

Efecto modulador de la ozonoterapia sobre la actividad del sistema inmune

Modulator effect of ozone therapy over immune system activity

Dra. Jacqueline Díaz Luis^I, Dra. CM Consuelo Macías Abraham^{II}, Dra. C Silvia Menéndez Cepero^{III}

^I Hospital General Docente Roberto Rodríguez Fernández, Ciego de Ávila, Cuba

^{II} Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba

^{III} Centro Prodanza, La Habana, Cuba.

RESUMEN

El empleo de la medicina biológica ha permitido aplicar terapias sistémicas beneficiosas donde el cuerpo es tratado como un todo. La ozonoterapia es una técnica interesante en el campo de aplicación de la medicina biológica; es un proceder terapéutico, seguro, natural y factible, con resultados alentadores en el tratamiento de enfermedades inmunológicas, por el impacto social y económico que se genera tras su aplicación. Existen evidencias experimentales que aseveran esta afirmación. En este artículo se describen las propiedades inmunomoduladoras de la ozonoterapia, al caracterizar los efectos biológicos del ozono sobre las células del sistema inmune, mediadores solubles y otros tipos celulares.

Palabras clave: Ozonoterapia, inmunomoduladores, medicina biológica, inmunoestimulación.

SUMMARY

The employment of biological medicine has allowed the application of beneficial and systemic therapies where the body is treated as a whole. The ozone therapy is a

modality of the biological medicine, it is a natural therapeutical procedure that has represented an extremely safe medical therapy, free from side effects, an effective and feasible method in the field of treatment of immunological diseases, with encouraging results for the social and economic impact that is generated after its application. There are experimental evidences that assert this statement. We hereby describe the immunomodulatory property of ozone therapy, the biological effects of the ozone on the cells of the immune system cells, other cellular types and different immune mediators.

Key words: Ozone therapy, immunomodulatory, biological medicine, immune stimulation.

PROPIEDADES BENEFICIOSAS DEL OZONO EN EL ORGANISMO HUMANO

La medicina biológica (MB) estudia al individuo desde una perspectiva global y su base se establece en el sistema inmunitario. Esto es, la medicina del bienestar donde el cuerpo humano es tratado como un todo, teniendo en cuenta la relación entre todos los órganos y las diferentes zonas del organismo. La MB tiene dos vertientes: el tratamiento y la prevención de las enfermedades.

La ozonoterapia (OT) es la técnica que utiliza el ozono (O_3) como terapia en la nueva práctica de la MB. Es un proceder terapéutico, que ha resultado ser eficaz en diferentes enfermedades donde se han obtenido resultados satisfactorios.¹ La base de esta terapia está a nivel celular, ha sido popularizada y existen artículos publicados en diversas revistas de impacto que confirman su eficacia en el tratamiento del dolor relacionado con hernias discales, en las isquemias vasculares, la retinosis pigmentaria y en enfermedades cutáneas.² Constituye un complemento terapéutico muy eficaz, que puede favorecer sin riesgo alguno la evolución de una enfermedad con pronóstico reservado o grave.

El ser humano no puede prescindir del oxígeno por más de tres minutos. El oxígeno se emplea en la oxidación biológica, es esencial para la obtención de energía en las células y, por tanto, de los órganos. Las propiedades químicas especiales del oxígeno y sus metabolitos se aprovechan en la terapia con O_3 .³ La novedad de la OT radica en su probado efecto contra los radicales libres, función dirigida a restaurar y mejorar los efectos defensivos naturales de las células contra los oxidantes y los radicales. Ello se logra mediante la estimulación de algunos de los propios sistemas enzimáticos protectores básicos, tales como: glutatión peroxidasa, glutatión reductasa, catalasa y superóxido dismutasa. Este efecto antiradical libre le confiere su acción antidegenerativa y antienvjecimiento.

Otro efecto novedoso en esta terapia es la acción revitalizante y de producción de energía ya que sus funciones se dirigen a restaurar el metabolismo del oxígeno y reactivar diversos ciclos enzimáticos relacionados con el metabolismo de azúcares,

ácidos grasos y lípidos.^{3,4} El aumento de la energía disponible en las células les permite, recuperar su funcionalidad y vitalidad óptimas. Con ello normalizan funciones perdidas o disminuidas (incluidas las defensas inmunitarias) por efecto de factores negativos como el envejecimiento, los hábitos tóxicos y la contaminación ambiental. Así también se logra la recuperación y prevención de muchas enfermedades degenerativas, infecciosas y metabólicas.¹

Se ha demostrado científicamente que las aplicaciones controladas del O₃ médico mejoran la actividad celular antioxidante al lograr con su aplicación reequilibrar el gradiente de óxido-reducción celular de manera directa, lo que favorece la eliminación de radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno.⁵ De acuerdo con este concepto, la OT preventiva tendría «efecto antienvjecimiento celular».^{4,5}

EFFECTOS DEL OZONO SOBRE LAS CÉLULAS DEL SISTEMA INMUNE

La actividad del O₃ sobre células inmunocompetentes fue investigada por Bocci y col.⁶ Los resultados obtenidos contribuyeron a la comprensión de cómo el ozono actúa en el organismo humano al demostrar que después de diferentes períodos de incubación la sangre ozonizada libera interferones: alfa (INF- α), beta (INF- β) y gamma (INF- γ); factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α); factor de crecimiento transformante beta (FGT- β); factor estimulante de colonias granulocito-monocito (FEC-GM); e interleucinas (IL)- 6,2,4, 8, 10 y 1 α . La inducción de liberación de IL-2, IFN- γ , FNT- α y FEC-GM es dependiente del tiempo de incubación. La liberación de citocinas es una expresión de diferentes funciones biológicas fundamentales. La IL-6, por ejemplo, favorece la diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas y acelera la síntesis de anticuerpos y proteínas de fase aguda. El FEC-GM produce leucocitosis y los interferones, con su actividad antiviral, previenen la replicación viral y activan las funciones inmunomoduladoras básicas junto con la IL-2 y el FNT- α , como es la estimulación citogenética de las células inmunitarias.⁷

La acción del O₃ sobre la célula inmune se compara con el efecto ocasionado por los mitógenos. En la inducción citocinética de las células inmunocompetentes los linfocitos T CD4+ (cooperadores, auxiliares) activados por los macrófagos producen citocinas que inician la comunicación intercelular en su función de mensajeros. La IL-2, liberada por estas células, es la responsable de la activación y diferenciación de la célula T, la activación de las células asesinas naturales (siglas en inglés, NK) (citotóxicas espontáneas), inducen la citotoxicidad de las linfocitos T CD8+ y favorece la activación y proliferación de los linfocitos B, de ahí que estas células se consideren un pilar fundamental en la respuesta inmune mediada por células. De esta forma, los linfocitos T CD4+ activados desencadenan una cascada completa de reacciones inmunes.⁸ La activación de linfocitos T CD8+, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, células NK y la activación de la citotoxicidad celular dependiendo de los anticuerpos (ADCC), constituyen mecanismos efectores inmunitarios para destruir células infectadas por virus, células neoplásicas o eliminar bacterias y parásitos.^{8,9}

En la sangre tratada, el O₃ induce directamente la activación de células inmunocompetentes, es decir, puede producir inmunoactivación específica. La sangre es el mejor vehículo para transmitir los mensajeros generados por el ozono.¹⁰ Inversamente, la liberación de IL-10 y FGT- β 1 suprime el exceso de inmunoestimulación, lo que resulta en una programación ordenada o regulación controlada de la respuesta inmune. Esta es una de las razones por lo que la

autohemoterapia (AHT) se aplica en el tratamiento de enfermedades autoinmunes tales como la artritis reumatoide.¹¹

Se ha descrito que el mecanismo activo del O₃ sobre las células inmunocompetentes es a través de la ozonólisis de los ácidos grasos insaturados que componen la membrana celular, y que ocurre en fracciones de segundos. El rompimiento de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados da lugar a peróxidos hidrofílicos de cadenas más cortas, peróxido de hidrógeno (H₂O₂), aldehídos y ozónidos. Los hidroxidroperóxidos de cadena corta entran en el espacio intracelular y activan la proteína cinasa que fosforila el factor inhibidor específico (IκB), que habitualmente está unido al factor nuclear kappa B (FN-κB).¹² El FN-κB es un factor de transcripción que induce la síntesis de muchas proteínas y es mediador de la respuesta inmune e inflamatoria. Se identificó por primera vez como regulador del gen de la cadena ligera kappa en el linfocito B y posteriormente en células endoteliales, macrófagos, hepatocitos, leucocitos y células epiteliales. ⁸ Es un heterodímero citosólico constituido por dos subunidades proteicas denominadas P65 y P50. Su activación conduce a la activación de diferentes proteinasas que degradan el inhibidor. Una vez libre el FN-κB se trasloca al núcleo y se une a la región promotora de genes que median la síntesis de citocinas. La activación del NF-κB mediante el H₂O₂ es uno de los mecanismos de acción del ozono.^{13,14.}

De forma habitual está inactivado por el IκB. El IκB es un complejo de proteínas formado por la proteína IκB alfa, IκB beta, IκB gamma, P105 y bcl.¹⁴ El FN-κB es activado durante la respuesta inmune por un número de señalizaciones de los receptores de citocinas (FNT, IL-1), los receptores de reconocimiento antigénico de los linfocitos T (RCT) y B (RCB) y los receptores TOLL, lo que conduce al aumento en la expresión de genes de citocinas (IL-1, FNT, IL-6), quimocinas (CCL2, CXCL8), moléculas de adhesión (E-Selectina) y moléculas coestimuladoras (CD80, CD86). ^{14,15}

Las citocinas no están almacenadas usualmente como moléculas preformadas. ¹⁶ Su síntesis es transitoria y se inicia por la transcripción de nuevos genes como resultado de la activación celular, y una vez sintetizadas son rápidamente secretadas. La estimulación de las células mononucleares a través del O₃, por activación del factor NF-κB, ^{8,17} induce la síntesis y liberación de citocinas, de manera prácticamente fisiológica, sin ocasionar las reacciones severas y desagradables que se presentan con la administración del interferón como medicamento; y en dosis bajas puede permitir la reactivación endógena de un sistema inmune deprimido. ¹⁷ En dosis correctas el O₃ es un inductor de IFNα, FNTα, IL-2 e IL-6, por lo que tiene actividad antibacteriana y antiviral y no provoca daño celular.

La producción *in vitro* de citocinas no es inmediata, se inicia después de dos horas y aumenta en el tiempo. Estos eventos tienen lugar durante la exposición de la sangre al ozono fuera del organismo. La reinfusión de la propia sangre del paciente con los hematíes y células inmunocompetentes activadas que migran hacia los órganos linfoides secundarios (bazo, nódulos linfáticos, timo, placas de *peyer*) y a órganos no linfáticos (pulmón, e hígado), transmiten información y activan a otras células inmunocompetentes. En los estudios realizados, se ha estimado que se requiere una serie de tratamientos de 10 o más infusiones de AHT para lograr los efectos a largo plazo. De acuerdo al cuadro patológico que se presente, 1 o 2 ciclos de tratamientos son requeridos por año.¹⁸

Los productos de la descomposición del O₃, especialmente el H₂O₂ y los lipoperóxidos, se comportan como marcadores biológicos asociados con la mejoría del sistema

inmune. Se ha descrito que esos compuestos favorecen la actividad de neutrófilos y su función fagocítica.^{19,20} La fagocitosis es el mecanismo efector inespecífico de defensa donde los microorganismos y restos celulares son captados, englobados e introducidos en el interior de la célula fagocítica con el fin de eliminarlos.²⁰

El H_2O_2 es letal para las células bacterianas, ocasiona lisis de la pared celular, estallido y destrucción; también tienen una función muy importante al activar quinasas y factores de transcripción que inducen la síntesis de citocinas y factores de crecimiento.¹²

Otro aspecto de interés del O_3 como inmunomodulador es durante la «microoxidación» controlada que se produce tras su administración, cuyo «efecto vacuna» da como respuesta una activación favorable de los sistemas antioxidantes. Como se describió anteriormente, el O_3 posee un efecto oxidativo controlado que estimula y regula la acción de enzimas antioxidantes: glutatión reductasa, glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa. De las especies reactivas del oxígeno, el H_2O_2 es el más importante oxidante derivado del O_3 que, como mensajero fundamental, regula la transducción de señales y los efectos biológicos del O_3 , entre ellos, en el sistema inmune. De la interacción con ácidos grasos y lípidos surgen los productos de oxidación lipídica (POL) generados por el O_3 que también son responsables de mensajes químicos a las células. La inducción de glutatión celular, hemoxigenasa 1 y proteínas de estrés térmico son algunas de las vías mediante las que los POL inducen una actividad antioxidante.⁴

El ozono médico se puede usar como un fármaco más con actividad reguladora general, que ejerce sus efectos al estabilizar el equilibrio redox celular. Los POL y el H_2O_2 , generados por la descomposición del O_3 , se comportan como moléculas señalizadoras de estrés, lo que mejora el equilibrio energético celular y el sistema inmune en beneficio de enfermedades como son la psoriasis, el asma y la artritis reumatoide. Es considerado por diversos autores como una droga capaz de modificar la respuesta biológica por la multiplicidad de acción y la generación de señalizaciones intermoleculares.²¹

Se ha probado la efectividad de la OT para modular el sistema inmune al inducir la producción de citocinas a partir de las células mononucleares de la sangre y regular el estrés oxidativo por estimulación de los sistemas antioxidantes celulares.⁶

APLICACIÓN DE LA OT EN LAS ENFERMEDADES INMUNOLÓGICAS

El O_3 favorece la homeostasis del sistema inmune al normalizar los parámetros que están incrementados y aumentar los que están disminuidos.

Los trastornos inmunitarios por defecto (inmunodeficiencias) pueden ser primarios (IDP) y secundarios (IDS). Los pacientes con IDP presentan manifestaciones clínicas comunes entre las que se encuentran infecciones, manifestaciones alérgicas, tumorales y autoinmunes. Las infecciones en estos enfermos son prolongadas, recurrentes, de localizaciones múltiples, causadas generalmente por organismos de baja patogenicidad, con respuestas inadecuadas a los tratamientos habituales, la aparición de complicaciones y secuelas.

Se han caracterizado según la anormalidad de los componentes del sistema inmune, en deficiencias de diferentes tipos. La clasificación de la Sociedad Internacional de

Inmunología comprende más de 160 tipos descritos por la OMS, con diferentes fenotipos inmunológicos.²²

Las infecciones severas, recurrentes y crónicas presentes en las IDP e IDS, suponen un medio ambiente celular poco oxigenado y por tanto una condición que conduce a un mal funcionamiento de la actividad defensiva leucocitaria (fatiga celular), por fallo en la eliminación de los gérmenes y el ataque a células sanas.²³ El O₃, al aumentar significativamente los niveles de oxígeno en la sangre, no solo durante su administración sino durante largos períodos, pudiera facilitar las condiciones para que la actividad defensiva leucocitaria cumpla su función; además, modula su respuesta y evita autoagresiones.²⁴

La célula necesita el oxígeno para vivir pues es necesario para la obtención de la energía. Cuando la célula absorbe el oxígeno, activa el metabolismo celular, lo que incluye una serie de reacciones de oxidación reducción, donde se genera la energía que hace que la célula se mantenga viva. La mitocondria es esencial en el metabolismo energético de la célula, se especializa en la síntesis de ATP mediante procesos como la fosforilación oxidativa y el transporte de electrones.²⁵ Los efectos biológicos del O₃ hay que buscarlos a nivel celular; donde decrece sustancialmente el daño celular por falta de oxigenación, independientemente de la enfermedad subyacente.^{24,26}

La acción inmunológica del O₃, dirigida sobre los monocitos y los linfocitos T, hace que sean inducidos a liberar pequeñas cantidades de todas las citocinas y de INF- α de forma endógena, lo que resulta útil en el tratamiento de las inmunodeficiencias. Se considera que durante el tratamiento con O₃ puede incrementarse la liberación de antagonistas de las citocinas como el FGT- α 1, capaz de suprimir la citotoxicidad autorreactiva, por lo que la inducción de citocinas no sobrepasaría los niveles necesarios una vez que se activen los elementos contrarreguladores.⁶

Es conocido que en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida se produce un estrés oxidativo crónico, por lo tanto, el sistema de defensa antioxidante está alterado. Existe también una disminución en los niveles de ácido ascórbico, tocoferoles, carotenos, selenio, superóxido dismutasa y glutatión reducido; una elevación de los niveles de hidroperóxidos y malon-aldehídos y severas afectaciones en la respuesta inflamatoria en la proliferación linfocitaria y la apoptosis. En este síndrome se observó una disminución de la carga viral en más de un tercio e incremento de los valores de linfocitos TCD4+ después de la terapia con O₃.²⁷

Durante las infecciones crónicas, los procesos defensivos de las células fagocíticas ya no son capaces de destruir las bacterias, por insuficiente formación de H₂O₂; es a este nivel donde se aprecia la positiva influencia de los peróxidos formados durante el tratamiento con O₃.

Los mecanismos efectores inmunitarios de las células fagocíticas se dividen en dependientes y no dependientes del oxígeno.^{19,20} En esta fase se produce un alto consumo de oxígeno (*estallido respiratorio*). Este proceso describe un camino metabólico cuya función es producir un grupo de agentes microbicidas altamente reactivos, mediante la reducción parcial de oxígeno. El propósito del estallido respiratorio es proveer una serie de agentes oxidativos que pueden ser utilizados por los fagocitos para la destrucción de microorganismos.¹⁹

Existen evidencias experimentales de estimulación *in vitro* de la función fagocítica leucocitaria en células incubadas con O₃, dependiendo de la concentración de O₃ utilizada, sin citotoxicidad.^{7, 28}

Resultados de investigaciones clínicas en niños con deficiencia en la inmunidad mediada por fagocitos, evidenciaron que después de recibir la OT por insuflación rectal, mejoró su estado clínico y se incrementó el número de células con capacidad fagocítica normal.²⁹⁻³⁰

En las inmunodeficiencias humorales tratadas con OT se describen resultados que muestran incrementos de las inmunoglobulinas.^{31, 32} Es notable también, que el efecto de estimulación de la inmunidad humoral se mantenga aún en el período de 6 meses posteriores a la finalización de los tratamientos; la tendencia se mantuvo ascendente un año después.³¹

En las enfermedades autoinmunes, los tejidos «diana» son infiltrados por macrófagos, neutrófilos y linfocitos TCD8+, responsables de producir especies reactivas del oxígeno y citocinas proinflamatorias con patrón de respuesta Th1. Las citocinas inhibitorias, del patrón de respuesta Th2, están suprimidas. La terapia más efectiva será la que logre restablecer el balance entre ambos patrones.³³ La OT no puede intervenir sobre las causas primarias de la enfermedad, pero es capaz de revertir el efecto del estrés oxidativo crónico y modular el patrón de citocinas Th1 hacia Th2.^{33,34}

Se ha mostrado en investigaciones científicas que el O₃ tiene un mecanismo de acción dual: analgésico y antiinflamatorio. En la artritis reumatoide se ha descrito un efecto modulador al aplicar OT sistémica e intrarticular.³³

La OT intrarticular en las enfermedades reumáticas ha ofrecido ventajas por ser antiséptico, germicida y antiinflamatorio.³⁵ Existen reportes en modelos experimentales que el O₃ intrarticular disminuye significativamente las citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y FNT- α) aumentadas en la artritis reumatoide e induce la interacción inmunológica específica de los sinoviocitos, para retardar la transformación sostenida de los fibroblastos sinoviales hacia la hiperplasia.³⁵

Se han obtenido resultados alentadores con la AHT en otras enfermedades de etiología inmunitaria como son: esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa idiopática, fibromialgia y el asma bronquial.^{4,34}

En pacientes con asma bronquial tratados con OT por insuflación rectal y AHT, hubo aumento significativo de las pruebas funcionales respiratorias, disminución en los valores de la IgE sérica e incremento de los sistemas antioxidantes de glutatión eritrocitario.^{36,37}

ACCIÓN GERMICIDA DEL OZONO

La actividad germicida de amplio espectro es otra de las propiedades de la OT y los metabolitos del O₃.³ El O₃ es considerado como el mayor germicida existente en la naturaleza al ponerse directamente en contacto con virus y bacterias, en tratamientos locales de heridas y en aguas contaminadas, por tener una acción oxidante directa sobre los microorganismos, y se utiliza como agente antiséptico. Además, interactúa con compuestos orgánicos insaturados durante la ozonólisis, lo que favorece su acción antimicrobiana.^{3,21}

La actividad antiviral, incluye los daños en la cápside, oxidación de la envoltura lipídica, modificaciones en la estructura que impiden la unión al receptor y la penetración en una nueva célula. La acción antiviral es observable en concentraciones inferiores a la acción bactericida. Esto se debe a que los virus tienen menor complejidad estructural en las paredes que las bacterias.

Dentro del organismo la capacidad virucida o bactericida del O₃ se alcanza estimulando el sistema inmune y no por su ataque directo al microorganismo, lo que es fundamental para completar su acción inmunomoduladora, ya que es capaz de modular la respuesta inmune al estimular la actividad de leucocitos y la producción de citocinas, interferones y FNT-a. El H₂O₂ que se forma tras su descomposición, potencia la capacidad defensiva del organismo.³⁸

MODALIDADES DE APLICACIÓN PARA LA TERAPIA INMUNOESTIMULANTE SISTÉMICA

Existen varias modalidades de administración terapéutica del O₃.³⁹ La AHT mayor con O₃ debe tomarse como una terapia endógena de citocinas, con liberación fisiológica concomitante de las citocinas inherentes al cuerpo. En el contexto inmunológico se ha demostrado, que la insuflación rectal del O₃ puede influir de forma sistémica.^{40,41}

El sistema inmune ha incluido características especializadas en las mucosas, importantes para la defensa contra ciertos gérmenes que se localizan fundamentalmente en estos sitios, y asegura la tolerancia a gérmenes comensales no patógenos. Este sistema representa el 40 % del sistema inmune y es fundamental en la actividad de los linfocitos T CD4+ con patrón Th₂, para prevenir la estimulación excesiva de los alimentos, bacterias, virus y antígenos tóxicos.^{8,9}

Los efectos del O₃ por la vía rectal sobre el tejido linfoide asociado a la mucosa del tracto digestivo son extraordinarios. La insuflación rectal con oxígeno/ozono es una de las formas más antiguas de aplicación de la OT. Las evidencias existentes en la actualidad de los resultados obtenidos en estudios realizados en animales, han demostrado que esta vía puede ser utilizada como forma terapéutica sistémica. Se ha observado que en la mucosa colon-rectal de conejos que recibieron OT por vía rectal, el O₃ se disuelve inmediatamente en el agua que recubre los epitelios y reacciona con las heces, mucoproteínas y otras biomoléculas presentes, lo que genera H₂O₂ y POL.⁴¹ Los POL, el H₂O₂ y el oxígeno pasan a través de la musculatura y son absorbidos por la vía linfática y los capilares venosos, alcanzan el hígado y entran en la circulación general. Esto ha permitido que sea considerada una vía alternativa para la AHT mayor, indicada en el tratamiento de las hepatitis B y C y la terapia de inmuoestimulación.⁴²

Conceptualmente es posible un efecto inmunomodulador local y sistémico generado por el O₃ mediante la insuflación rectal, ya que incrementa la inducción de citocinas y la absorción de muramildipéptido (MDP) y lipopolisacáridos (LPS), derivados de las bacterias de la flora intestinal que tienen actividad inmunoadyuvante, ya que son potentes inductores de citocinas.⁴ En condiciones fisiológicas, la absorción diaria de trazas de LPS unida a proteínas específicas y lipoproteínas es considerada esencial para el mantenimiento de la respuesta básica de citocinas y el mantenimiento del sistema inmune alerta. La insuflación rectal con O₃, al favorecer el incremento en la absorción de MDP y LPS, facilita la activación de los linfocitos intrahepáticos y las

células de Kupffer (macrófagos).^{4,41} El O₃ puede equilibrar la flora bacteriana y permitir la inmunoadividad normal.

La insuflación rectal es el método de selección en Pediatría para aplicar terapia inmunomoduladora, ya que se previene la venipuntura repetida, es una forma simple, factible y prácticamente libre de reacciones adversas, siempre que las dosis administradas sean las correctas.⁴⁰ Ha sido demostrado el efecto de la insuflación rectal de forma experimental o clínica y los estudios preclínicos demostraron baja toxicidad.⁴³

Los datos emanados de la investigación científica proporcionan un fundamento teórico esencial sobre las propiedades biológicas del O₃, las modalidades para su aplicación y los efectos beneficiosos en el organismo y en el sistema inmunitario.⁴⁴

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bocci V, Zanardi D M, Travagli V. Mechanisms of action and chemical-biological interactions between ozone and body compartments: a critical appraisal of the different administration routes. *Current Drug Therapy* 2009, 4: 159-73.
2. Arencibia JR, Leyva Y, Collymore A, Araujo JA. Producción científica sobre aplicaciones terapéuticas del ozono en el Web of Science. *ACIMED* [revista en la Internet]. 2006 Feb; 14(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-94352006000100007&lng=es.
3. Menéndez S. Mecanismos de acción biológica y efectos terapéuticos del ozono. En: Menéndez S, González R, Ladea OE, Hernández F, León OS, Díaz M. *Ozono: Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas*. 1ra Ed. La Habana: CENIC; 2008. p. 4-107.
4. Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res* 2006; 37: 425-35.
5. Bocci V, Borelli E, Travagli V, Zanardi I. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med Res Rev.* 2009; 29: 646-82.
6. Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. *Int J Biol Macromol.* 2007; 41: 504-11.
7. Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. *Toxicology in Vitro* 2005 Feb; 19(1): 55-61.
8. Abbas AK. Activation of lymphocytes. In: Abba AK, Lichtman A. *Cellular and Molecular Immunology*. 7^{ma} ed. NY: WB Saunders Co. 2011. p. 203-24.
9. Wikipedia. Sistema inmunitario. [citado 2012 agosto14] Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_inmunitario

10. Travagli VV, Zanardei I, Silvietti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effect of ozone on blood. *Intern. J. Biol. Macromol* 2007; 41: 504-11.
11. Huanqui P, Cruz M, Miranda A, Patrica P, Mamani R. Eficacia y seguridad del ozono ontraarticular en ambas rodillas refractaria al tratamiento. *Rev. Perú Reum.* 2006; 12(1): 21-6.
12. Rhee SG, Bae YS, Lee SR, Kwon J. Hydrogen peroxide a key messengers that module protein phosphorylation through cysteine oxidation. *Sci STKE* 2000; Oct 10: 53.
13. Li Q, Verma IM, . Nf-kB regulation in the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2002 Oct; 2(10): 725-34.
14. Reth M. Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation. *Nat. Immunol.* 2002; 3: 1129-34.
15. Bocci V, Taylor F. Ozone as Janus: This controversial gas can be toxic or medically useful. *Health Sci.* 2004; 13 (1): 3-11.
16. Abbas AK. Cytokines- appendix II. In: Abba AK, Lichtman A. *Cellular and Molecular Immunology.* 7ma ed. NY: WB Saunders Company 2011. p. 501-4.
17. Bocci V, Luzzi E, Corradeshi F, Paulesu L, Di Stefano A. Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993 Apr; 12(2):121-6.
18. Viebahn Haensler R, Andrew Lee A. Los mecanismos de acción del ozono médico. En: Viebahn Haensler R. *El uso del Ozono en Medicina.* 4ta ed. Heidelberg: Practical Handbook; 2002. p. 98-129.
19. Pancer Z, Cooper MD. The evolution of adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 497-518.
20. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood* .2004; 112 (4):935-45.
21. Menéndez S. Propiedades terapéuticas del ozono. *Rev. Cubana Farmacia* 2002; 36(2):189-91.
22. Casanova JL, Fischer C, Zhang SY, Abel L. Revisiting human primary immunodeficiency. *J Int Med.* 2008; 264: 115-27.
23. Poplonyk SA. An overlapping syndrome of allergy and immune deficiency in children. *J Allergy (Cairo)* 2012; 2012:1-9.
24. Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hermetic dose-response relationship. *J Transl Med* 2011; 9: 66-7.
25. Bruce A, Johnson A, Lewis J, Raff M, Keith R, Walters P. *Molecular Biology of the Cell.* 4th Edition. New York and London: Garland Science; 2002.

26. Cardile V, Jiang X, Russo A, Casella F, Renis M, Bindoni M. Effects of Ozone on Some Biological Activities of Cells in Vitro. *Cell Biology Toxicol* 2005; 11: 11-21.
27. Garber, GE, Cameron DW. «The Use of Ozone-Treated Blood in the Therapy of Hiv-Infection and Immune Disease - a Pilot-Study of Safety and Efficacy.» *Aids* 1991; 5(8): 981-84.
28. Díaz J, Martín N, Menéndez CS. Evaluación de la actividad inmunomoduladora del ozono sobre los leucocitos: in vivo e in vitro. *Vaccimonitor* 2011; 20 (1): 22-3.
29. Travagli V, Zanardi I, Bernini P, Nepi S, Tenori L, Bocci V. Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. *Int J Toxicol*. 2010; 29: 165-74.
30. Díaz J, Sardiñas G, Menéndez S, Macías C. Efecto inmunomodulador de la ozonoterapia en niños con deficiencia en la inmunidad mediada por fagocitos. *Mediciego* 2012; Vol. 18 (1): Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mciego/vol18_01_2012/articulos/t-9.html
31. Centro de Investigaciones del Ozono. Compendio de estudios y aplicaciones del Ozono en Cuba (1980-2004) [CD-ROM]. La Habana: SOFTCAL-CENIC, 2005.
32. Díaz J, Parés Y, Risco G. Aplicación de la ozonoterapia en la deficiencia Selectiva de IgA. *Revista Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2009; 25(supl):265-301.
33. Méndez IP, Montesino AC, Peña RC, Martínez GJ, Menéndez CS. Ozonoterapia sistémica e intraarticular en la artritis de la articulación temporo-mandibular por artritis reumatoide. *Rev. CENIC* 2010; 41[supl3]: 169-72.
34. Tallon H, Jave F. Oxígeno-Ozonoterapia: una realidad Médica. *Rev Soc Esp Dolor* 2009; 16(03): 190-2.
35. Carmona L. Ozonoterapia en Enfermedades Reumáticas. *Reumatología Clínica* 2006; 2(3): 119-23.
36. Calunga JL, Paz AY, Menéndez SC, Martínez A, Hernández A. La ozonoterapia en pacientes con enfisema pulmonar. *Rev. Med. Chile* 2011; 139(4): 439-47.
37. Hernández F, Calunga JL, Turrent J, Menéndez S, Montenegro A. Ozone therapy effects on blood biomarkers and lung function of asthma patients», *Arch Med Res*. 2005; 36(5):549-54.
38. Bocci V. Ozonation of blood for the therapy of viral disease and immunodeficiencies. A hypothesis. *Medical hypothesis* 1992 Sep; 39(1): 30-4.
39. PROMEDICA. Generadores de ozono para uso médico. Vías de administración. Madrid: José Bergamín. Actualizado [31/03/ 2008; citado 15/11/2011] [aprox. 2 pantallas]. Disponible en: <http://www.promedica.com/admin.html>.
40. German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy. Guidelines for the Use of Ozone in Medicine [actualizado 10/3/2011; citado 3/8/2012] disponible en: http://www.ozonosan.eu/images/upload/File_/Guidelines0309.pdf

41. Bocci V, Borrelli, E, Corradeshi F, Valacchi, G. Systemic effects after colorectal insufflation of oxygen-ozone in rabbits. *Int J Med Biol Environ.*2000; 28: 109-13.
42. Zaky S, Kamel SE, Hassan MS. Preliminary results of ozone therapy as a possible treatment for patients with chronic hepatitis C. *J Altern Complement Med.* 2011 Mar; 17(3): 259-63.
43. Hernandez FA. To what extent does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidative stress. *Arch Med Res.* 2007; 38(5):571-8.
44. Schwartz A. La ozonoterapia y su fundamentación científica. *Rev. Española de ozonoterapia* 2012; 2(1): 163-98.

Recibido: Agosto 20,2012

Aceptado: Octubre 21,2012

Dra. Jacqueline Díaz Luis.

Hospital General Docente Roberto Rodríguez Fernández. Ciego de Avila, Cuba. E-mail: jdl68@moron.cav.sld.cu