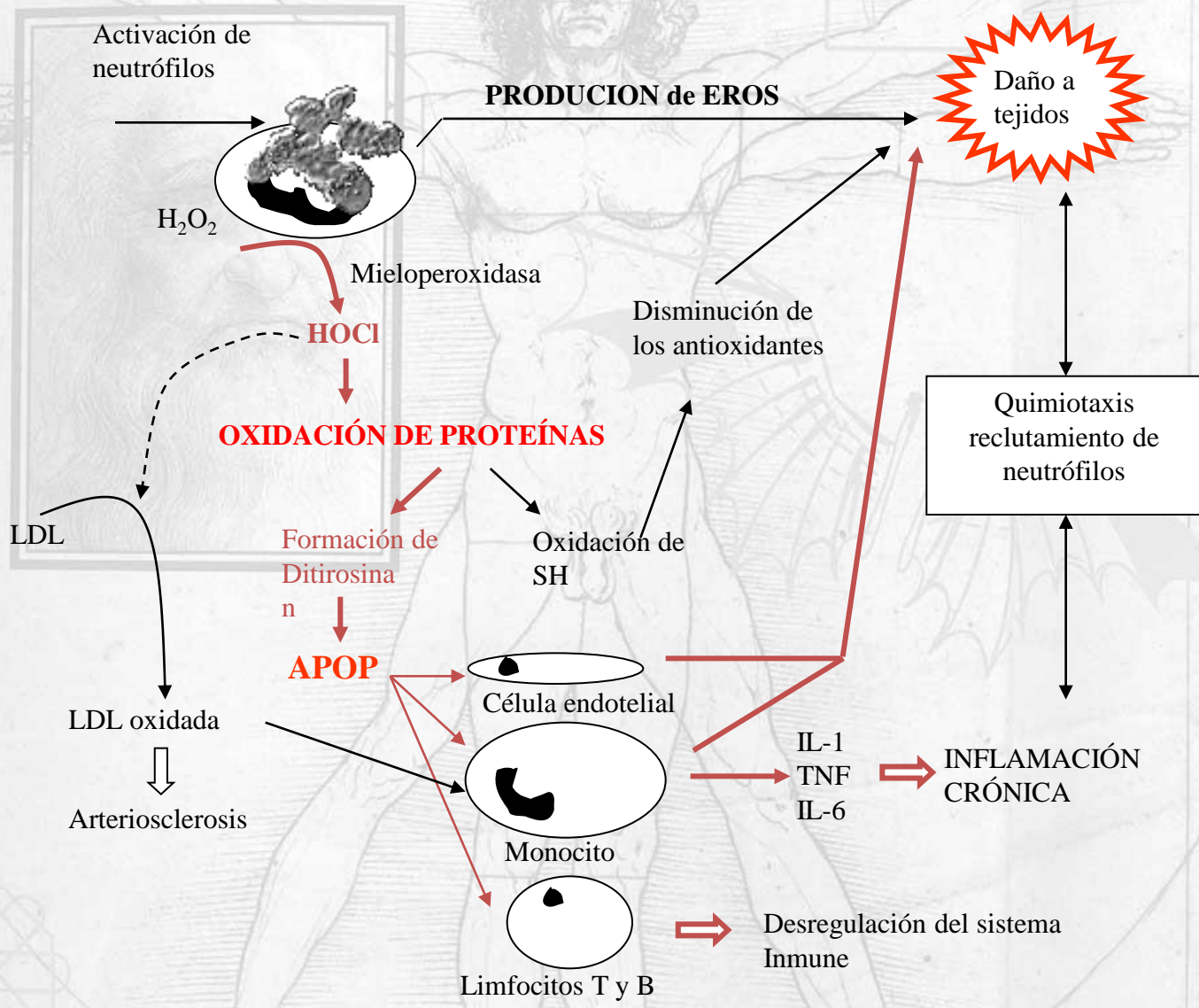
**Diagnóstico de pacientes individuales**

**Monitoreo de una intervención nutricional**

**Monitoreo de una intervención farmacológica**



Los sistemas Ultra micro analicos hacen posible un análisis rápido, con bajos costos y automatiación.





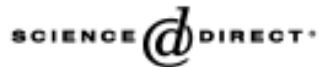
# PRODUCTOS AVANADOS DE LA OXIDACION DE PROTEÍNAS

Valores	PAOP $\mu\text{M}$
Normal	<b>12.13<math>\pm</math>0.93</b>
Diabetes	<b>19-21*</b>
Colitis	<b>29*</b>
Bronchitis	<b>95**</b>
Ataxia	<b>119**</b>

# Monitoreo de una intervención terapéutica



Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)



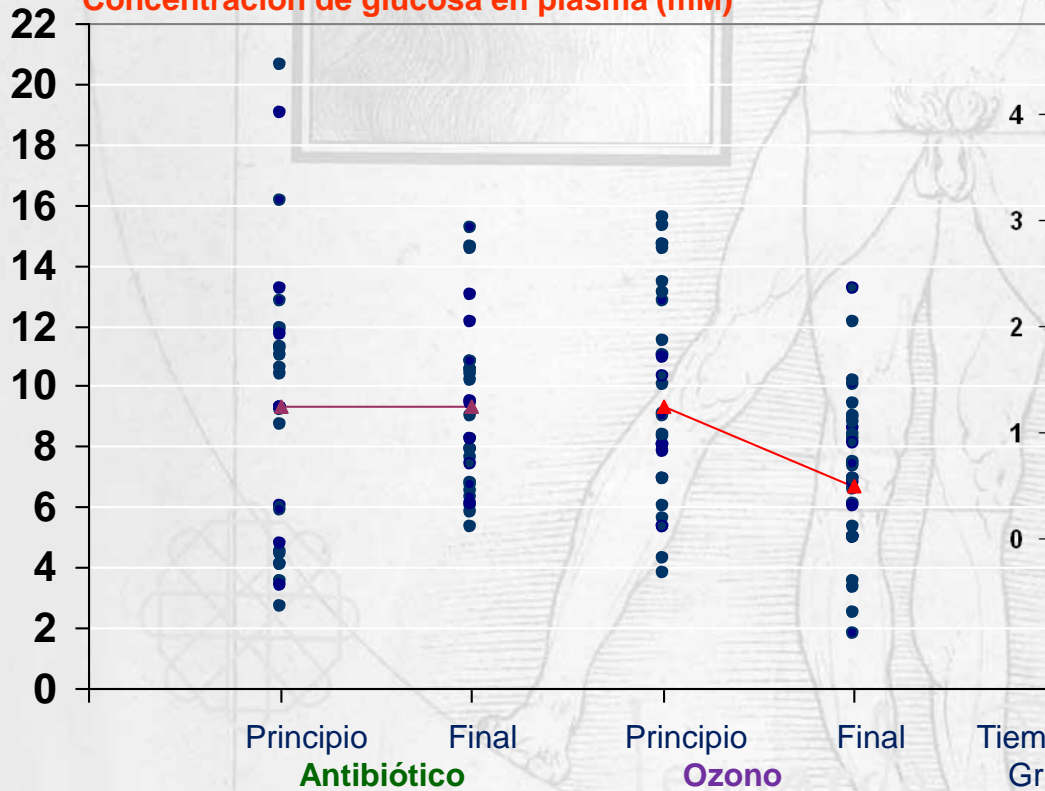
European Journal of Pharmacology 523 (2005) 151–161



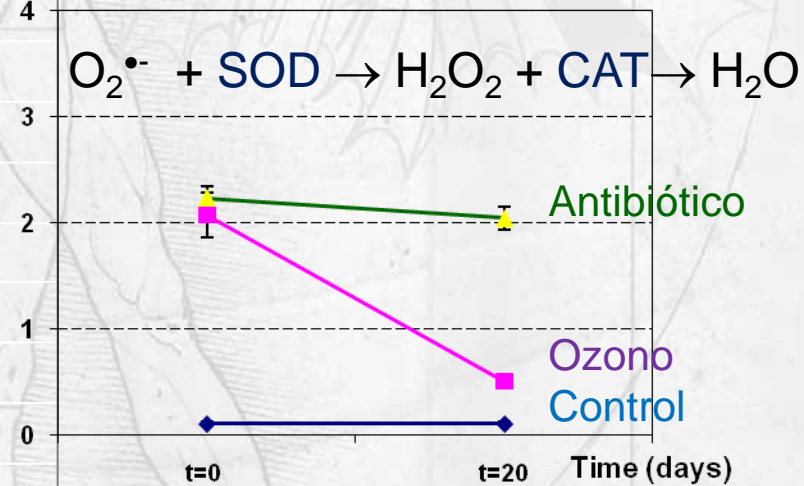
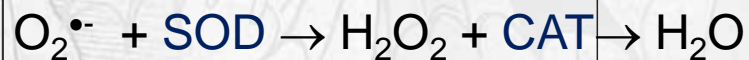
## Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot

Gregorio Martínez-Sánchez <sup>a</sup>, Saied M. Al-Dalain <sup>a</sup>, Silvia Menéndez <sup>b</sup>, Lamberto Re <sup>c</sup>,

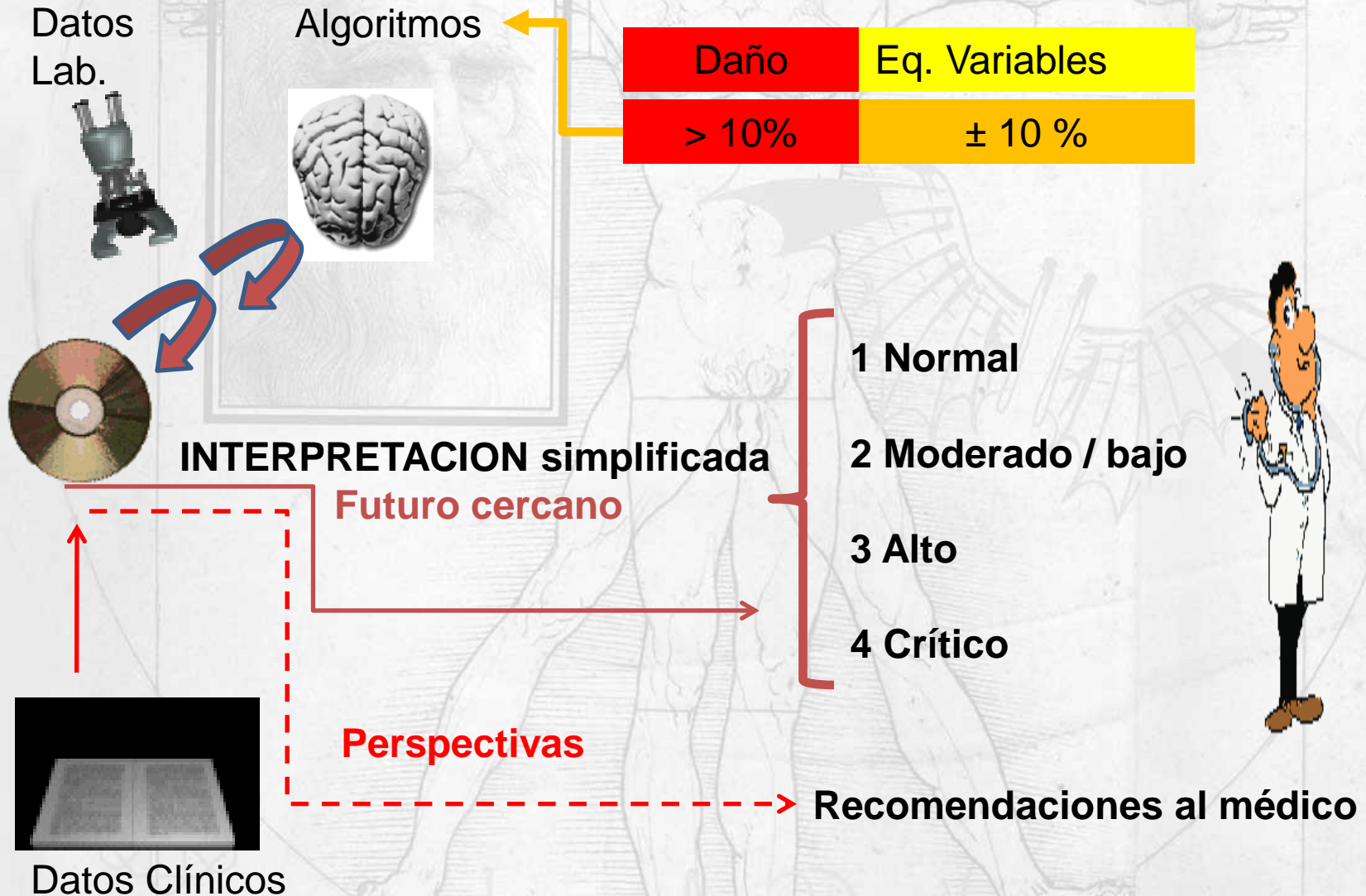
Concentración de glucosa en plasma (mM)



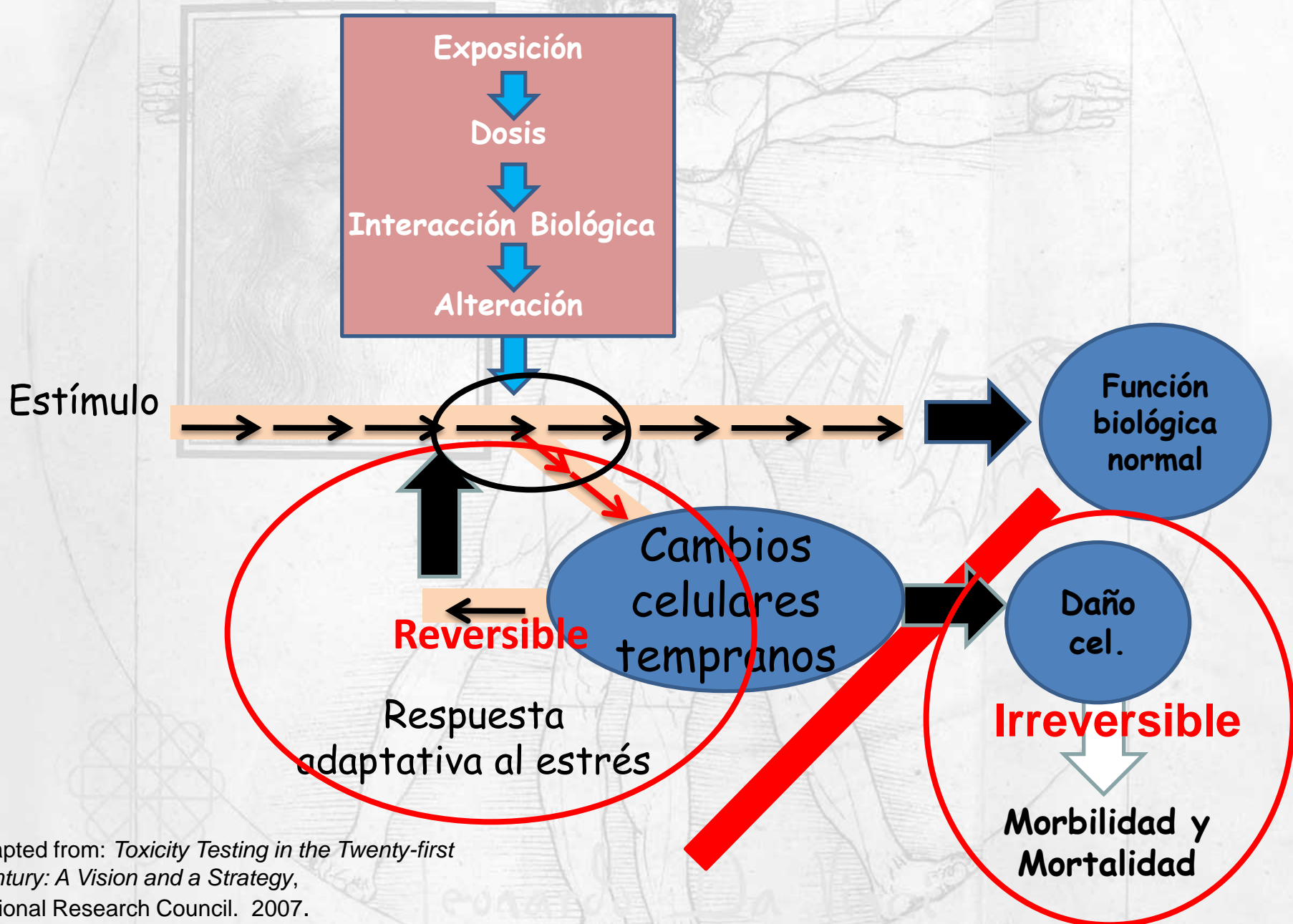
Razón CAT/SOD



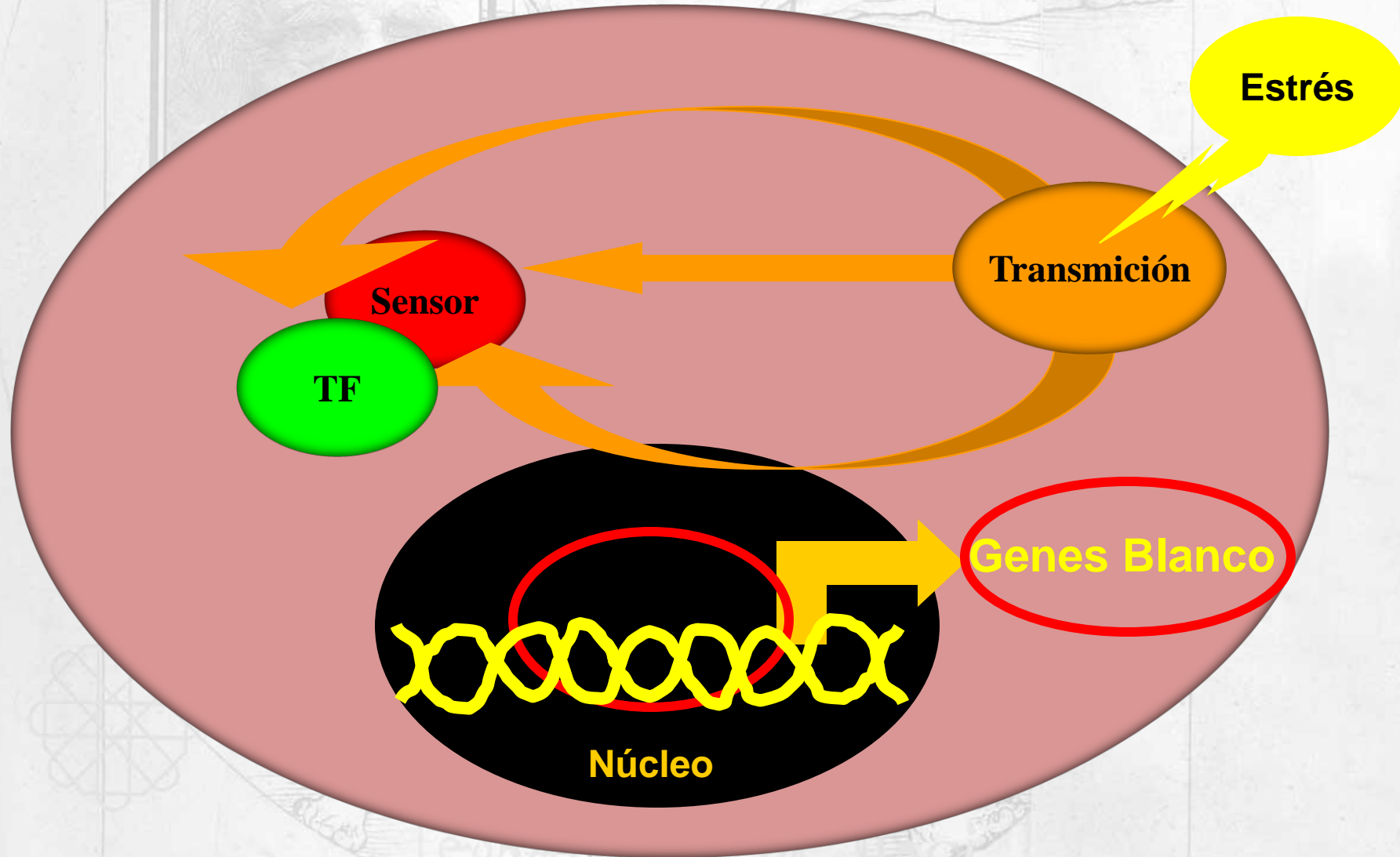
# Futuro: Diagnóstico automatizado



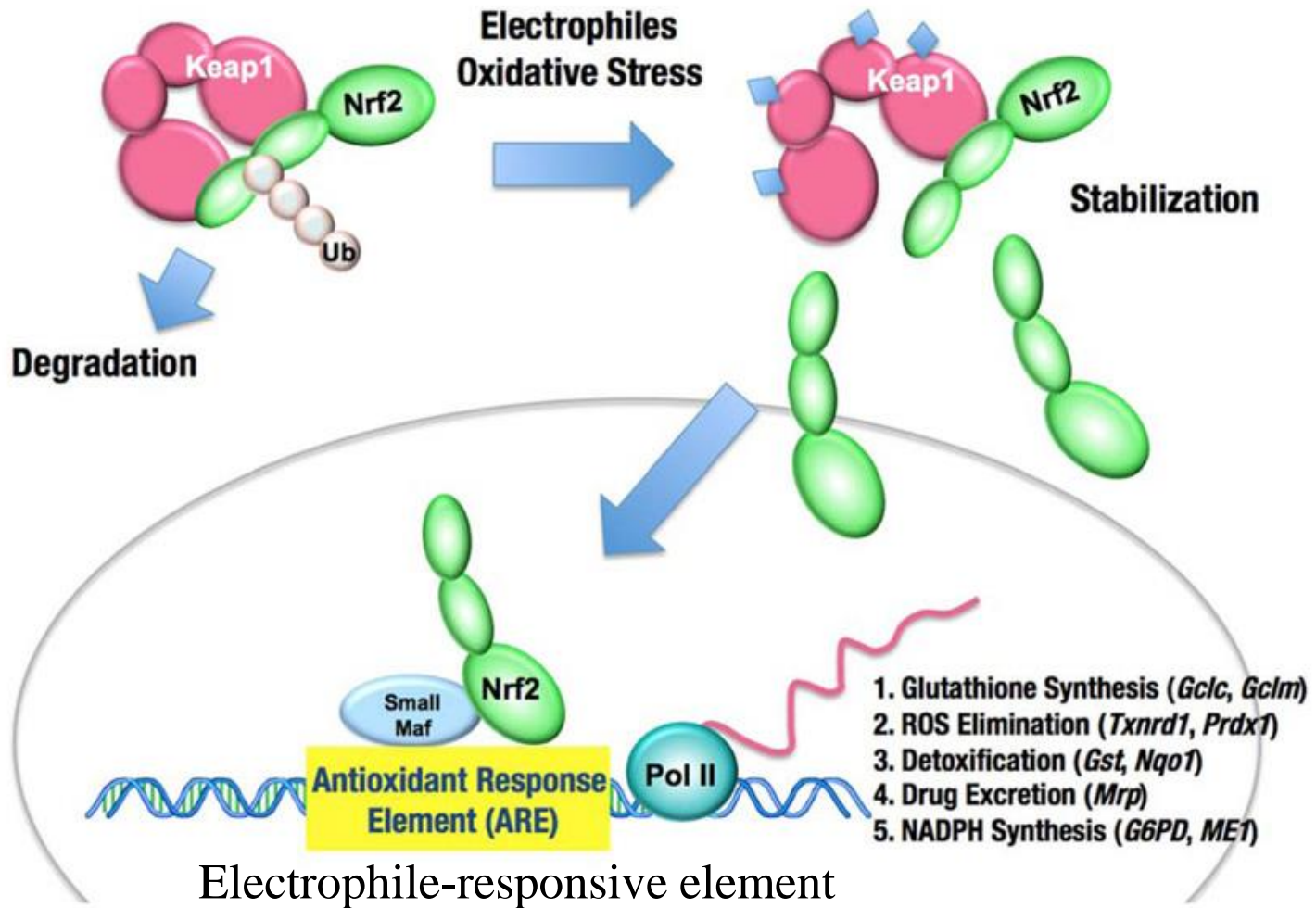
# Respuesta general al estrés



# Estructura de la respuesta al estrés



# Nrf2-mediador de la respuesta al estrés

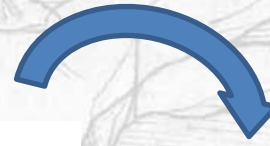


# Ozone y Nrf2. Antecedentes.

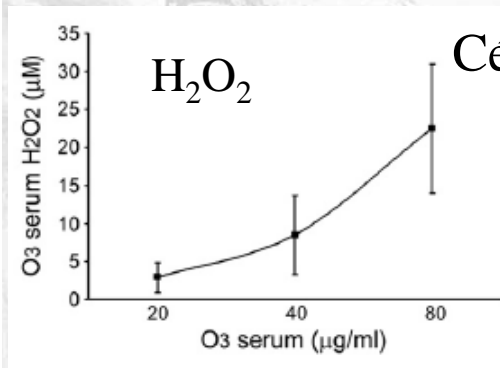
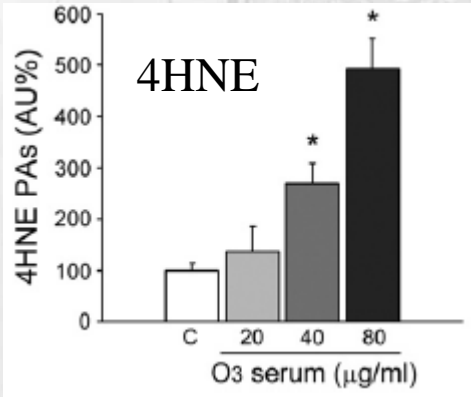
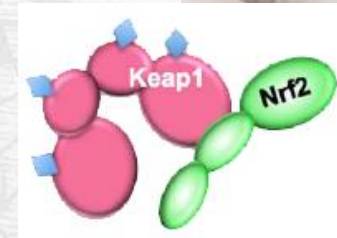
- Kim *et al.*, **2004**. Ozone induced  $\uparrow$ Nrf2 in lungs and livers of B6C3F1 mice.
- Qu *et al.*, 2011. ozonized saline activation of the Keap1-Nrf2- EpRE signaling pathway  $\downarrow$  rat's liver injury induced by  $\text{CCl}_4$ .
- Cho *et al.*, 2013. (Nrf2(-/-)) and wild-type (Nrf2(+/+)) mice. Nrf2 deficiency exacerbates oxidative stress and airway injury by  $\text{O}_3$ .

# Demostración *Ex vivo* ↑Nrf2 /O<sub>3</sub>

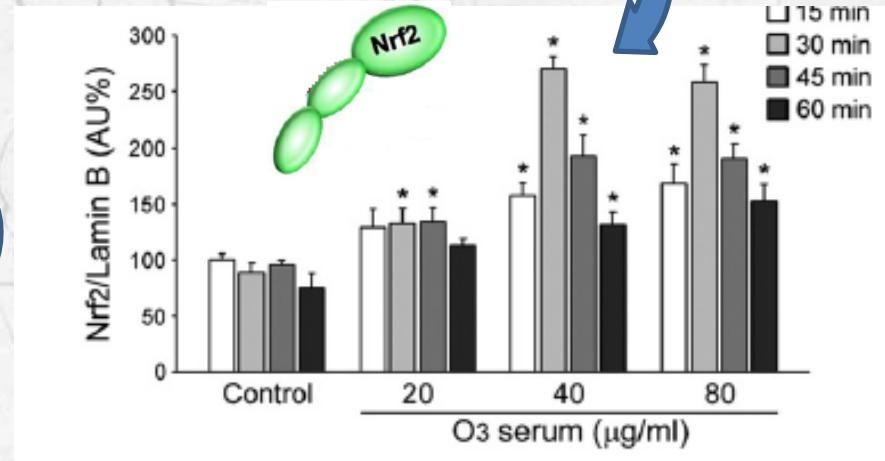
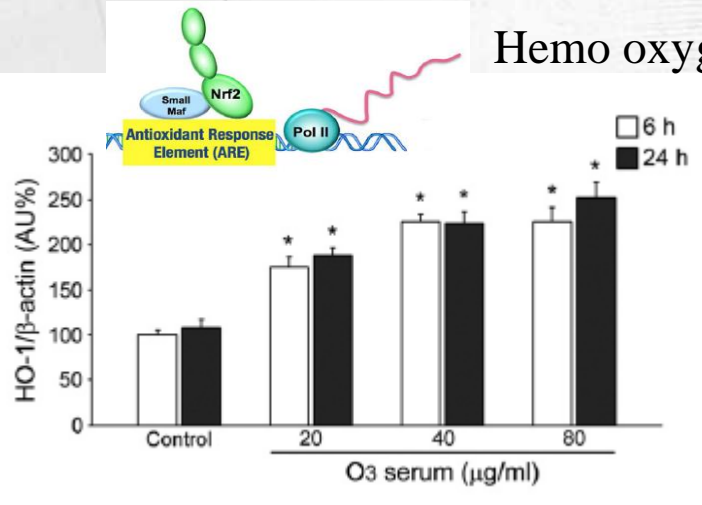
20 mL Suero humano + 20 mL O<sub>3</sub>



Células de endotelio humanas EA.Hy926



Hemo oxygenasa 1



Pecorelli, A., Bocci, V., Acquaviva, A., Belmonte, G., Gardi, C., Virgili, F., Ciccoli, L., and Valacchi, G. (2013). NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol* **267**, 30-40.



# Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*? A preliminary result. (2014)

European Journal of Pharmacology 742 (2014) 158–162



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

European Journal of Pharmacology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ejphar](http://www.elsevier.com/locate/ejphar)



Molecular and cellular pharmacology

## Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*? A preliminary result



Lamberto Re <sup>a,\*</sup>, Gregorio Martínez-Sánchez <sup>b</sup>, Marica Bordicchia <sup>c</sup>, Giuseppe Malcangi <sup>a</sup>, Antonella Pocognoli <sup>c</sup>, Miguel Angel Morales-Segura <sup>d</sup>, John Rothchild <sup>e</sup>, Armando Rojas <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Clinical Pharmacology & Toxicology Department, Medinat SAS, Via Razioli 22, 60021 Camerano, Ancona, Italy

<sup>b</sup> Medical Center Beauty Benefit – San Biagio di Osimo, Via Mons. Oscar Romero, 31, 60027 Osimo, Ancona, Italy

<sup>c</sup> Department of Internal Medicine, University of Ancona, Politecnica delle Marche, 60131 Ancona, Italy

<sup>d</sup> Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago de Chile, Chile

<sup>e</sup> Holistic Dentist Clinic, 175 Mercado Street, Suite 115, Durango, CO 81301, USA

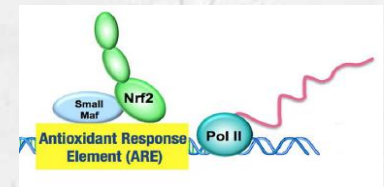
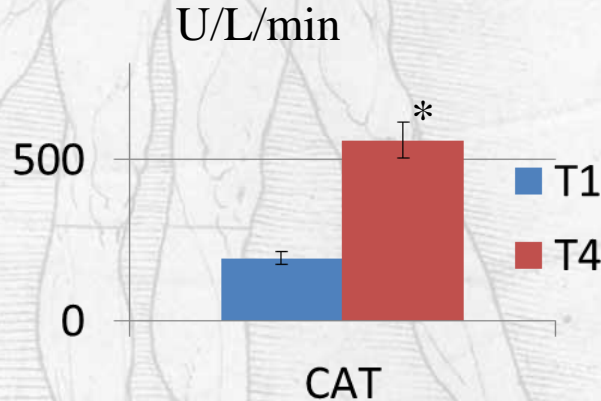
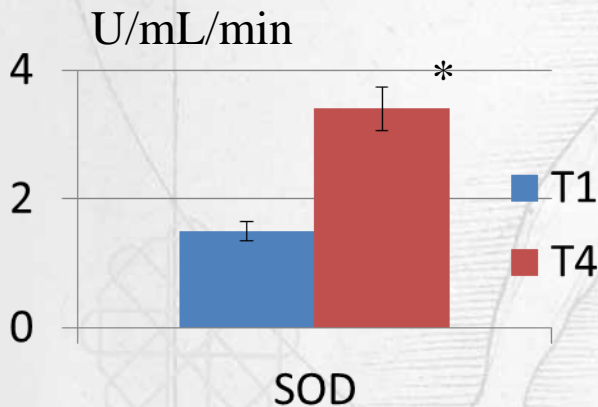
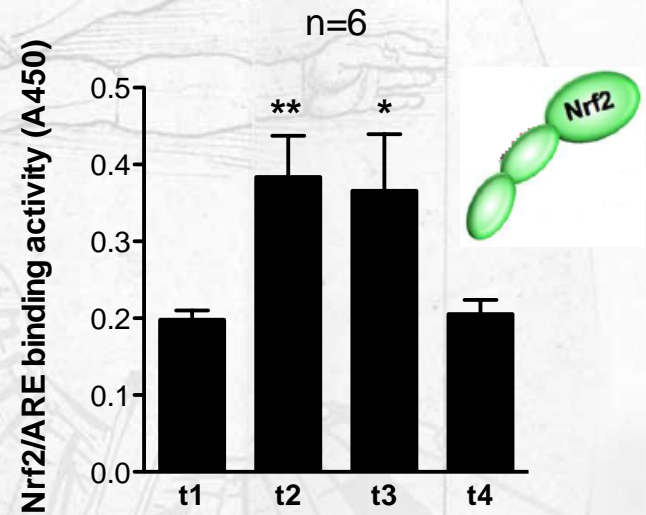
<sup>f</sup> Biomedical Research Laboratories, Medicine Faculty, Catholic University of Maule, Talca, Chile

# Demostración *In vivo* $\uparrow$ Nrf2 / O<sub>3</sub>

45  $\mu$ g/kg b.w O<sub>3</sub> 35  $\mu$ g/mL



1. Tiempo 0, Control (T1)
2. Sangre ozonizada en la botella (T2),
3. Sangre total 30 min después de la auto hemo(T3)
4. Un día después de la aplicación de 4 auto hemos (T4).



# Conclusiones

**El Ozono** en contacto con la sangre (componentes del suero y membranas celulares) genera agentes oxidantes que oxidan residuos cisteínas de la molécula **Keap1**.

Algunos de los agentes oxidantes son **H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**, **4-hidroxinonenal** y otros aldehídos.

La oxidación de residuos cisteína en Keap1 evita su degradación por ubiquitinación.

**La activación de la vía Nrf2, mediante su interacción con el sitio de reconocimiento EpRE, regula la expresión de proteínas de sobre vida.**

# Preguntas



Contacte a:

Gregorio Martínez Sánchez, Pharm.D, Ph.D.

Investigador Titular

Director científico [Medical Center Beauty Benefit® srl](#)

[gregorcuba@yahoo.it](mailto:gregorcuba@yahoo.it)

E-MAIL

