

1 ¿Qué es la oxígeno-Ozonoterapia científicamente?

La aplicación sistémica de oxígeno médico, combinado con dosis mínimas (no más de un 5% de la mezcla) de ozono, no es algo nuevo en medicina. Ya en el año 1932 los doctores Fish, Payr y Auburg lo emplearon exitosamente para la curación de abscesos bucales, de fístulas anales y de colitis ulcerosa. Más tarde, en los años 50 el Dr. Zable lo aplicó para mejorar la calidad de vida en pacientes tumorales. Actualmente en Alemania hay unos 8.000 ozonoterapeutas, se calcula que en toda Europa practican la ozonoterapia unos 15.000 médicos, y en España sólo hay en torno a 200 médicos asociados a la Sociedad Española de Oxígeno-ozonoterapia Científica.

Según analiza el Dr. Bocci, factores como el empirismo excesivo y la falta de estandarización, así como la falta de generadores de ozono fiables frenó el desarrollo de esta modalidad terapéutica. Sin embargo, se trata de inconvenientes que en este momento se consideran superados, ya que disponemos de métodos de producción y de aplicación plenamente fiables, a la vez que tenemos el nivel de evidencia necesario, con trabajos científicos de calidad que ya están en prensa.

Aún así, el escepticismo entre la clase médica sigue siendo una realidad, seguramente por el desconocimiento científico de las bases de la ozonoterapia y por el descrédito que da un desarrollo casi estrictamente privado.

No obstante, hoy se reconoce que las aplicaciones sucesivas de ozono médico a nivel general (sistémicas) redundan en un aumento significativo del aporte de oxígeno en todas las células del organismo, lo que supone, a grandes rasgos una mejora en la capacidad celular para auto repararse. ⁽¹⁾

La acción reparadora del ozono parece tener efectividad angiogénica, y una constatación de esto son los excelentes resultados publicados hace tres años, en un ensayo clínico aleatorizado, en una prestigiosa revista europea de farmacología, donde las recuperaciones de úlceras en pacientes diabéticos fueron altamente significativas. ⁽²⁾ También se ha podido demostrar el efecto

beneficioso de este gas sobre otro, el óxido nítrico, crucial en mantener a niveles óptimos la dilatación arterial y el flujo sanguíneo. ⁽³⁾

Hoy podemos asegurar que mediante esta terapia, exenta de todo riesgo, decrece sustancialmente el daño celular por falta de oxigenación, independientemente de la enfermedad subyacente. Además los productos fruto de la descomposición del ozono, especialmente peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos, se comportan como marcadores biológicos que se han relacionado con la mejora del sistema inmune en beneficio de enfermedades como la psoriasis, el asma o la artritis reumatoide. ⁽⁴⁾⁽⁵⁾

Se ha demostrado científicamente que las aplicaciones controladas de ozono médico mejoran la maquinaria antioxidante celular al haberse medido en el interior de las células cantidades superiores de agentes antioxidantes, tales como el glutatión reducido o la superóxido dismutasa. ⁽⁶⁾ Como consecuencia directa el ozono actuará reequilibrando a nuestro favor el gradiente de oxidoreducción celular, favoreciendo la eliminación de radicales libres y otras especies reactivas del oxígeno. De acuerdo con este concepto, la ozonoterapia preventiva tendría “efecto antienvjecimiento celular”, pues el concepto actual de envejecimiento es el acumulo de radicales intracelulares. ⁽⁷⁾

En un organismo preacondicionado con ozono, el daño después de sufrir un infarto será bastante menor, lo que avala las aplicaciones preventivas en las edades de riesgo coronario y cerebro vascular. ^{(3) (8) (9)}

Un modelo clásico de enfermedad asociada directamente a la muerte celular es la retinosis pigmentaria; en ésta los radicales libres aumentan progresivamente en las células de la retina, dando lugar a una perdida visual paulatina que puede terminar en ceguera total. También existe un trabajo científico para avalar excelentes resultados en estos pacientes. ⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾

El nivel de evidencia es más elevado de lo que se cree, tal es así que actualmente podemos leer trabajos de excelente rigor y calidad en revistas tan prestigiosas como Nature, Transplant Internacional, Shock, Free Radicals, Mediators of Inflammation, Internacional Journal of Pharmacology, Pharmacological Research, Liver International, etc. Incluso en la revista de la

Sociedad Española del Dolor se dedicó un monográfico completo sobre las capacidades del ozono médico. (12)

La repercusión médica es tal, que si se consulta una de las bases de datos más usadas en medicina, el Pub Med, aparecen 1.400 ítems que nos llevan a otros tantos artículos científicos a cerca de las diversas aplicaciones de este gas, que nuestro propio sistema inmune sintetiza ⁽¹³⁾.

La ozonoterapia consiste en la aplicación de una mezcla de oxígeno médico con ozono a muy baja concentración. El ozono ha de ser producido “in situ” para cada aplicación, y es una molécula formada por tres átomos de oxígeno (O_3) en lugar de los dos (O_2) de los que se compone la molécula de oxígeno. La idea no es nueva, y las aplicaciones de ozono médico se remontan a principios del siglo pasado, pero es la tecnología actual la que nos permite realizar sin ningún riesgo aplicaciones de la mezcla de ambos gases. En cada proceso tiene lugar una “micro oxidación” controlada, cuyo “efecto vacuna” tiene como respuesta la activación a nuestro favor del sistema antioxidante celular. Se ha demostrado en clínica y en laboratorio que este estímulo favorece la producción de unos “super glóbulos rojos”, capaces de transportar y de ceder mayores cantidades de oxígeno a todas las células ⁽¹⁴⁾.

Se calcula que actualmente existen más de 250 enfermedades directamente relacionadas con trastornos de estrés oxidativo, muchas de ellas sin curación, donde se vinculan déficits de vascularización-oxigenación, trastornos auto inmunes o fenómenos de corte apoptótico.⁽¹⁵⁾ En 1982 un estudio alemán con 384.775 pacientes a los que se aplicaron 5.779.238 tratamientos con ozono se observó sólo un 0.0007% de efectos adversos.⁽¹⁶⁾ Dada la inocuidad y la extrema seguridad de la ozonoterapia sistémica, siempre sin interferir ni bloquear los tratamientos estandarizados para cada caso, se hace necesario establecer una línea de investigación seria que avale el desarrollo de esta técnica.

Consideramos que se debe alentar el esfuerzo investigador hacia esta realidad. Pretendemos desarrollar líneas de trabajo en enfermedades incurables donde la calidad de vida podría mejorar, y la mala evolución se

podría ralentizar, ya que la ozonoterapia debidamente aplicada no tiene ningún riesgo.

1. b. Ozonoterapia Sistémica en diabetes y en el modelo de Isquemia/Reperfusión.

La diabetes es la enfermedad endocrina más frecuente. Aproximadamente el 15% de todos los pacientes con diabetes desarrollara una ulcera en el pie durante el transcurso de su enfermedad. Los órganos diana de la diabetes mellitus en relación con sus complicaciones crónicas son los ojos, los riñones, los nervios periféricos y las arterias, aumentando considerablemente la morbimortalidad de la afección.

A nivel de epidemiología básica en diabetes mellitus podemos destacar los siguientes hechos:

- En los países occidentales, el 20% de los ciegos son diabéticos.
- El 50% de los diabéticos que comienzan su enfermedad antes de los 20 años fallece de insuficiencia renal.
- El 20-30% de los diabéticos presentan una neuropatía moderada del tipo de dolores con o sin parestesias y el 2% llega a ser invalidante.
- El 75% de los diabéticos fallece por accidente cardiovascular. De estos más de la mitad presentan cardiopatía isquemia.
- El 50% de los pacientes con amputación por enfermedad vascular periférica son diabéticos.
- El 30-50% de los diabéticos presenta HTA.⁽¹⁷⁾
- Las complicaciones del pie diabético son la causa del 14 al 20% de las hospitalizaciones en estos pacientes, así como de su mayor tiempo de permanencia hospitalaria;⁽¹⁸⁾ además se trata de la primera causa de amputación no traumática del mundo. Los costos de este problema sanitario no se pueden desdeñar.

Las tres complicaciones crónicas que hacen al pie diabético susceptible de presentar graves lesiones son la neuropatía, la isquemia y la infección, afectando con la evolución de la enfermedad a los órganos diana antes mencionados. El Pie Diabético es una consecuencia de estos fenómenos, donde la isquemia/reperfusión dispara los radicales libres, excita

los neutrófilos y aumenta el daño tisular por protesis; la hipoxia, por otro lado, compromete la proliferación de fibroblastos, la formación de colágeno, la síntesis de factor angiogénico y la defensa antimicrobiana.

Los procesos de hiperglucemia son el punto de partida del trastorno, dando lugar a un aumento de glucosa intracelular (elevando la actividad metabólica a nivel del ciclo del poliol) lo que redundará en un aumento del estrés oxidativo. Además se añaden los fenómenos isquémicos propios del daño vascular (isquemia nerviosa) y el componente autoinmune, que da lugar a la neuropatía autonómica; a este respecto, las neuropatías proximales han resultado responder favorablemente a tratamientos inmunosupresores con Ig G intravenosa.⁽¹⁹⁾

En general, se asume que el enfoque de los tratamientos ha de ser básicamente preventivo, ya que el daño producido es difícil de recuperar.

Se acepta que la actividad de la vía del poliol, inducida por la hiperglucemia, da lugar a un aumento del estrés oxidativo que favorece la disfunción neuropática; los tratamientos antioxidantes con ácido alfa-lipoico, alfa-tocoferol, acetil-cisteína, aceites a base de ácido gamma-linolenico, o con L-acetil-carnitina han demostrado su eficacia preventiva en la clínica, y parecen tener efecto neuroreparador en el plano experimental.⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾

La neuropatía diabética es la complicación más frecuente de la diabetes mellitas y potencialmente la más debilitante. En más de la mitad de los casos es asintomática y convierte al paciente, de forma insidiosa, en víctima de complicaciones devastadoras como la ulceración, gangrena, amputación, disfunción sexual y muerte súbita por arritmia cardíaca. Procesos como la degeneración axonal y la microangiopatía endoneural dan lugar al desarrollo de dolor neuropático y de úlceras en estos pacientes.⁽²⁵⁾

Potekhina y cols, del centro de ozonoterapia de Novgorod (Rusia), llevaron a cabo un seguimiento de 60 pacientes (de entre 15 y 85 años) con neuropatía isquémica a los que se les combinó insuflación rectal con inyecciones de suero ozonizado; no se registró ningún efecto adverso, y en el 94% de los pacientes los efectos fueron positivos, con mejora en los registros

electromiográficos sensitivomotores y desaparición completa del dolor y las parestesias en el 60 % de la muestra. ⁽²⁶⁾

Es indudable que en los fenómenos isquémicos la situación de anaerobiosis conlleva a acidosis metabólica con alteración del metabolismo energético y del gradiente transmembrana celular, facilitando la entrada masiva de calcio en el citosol vía NMDA, base de la inflamación neurógena, que se relaciona tanto con la neuropatía, como con la inflamación crónica o la destrucción tisular. En un ambiente inflamatorio se activa la cascada del ácido araquidónico y se dispara la síntesis de prostaglandinas, que son oxidadas por el oxígeno del medio (que les sustrae un electrón) produciéndose anión superóxido; éste radical es capaz de iniciar reacciones en cadena con la síntesis de más especies reactivas del oxígeno, tales como el peróxido de hidrógeno, el hidroxilo u el oxido nítrico.

Por otra parte, también es propia de un ambiente isquémico la hiperproducción de catecolaminas, cuyas tasas también deben ser controladas mediante oxidación, siendo ésta otra fuente de radicales libres.

Un ambiente isquémico supone, como hemos dicho, hiperexcitabilidad celular; algunas células, como los neutrófilos, al excitarse disparan la producción de enzimas proteolíticas (elastasas) cuyos niveles elevados agravan el daño tisular y vascular. Además se sabe que la hipoxia se relaciona con déficit autoinmune, crucial en la etiopatogenia de enfermedades como la artritis reumatoide, donde la ozonoterapia sistémica se ha ensayado como tratamiento complementario. ⁽²⁷⁾

Pero el verdadero problema celular no está en el periodo isquémico, si no en el momento de la reperfusión, ya que es entonces cuando la hipoxantina, fruto de la adenosina que se obtiene por la degradación del ATP, se transforma en ácido úrico, xantina, anión superóxido y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno, por su parte, oxidará metales pesados, como el hierro, comenzando una reacción en cadena (reacción de Fenton) que dará lugar al aumento del radical hidroxilo (altamente tóxico) y a productos de la peroxidación lipídica que también van a estimular el estallido inflamatorio y la síntesis de citokinas proinflamatorias y proteasas, aumentando la lesión. En

cuanto al anión superóxido, éste tenderá a reaccionar con el óxido nítrico para formar peroxinitritos, altamente tóxicos; la neutralización del mismo acarreará su descenso en el medio, privando al tejido de su acción vasodilatadora, antimicrobiana y controladora de la apoptosis. Ya hemos apuntado que el ozono tiende a estabilizar las tasas de óxido nítrico, cuyos niveles, según hemos indicado, tienden a agotarse en los fenómenos isquémicos, facilitando el dolor y la sobreinfección. ⁽²⁸⁾

El preacondicionamiento oxidativo con ozono sistémico, al mejorar la capacidad antioxidante celular, ha mostrado ser un excelente protector en el modelo de isquemia-reperfusión, tanto renal como hepática. ⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾

En cuanto a la aplicación de oxígeno-ozonoterapia sistémica, se sabe que el aumento eritrocitario de 2,3 difosfoglicerato garantiza un mayor aporte de oxígeno, y los beneficios de la ozonoterapia en los procesos isquémicos se ha demostrado en clínica, como es el caso del modelo de pie diabético. ⁽³⁴⁾ También se han publicado trabajos demostrando los beneficios de este tratamiento en diabetes; así, a nivel preclínico se ha evidenciado un control de la glucemia y una mejoría en los marcadores, tanto de daño endotelial como de daño por estrés oxidativo. ⁽³⁵⁾

La infección en el pie diabético constituye un grave problema que pone en peligro la viabilidad de la extremidad y representa un desafío tanto en su vertiente diagnóstica como terapéutica. En casi dos terceras partes de las amputaciones que sufren los diabéticos se encuentra implicada la infección, y las propiedades germicidas del ozono en sus diferentes formas de aplicación se conocen desde hace años. ⁽³⁶⁾

Una terapia validada y que resulta efectiva es la oxigenación hiperbárica, pero desgraciadamente a veces los tratamientos resultan tediosos por el traslado de los enfermos, restando efectividad a un tratamiento complementario perfectamente validado que es capaz de elevar la presión parcial del oxígeno disuelto en plasma hasta los 2000 mmHg, lo que supone cuadruplicarla en el terminal arterial del capilar.

Los tratamientos con ozonoterapia tópico-sistémica sobre el pie diabético no se fundamentan sobre el aumento de presión parcial de oxígeno a

nivel plasmático, como es el caso de la oxigenoterapia hiperbárica, si no que el ozono sistémico a bajas concentraciones (exento de todo riesgo) tiene carácter biocida, regulador del sistema inmunitario, vasodilatador (mediado por el óxido nítrico y el monóxido de carbono), liberador tisular de oxígeno por facilitar la disociación de la hemoglobina, excitador de la síntesis de factores de crecimiento y por consiguiente reparador tisular, y, lo que es más importante por su potencia preventiva: la enorme capacidad para elevar la capacidad antioxidante celular.

Los efectos de la ozonoterapia sistémica y tópica sobre la diabetes en general, y sobre el pie diabético en particular son bastante concluyentes. Van der Zee y De Monte comunicaron dos casos muy refractarios de dolor severo en úlceras de miembros inferiores que no respondían a los tratamientos convencionales; tras realizar una simpatectomía lumbar con bupivacaína y morfina se pudo controlar el cuadro doloroso, pero la efectividad sobre las úlceras fue nula. Con autohemoterapia se consiguió la resolución de ambos casos. ⁽³⁷⁾

En el Tercer Simposium Internacional Sobre Aplicaciones del Ozono, celebrado en La Habana, en el año 2000, se presenta un seguimiento de 1153 casos a lo largo de un año; todos fueron tratados con ozonoterapia sistémica por vía rectal, todos con diversas afecciones vasculares periféricas; la evaluación de los resultados fue evaluada como satisfactoria en un 80% de los casos después de aplicar un protocolo de 15 aplicaciones rectales a una concentración de 40-50 microgramos por ml de ozono; **se pudo registrar una marcada disminución en el número de ingresos, en los tiempos de estancia hospitalaria y en el número de amputaciones, con el consecuente ahorro sanitario.** ⁽³⁸⁾ En el año 2005 se publicó en el European Journal of Pharmacology un ensayo clínico aleatorizado con 101 pacientes diabéticos tipo II aquejados de pie diabético; se formaron dos grupos, uno de los cuales (n=52) fue tratado con ozonoterapia tópica junto a insuflaciones rectales, y otro (n=49) que se trató con antibioticoterapia tópica y sistémica. Después de 20 días se evaluó la eficacia del tratamiento registrando los cambios en la extensión de la lesión, la glucemia, y diferentes marcadores de estrés oxidativo y daño endotelial; al final del estudio se pudo comprobar que el grupo tratado con ozonoterapia mejoró en el control de la glucemia y en su

estado de oxidoreducción, con un aumento de la superóxido dismutasa (relacionada con al menos cuatro vías metabólicas relacionadas con la diabetes y sus complicaciones); no se registraron complicaciones ni efectos adversos; ⁽³⁹⁾ los resultados de este trabajo son muy interesantes desde el punto de vista bioquímico, por encajar con el efecto protector que ya se ha comentado en el entorno endovascular y de la isquemia reperfusión. La versatilidad, seguridad, accesibilidad, comodidad y rentabilidad de las aplicaciones posiciona a la ozonoterapia sistémica como un complemento, no solamente desde el punto de vista terapéutico, si no desde el preventivo, con lo que supone en ahorro público el lograr un descenso de las complicaciones y necesidades sanitarias de los enfermos diabéticos.

En una tesitura como es la de la diabetes en nuestro entorno es ideal iniciar un proyecto como éste enfocándolo a ésta enfermedad en concreto, y sobre todo a nivel de prevención y tratamiento del pie diabético, donde los beneficios serán fáciles de mensurar y objetivar. Más adelante, y acorde con los resultados, podremos ofrecer el beneficio de la ozonoterapia a otras enfermedades donde su efectividad esté científicamente demostrada.

REFERENCIAS.

1. Bocci, V. Ozone as biorregulator and toxicology of ozonotherapy today. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*. v. 10, p. 31-53, 1996.
2. Martínez-Sánchez G, Al-Dalain S. M, Menéndez S, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *European Journal of Pharmacology* 523 (2005) 151–161.
3. Ajamieh H. H., Menéndez, S. et al. Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia–reperfusion. *Liver International* 2004, 24, 55–62.
4. Larini A, Aldinucci C, et al. Ozone as a modulator of the immune system. Institute of general physiology, University of Siena, 53100, Siena, Italy.

5. Hernández Rosales FA, Calunga Fernández J L, et al. Ozone therapy effects on blood biomarkers and lung function in asthma. Received for publication February 18, 2005; accepted April 22, 2005
6. Hussam H A, Berlanga J, et al. Role of protein synthesis in the protection conferred by ozone-oxidative-preconditioning in hepatic ischaemia/reperfusion. *Transplant International* 18 (2005) 604–612. European Society for Organ Transplantation.
7. Bioquímica y Fisiopatología del envejecimiento. Maria Cascales Angosto. *Anales de la Real Academia de Farmacia* 69:33, 421-433, Real Academia de Farmacia, 2003.
8. Hussam H. Ajamieh,1 Jorge Berlanga, et al. Role of protein synthesis in the protection conferred by ozone-oxidative-preconditioning in hepatic ischaemia/reperfusion. *Transplant International* 18 (2005) 604–612.
9. Ajamieh H, Merino N, et al. Similar protective effect of ischaemic and ozone oxidative preconditionings in liver ischaemia/ reperfusion injury. *Pharmacological research*, vol. 45, nº 4, 2002.
10. Marmer R, Parks S. Ozone treatment in retinitis pigmentosa: effect on color perception and blood gasses. *Ann. Ophthalmol.*, 30(3):161-163 (1998).

11. Copello M, Eguía F, Menéndez S, Menéndez N. Ozone Therapy in Patients with Retinitis Pigmentosa. *Ozone science & engineering* Vol. 25, pp 223-232.

12. *Rev. Soc. Esp. Dolor*; Vol. 12; Nº extraordinario 2. 2005

13. Babior B M, Takeuchi C, et al. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. *Proceedings of the National Academy of sciences of the United states of America*. March 18, 2003. Vol 100, nº 6, 3031-3034.
14. Bocci V. oxygen-ozone therapy. A critical evaluation. Kluwer Academic publishers 2002.

15. Cascales Angosto M. Estrés oxidativo, envejecimiento y enfermedad. Instituto de España. España, Madrid 1999; pg. 11.
16. Jacobs et al, Untersuchung Über Zwischenfalle Und Typische Komplikationen In Der Ozon-Sauerstoff-Therapie. Ozo Nachrichten 1982; 1:5.
17. Aragón Sánchez J. El pie diabético. Masson, 1ª edición 2002; pg 9.
18. Bamberger DM, Daus GP, Gerdeng DN. Osteomyelitis in the feet of diabetic patients. Am J Med 1987; 83:653-60) (Levin ME, O'Neal LW, eds: The diabetic foot. St. Louis. CW Mosby Company, 1988; Cap. IX (23): 203.
19. Vinik AI. Advances in diabetes for the millennium: new treatments for diabetic neuropathies. Med Gen Med. 2004 Aug 17; 6(3 Suppl):13.
20. Nagamatsu M, Nickander KK, Schmelzer JD. Lipoic acid improves nerve blood flow, reduces oxidative stress and improves distal nerve conduction in experimental diabetic neuropathy. Diabetes Care 1995. 18:1160-1167.
21. Love A, Cotter MA, Cameron NE. Effects of the sulphhydryl donor N-acetyl-L-cysteine on nerve conduction, perfusion, maturation and regeneration following freeze damage in diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 1996. 26:698-706.
22. Love A, Cotter MA, Cameron NE. Effects of alpha tocopherol on nerve conduction velocity and regeneration following freeze lesion in immature diabetic rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1997. 355:126-130.
23. Cameron NE, Cotter MA. Comparison of the effects of ascorbyl gamma-linolenic acid and gamma-linolenic acid in the correction of neurovascular deficits in diabetic rats. *Diabetologia* 1996. 39:1047-1054.
24. Sima AA, Ristic H, Merry A, Kamijo M, Lattimer SA, Stevens MJ, Greene DA. Primary preventive and secondary interventional effects of acetyl-L-carnitine on diabetic neuropathy in the bio-breeding Worcester rat. *J Clin Invest* 1996. 97:1900-1907.
25. Petr Boucek G. Advanced Diabetic Neuropathy: A Point of no Return? The Review of Diabetic Studies Boucek. Vol. 3; No. 3; 2006.
26. Potekhina Y, Gustov A, Peretyagin S, Dmitriev G, Karpovich E. Regional Diagnostic Center, Nizhni Novgorod, Russia. The use of ozone

therapy in diseases of peripheral nervous system. In Second International Ozone Symposium.

27. Fahmy, Z. Correlation of plasma interleukin 1 levels with disease activity in rheumatoid arthritis with and without ozone. Proc. of 12th. World Congress of the International Ozone Association, Lille, 15 May, 1995.

28. Mutay Aslan¹ and Bruce A. Freeman². Redox-Dependent Impairment of Vascular Function in Sickle Cell Disease *Free Radic Biol Med.* 2007 December 1; 43(11): 1469–1483.

29. Ajamieh H.H., Berlanga J., Merino N., Martínez-Sánchez G., Popov I., Menéndez S., Giuliano A., Re L. and León O.S. "Role of protein synthesis in the protection conferred by ozone-oxidative-preconditioning in hepatic ischaemia/reperfusion", *Transplant Internacional* 18:1-9 (2005).

30. Barber E., Menéndez S., Barber M. O., Merino N., Calunga J.L. "Estudio renal funcional y morfológico en riñones de ratas pretratadas con ozono y sometidas a isquemia caliente", *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 29(3):178-181 (1998).

31. Ajamieh H.H., Menéndez S., Martínez-Sánchez G., Candelario-Jalil E., Re L., Giuliano A., and León O.S. "Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia-reperfusion", *Liver International* 24:55-62 (2004)

32. Ajamieh H.H., Menéndez S., Merino N., Martínez G., Re L. and León O.S. "Ischemic and ozone oxidative preconditioning in the protection against hepatic ischemic-reperfusion injury", *Ozone Sci. & Eng.*, 25(3):241-250 (2003).

33. Peralta C. Xaus C., Bartrons R., León O.S., Gelpi E. and Roselló-Catafau J. "Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemia-reperfusion", *Free Rad. Res.*, 33:595-605 (2000).

34. Martínez-Sánchez, Al Dalain S.M., Menéndez S., Re L., Giuliano A., Candelaria-Jalil E., Álvarez H., Fernández J.I. and León O.S. "Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot", *European Journal of Pharmacology*, 2005 (in press).

35. Mohammed Al-dalain S, Martínez G, Candelario-Jalil E, Menéndez S, Re L, Giuliani A and Sonia León O. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats *Pharmacological Research*, Vol. 44, No. 5, 2001.

36. Saul Pressman. *The story of ozone. Sixth edition*) (Menéndez Cepero S. Propiedades terapéuticas del ozono. *Revista Cubana de farmacia*; Vol. 36 (Suplemento especial nº 2).

37. Van der Zee H, De Monte A. Ozone auto-haemotherapy in lower limb ulcerations. *Proceedings of the 15th Ozone World Congress, London, UK, 11th-15th Sept.*