

LA OZONOTERAPIA Y LA PEROXIDACION DE LOS LIPIDOS. RELACIONES Y EFECTOS EN LA ATEROSCLEROSIS

F. Hernández Rosales

Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba.

Recibido: 11 de enero de 1991

RESUMEN. El ozono ha sido considerado como uno de los agentes más dañinos que existen debido a su alto poder oxidante. Sin embargo, con el desarrollo científico de las últimas décadas, su utilidad en el tratamiento de variadas enfermedades ha sido relevante. En el presente trabajo, se revisan las investigaciones realizadas sobre el ozono y se analizan comparativamente los aspectos perjudiciales y beneficiosos que reporta para la salud humana.

ABSTRACT. The ozone gas has been considered one of the most harmful agents because its high oxidant power. However, with the scientific development of the last decades the ozone usefulness for treatment of several diseases has been outstanding. The present paper reviews the ozone investigations and comparatively analyses the injurious and profitable aspects that it offers for human health.

INTRODUCCION

Química del ozono

Se ha reconocido al ozono como uno de los contaminantes ambientales más dañino que existen. Este compuesto reacciona con las olefinas a una velocidad extremadamente rápida, aún hasta a -78°C es capaz de reaccionar con casi todos los tipos de moléculas orgánicas.¹ El ozono, que no es un radical libre, reacciona con otras moléculas formando radicales libres que a su vez, pueden producir reacciones de oxidación en cadena. Es la sustancia de mayor poder oxidante que existe en la naturaleza.

El ozono contaminante del medio ambiente se forma por la combustión a altas temperaturas de fósiles o por la acción de los rayos ultravioleta solares sobre el oxígeno atmosférico, formando la capa de ozono que cubre la atmósfera.

El Ozono en Medicina

Se ha comprobado que el ozono puede ser aplicado en el campo de la Medicina, si se administra en forma muy controlada y por vías donde el efecto tóxico puede ser mínimo.

El uso del ozono como tratamiento médico (ozonoterapia) data desde los inicios del presente siglo, su descubrimiento fue en el año 1840. Ha sido utilizado en los últimos 40 años en muchas partes del mundo para el tratamiento de variadas enfermedades.²

El ozono medicinal es una mezcla de ozono y oxígeno puro preparada mediante una descarga eléctrica silente en un rango de concentración desde 0,05 hasta 5,00 volúmenes por ciento de ozono.³

En la actualidad existen equipos especiales para producir la mezcla gaseosa ozono/oxígeno, teniendo en cuenta las cantidades necesarias para cada tratamiento y con un alto grado de seguridad para el operador.

Con vista a evitar los efectos tóxicos sobre el epitelio pulmonar, la mezcla gaseosa se administra por vía intraarterial, rectal, intramuscular, subcutánea, intravenosa o por aplicación directa sobre la piel.³

Campos de aplicación en Medicina

Los campos de aplicación para los que se han propuesto posibilidades específicas de éxito con la ozonoterapia son muchos. Entre ellos, se encuentran las hiperlipemias,

específicamente las hipercolesterolemias, las cuales son factores de riesgo de aterosclerosis y en lo cual, se centraliza gran parte de este trabajo.

EFECTOS DEL OZONO A NIVEL CELULAR

Daño

Es de conocimiento general que el posible efecto dañino del ozono se debe a su capacidad oxidativa que puede conducir a lesiones críticas o esenciales.^{4,5} Un estudio cuidadoso de los efectos bioquímicos, morfológicos y fisiológicos de la exposición al ozono apunta hacia las membranas celulares como el sitio preferencial donde se produciría una lesión.

Se han planteado dos hipótesis generales para explicar los mecanismos de la acción tóxica sobre la membrana celular. La primera plantea que la lesión se produce por oxidación de los tioles, aminoácidos de las proteínas o péptidos de bajo peso molecular,⁶ y la segunda, que el efecto se debe a una oxidación de los ácidos grasos insaturados convirtiéndolos en lipoperóxidos.^{4,7}

La peroxidación de los ácidos grasos insaturados constituyentes de los fosfolípidos de la membrana es un fenómeno que puede interferir enérgicamente en las funciones de estas, ya sea afectando su integridad estructural, o simplemente alterando el microambiente lipídico en el que se encuentran las proteínas transportadoras responsables del mantenimiento de los gradientes iónicos transmembrana.^{8,9} Estos daños a los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana pueden ser reparados gracias al reemplazamiento de los ácidos grasos oxidados por otros normales, mediante un mecanismo de deacilación y reacilación *in situ* de los fosfolípidos de la membrana.¹⁰⁻¹² La inhibición de esta vía metabólica puede traer como resultado un daño celular irreversible. Por su parte, los lipoperóxidos formados son reducidos a través de sistemas biológicos de defensa contra las peroxidaciones, entre los cuales se encuentran: el de la enzima glutatión peroxidasa; el del complejo enzimático superóxido dismutasa-catalasa y acciones protectoras llevadas a cabo por agentes antioxidantes tales como las vitaminas E, C y A, el selenio y el ácido úrico.¹³⁻²¹

Debido a que el metabolismo de los peróxidos de los ácidos grasos está muy relacionado con el sistema de la glutatión peroxidasa, el agotamiento de los tioles tales como el glutatión reducido (GSH), sustrato de la glutatión peroxidasa, pudiera incrementar la toxicidad de estos peróxidos. De ahí, que tal como se ha visto, ambas hipótesis se complementan y es muy probable que la oxidación de los ácidos grasos insaturados ocurra simultáneamente con la de los tioles y las proteínas.

La inducción del sistema de la glutatión peroxidasa es uno de los índices bioquímicos más sensibles para medir la exposición al ozono. Se han reportado incrementos de este sistema en ratas expuestas a 0,1 mg/L durante siete días.²² Otros cambios bioquímicos observados son la liberación de lactato deshidrogenasa en el plasma sanguíneo de ratas y monos,²³ incrementos en las enzimas lisosomales del tejido pulmonar,^{24,25} inhibición de la actividad de la acetilcolinesterasa tisular²⁶ y de los eritrocitos,^{25,27,29} en humanos niveles bajos de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa y altos en ratones y ratas,^{30,31} y disminución del contenido de glutatión reducido en las células rojas de la sangre de humanos, cameros, ratones y ratas.³²⁻³⁴

Los cambios morfológicos se han observado fundamentalmente en el tejido pulmonar cuando el ozono es administrado por inhalación. En animales el daño ocurre en todo el aparato respiratorio, con una localización e intensidad dependiente de la concentración de ozono. En varias especies, el daño ocasionado está claramente limitado a la región centroacinal y no se extiende a los alvéolos periféricos.³⁵ En las vías aéreas superiores las células ciliadas parecen ser las más sensibles, siendo dañadas por concentraciones de ozono entre 0,2 y 0,5 mg/L por 8 a 24 h durante siete días en *Maccacus rhesus*³⁵ y en otras especies.^{36,37}

Se ha generalizado que el principal efecto tóxico del ozono se produce en las vías respiratorias cuando éste es administrado por inhalación.

Beneficio

El efecto beneficioso de la terapia con ozono se basa en las propiedades siguientes: acción bactericida, acción antiviral, acción fungicida, acción sobre la estimulación de la circulación sanguínea, acción antiinflamatoria y acción analgésica.

Estas propiedades son utilizadas para combatir un gran número de trastornos o enfermedades tales como: heridas infectadas, úlceras, fístulas crónicas, infecciones por hongos, herpes simplex, herpes zoster, hepatitis A y B y en Odontología.³⁸⁻⁴⁰

Una propiedad de gran importancia es la estimulación de la circulación; con la cual se logra una compensación del aporte insuficiente de oxígeno. Este efecto se logra a través de un mejoramiento del transporte de oxígeno en el sistema vascular, incremento de la transferencia de oxígeno hacia los tejidos, activación enzimática y una aceleración del ciclo respiratorio mitocondrial.³⁸

El mecanismo bioquímico a nivel de las células rojas, para tales efectos, ha sido descrito ampliamente por varios autores.⁴¹⁻⁴⁴

La primera etapa de la reacción es una adición electrofílica del ozono al doble enlace de los ácidos grasos insaturados en la capa de fosfolípidos en la membrana de los eritrocitos. Esto significa que entran a los eritrocitos peróxidos de cadena corta que influirán sobre su metabolismo en forma característica (Fig. 1). El aspecto peculiar sobre el metabolismo normal de los eritrocitos es que produce una oxidación directa de la glucosa a través de la vía glicolítica normal y en la transformación metabólica de la glucosa, vía el ciclo de la pentosa fosfato, cuyos productos finales, se reintroducen en la glicólisis bajo la formación de 1,3-difosfoglicerato.

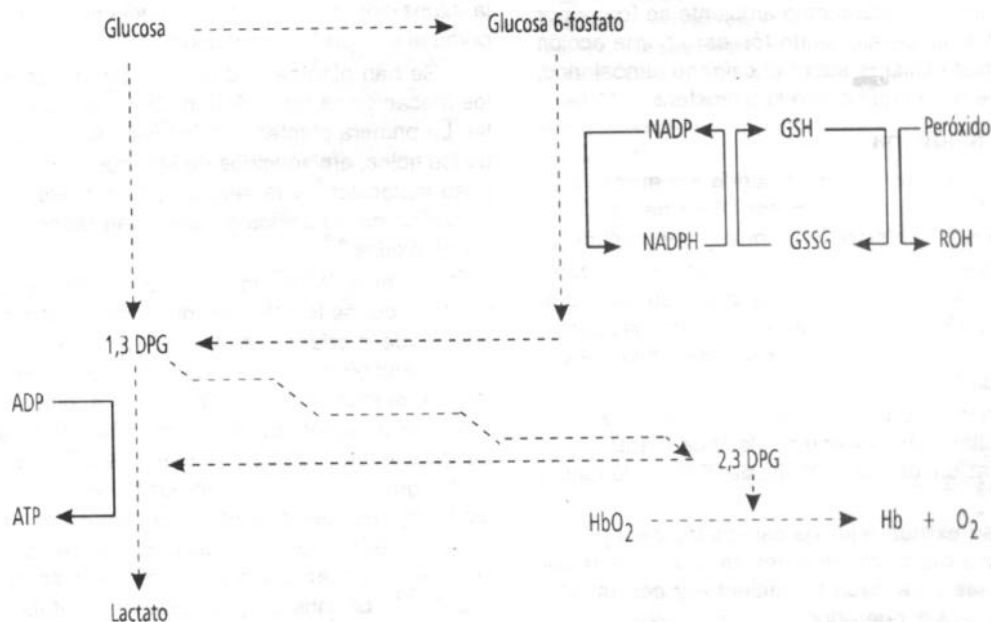


Fig.1. Metabolismo intracelular de los peróxidos de cadena corta.

En una segunda etapa, se forma 2,3-difosfoglicerato (2,3 DPG), el cual es de importancia decisiva para la desoxigenación de la hemoglobina. Bajo el efecto de la producción controlada de lipoperóxidos, se pone inmediatamente en acción el mecanismo detoxificante de estas sustancias vía el sistema de la glutatión peroxidasa.

Para mantenerse el sistema redox del glutatión, se debe acelerar la vía de las pentosa/fosfato en función de cubrir el adeudo de NADPH como un reductor del glutatión oxidado (GSSG). Esto quiere decir, que simultáneamente se produce una ruptura incrementada de azúcar. El producto decisivo del metabolismo acelerado de la glucosa, es la presencia de 2,3

DPG como un producto adicional a través de una vía lateral en cantidades más abundantes, lo cual representa, como sustancia desoxigenante, un compuesto clave en el efecto curativo del ozono.



Cada incremento en los niveles de 2,3 DPG, facilita la liberación de oxígeno a través de un cambio brusco en el balance de $\text{Hb} \cdot \text{O}_2 / \text{Hb}$ a favor de la hemoglobina desoxigenada.

La propiedad del ozono de estimular la circulación sanguínea se puede aprovechar para el tratamiento exitoso de disturbios arteriales circulatorios, diabetes, esclerosis cerebral, arteritis, cirrosis hepática, la enfermedad de Raynaud, SIDA, cáncer e hipercolesterolemia.³

Se ha reportado un gran número de casos con insuficiencias arteriales,⁴⁵⁻⁴⁷ diabetes,⁴⁸ neoplasias malignas,⁴⁹ SIDA,⁷⁰ trastornos reumatológicos,⁵¹ y osteoporosis,⁵² que ha reaccionado satisfactoriamente con la ozonoterapia endovenosa o intrarterial.

Hay un estudio en pacientes arteriopáticos⁴⁵ donde se demuestra que el 2,3 DPG tiene un papel significativo en la respuesta a la ozonoterapia intrarterial y endovenosa, corroborando experimentalmente la planteado en teoría sobre esta sustancia.

LA PEROXIDACION DE LOS LIPIDOS Y LA ATROSCLEROSIS

Peroxidación lipoproteica y aterogénesis

Durante largos años, los procesos peroxidativos han estado relacionados con el envejecimiento o con el desarrollo de enfermedades degenerativas, entre las que se incluye la aterosclerosis. Tal relación avalada por cierto número de experimentos en animales y humanos.⁵³⁻⁵⁶

La presencia de productos derivados de la peroxidación de los lípidos en el suero de pacientes con aterosclerosis, ha sugerido que las reacciones peroxidativas pudieran estar involucradas en la enfermedad.⁵⁷⁻⁵⁹ A esto se añadió el hallazgo de lesiones aórticas en conejos inyectados con hidroperóxidos del ácido linoléico, colesterol o lanolina.⁶⁰⁻⁶²

Por otra parte, se ha comprobado que las LDL (lipoproteínas de baja densidad) modificadas por los lipoperóxidos no son reconocidas por los receptores específicos, sino que son captadas por un segundo receptor no específico y no regulable.⁶³ Se piensa que la acumulación no restringida de los ésteres de colesterol es la causa de la conversión de los macrófagos en células espumosas. Se estima que otro mecanismo involucrado es el sistema inmune, aspecto señalado por López y col.⁶⁴ según la hipótesis de Klimov.⁴⁵

Los cambios aterofibróticos en los capilares se pueden originar por perturbación de los procesos oxidoreductivos en las fibras de colágeno y elastina.⁶⁵ Trastornos que podrían ser provocados por los radicales libres.

En condiciones de *in vivo*, como consecuencia del metabolismo normal, se generan especies oxigenadas reactivas tales como los radicales hidroxilo, superóxido y peróxido de hidrógeno. La oxidación de ciertos componentes celulares, mediada por estas especies oxigenadas, podría contribuir tanto al envejecimiento como a las enfermedades dependientes de la edad tales como cáncer y la aterosclerosis.^{64,66} Se ha demostrado que los radicales hidroxilos producen daño en las bases del DNA e inician el proceso de peroxidación de los lípidos.^{20,21} guiando a la formación de hidroperóxidos lipídicos los cuales en presencia de compuestos celulares que contienen hierro, pueden desbaratarse y dar origen a nuevos

radicales oxigenados.²¹ En este punto, adquiere mayor importancia la capacidad de los mecanismos celulares de defensa para limitar los niveles de las especies oxigenadas reactivas y los daños que ellas producen.¹⁶⁻²¹

Un gran número de evidencias experimentales han establecido el papel de las enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa; y las vitaminas E y C en la protección general contra la peroxidación lipídica.⁶⁷⁻⁷³

Siempre que los niveles de la peroxidación lipídica superen la capacidad de los sistemas de protección, circularán lipoperóxidos que pueden contribuir al establecimiento de la aterosclerosis.

En un estudio sobre los niveles de lipoperóxidos en las fracciones lipoproteicas se encontró que las fracciones de LDL contenían una mayor cantidad de lipoperóxidos que las fracciones de VLDL (lipoproteína de muy baja densidad) y HDL (lipoproteína de alta densidad), tanto en sujetos normales como en diabéticos.⁷⁴ Los niveles de las fracciones de HDL del suero de los diabéticos fue significativamente mayor que las HDL sérica de los sujetos normales. Por tanto, los cambios vasculares asociados a las lipoperoxidaciones y su correlación con la aterosclerosis no están totalmente aclarados aún.

Peroxidación lipídica y efecto antiaterogénico

El metabolismo de la aorta y el desarrollo de la aterosclerosis son eventos que dependen en gran medida de la concentración de oxígeno disponible para los tejidos.⁷⁵ Se conoce que los procesos ateroscleróticos se exacerban en conejos expuestos *in vivo* a condiciones hipóxicas.

Estudios realizados por Kjeldsen y col.⁷⁶, Kipshidge,⁷⁷ Astrup y col.⁷⁸ sobre los efectos de una hipoxia prolongada en conejos alimentados con una dieta rica en colesterol, indican un empeoramiento pronunciado de edemas, engrosamiento medio y lesiones degenerativas vasculares. Estos estudios señalaron la ocurrencia durante el estado de hipoxia de un incremento de la permeabilidad del colesterol, triglicéridos y proteínas a través del endotelio vascular y la capa íntima, así como un deterioro de la capacidad metabólica, y por lo tanto, de la excreción del colesterol.

Chisolm y col.⁷⁹ postularon los aspectos siguientes:

- El transporte de oxígeno está afectado por la concentración de las proteínas plasmáticas y en la mayoría de los humanos probablemente decrece con la edad.
- El resultado de la hipoxia en el revestimiento de la aorta es una degeneración de los rasgos distintivos de su superficie, lo cual resulta en una permeabilidad celular incrementada.
- La estructura interior del vaso está desorganizada debido al influjo de lípidos y otras sustancias plasmáticas. Esto acelera la demanda de oxígeno y aumenta la hipoxia.

Estas ideas concernientes a los efectos de las proteínas sobre el transporte de oxígeno, así como la importancia de la resistencia a la difusión del plasma sanguíneo, aportan indicaciones firmes para un mecanismo comprensivo para la ocurrencia de la aterosclerosis y otros cambios vasculares asociados con el envejecimiento.

Contrario a lo anterior, la exposición de conejos alimentados con dietas ricas en colesterol y bajo atmósfera hiperóxica, mostró una marcada disminución en la deposición de lípidos, lesiones aórticas visibles y en el contenido de colesterol, fosfolípidos y triglicéridos de la aorta.^{78,80}

Por otra parte, Altschul y Herman⁸¹ informaron que la hipoxia, las radiaciones ultravioletas, o ambas, disminuyen los niveles de colesterol sérico en conejos y algunos humanos. Por estas razones, se ha empleado mucho la terapia en condiciones de hipoxia para tratar pacientes con trastornos en el metabolismo lipídico.

La complicación principal en las situaciones terapéuticas basadas en la hipoxia normobárica es la toxicidad del oxígeno,⁸² el cual provoca daños fundamentalmente en las estructuras inferiores del tracto respiratorio.

La peroxidación parcial de los lípidos que se alcanza con la terapia de la mezcla ozono/oxígeno, por vía endovenosa o intrarterial, desencadena el mecanismo bioquímico visto anteriormente. Esto conduce a una estimulación del metabolismo a través de una aceleración en la glicólisis y formación extra de 2,3 DPG, expresándose en un significativo mejoramiento del aporte de oxígeno a los tejidos y activación de los procesos de su utilización. Todo esto significa un incremento en la oxidación, utilización y excreción de los lípidos, llevando a un efecto antiaterogénico.

Aunque se ha propuesto que la ozonoterapia puede tener éxito en el tratamiento de la hipercolesterolemia,³ lo cierto es que en este campo, hay muy pocos estudios experimentales realizados.

Mole y col.⁸³ encontraron una correlación positiva entre las concentraciones de ozono y de las HDL séricas libres de colesterol, así como una negativa entre aquella y la de los triglicéridos séricos de ratas expuestas a concentraciones de ozono entre 0y3m g/Lp or5hd iarias durante1 Od.

La ozonohemoterapia intramuscular de ratas alimentadas con una dieta rica en grasas, favoreció la capacidad metabólica de los lípidos a nivel hepático evitando la infiltración y acumulación de las grasas en este órgano.⁸⁴

En pacientes arteríticos tratados con ozono por vía endovenosa, se encontró una disminución de los niveles de colesterol sérico con moderado incremento de los peróxidos.⁸⁵

CONCLUSIONES

Aunque el ozono ha sido considerado por mucho tiempo un agente altamente tóxico debido a las alteraciones y lesiones que causa en el organismo por vía inhalatoria, los estudios experimentales y clínicos en el campo de las aplicaciones médicas, han mostrado perspectivas muy alentadoras para el tratamiento de varias enfermedades.

Se puede afirmar que esta terapéutica puede ser una herramienta de gran valor para el tratamiento de las enfermedades ateroscleróticas.

BIBLIOGRAFIA

1. Pryor W.A. Lipid peroxides in biology and medicine, 1, Yagi K.(ed), Academic Press, New York, 1982.
2. Maas P. *OzonNachrichten*, **5**, 30, 1986.
3. Rilling S. *J. Inter. Ozone Ass.*, **7**, 259, 1985.
4. Menzel D.B. *Ann. Rev. Pharmacol.*, **10**, 379, 1970.
5. Menzel D.B. In: *Vitamin E*, 474, Machlin E.(ed). Marcel Dekkel, New York, 1980.
6. Mudd J.B. and Freeman B.A. In: *Biochemical effects of environmental pollutants*, 97 Lee S.D.(ed), Ann Arbor Science, Michigan, 1977.
7. Freeman B.A. and Crapo J.P. *Lab. Invest.*, **47**, 412, 1982.
8. Deneke S.M. and Fanburg B.L. *New Engl. J. Med.*, **303**, 76, 1980.
9. Freeman B.A. and Crapo J.P. *Lab. Invest.*, **47**, 412, 1982.
10. Dise C.A., Goodman D.B.P. and Rasmussen H. *J. Lipid. Res.*, **21**, 292, 1980.
11. Dise C.A., Goodman D.B.P. and Rasmussen H. *J. Biol. Chem.*, **255**, 5201, 1980.
12. Lubin B.H., Shohet S.B. and Nathan D.G. *J. Clin. Invest.*, **5**, 338, 1972.
13. Flohé L. In: *Lipid peroxides in biology and medicine*, 149, Yagi K.(ed), Academic Press, New York, 1982.
14. Edes I., Tószegi A., Csanády M and Bozóky B. *Cardiov. Research*, **20**, 542, 1986.
15. Eskew M.L., Scheuchzuber W.J., Scholz R.W., Reddy C. and Zarkower A. *Environ. Res.*, **40**, 274, 1986.
16. Ames B.N. *Science*, **221**, 1256, 1983.
17. Ames B.N., Cathcart R., Schwiers E. and Hochstein P. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **78**, 6858, 1981.
18. Autor A.(ed). in: *Pathology of oxygen*, 25, Academic Press, New York, 1982
19. Hollstein M.C., Brooks P., Linn S. and Ames B.N. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **81**, 4003, 1984.
20. Nygaard O.F. and Simic M.G.(eds) *Radioprotectors and anticarcinogens*, Academic Press, New York, 1983.
21. Pryor W.A. (ed) *Free radicals in biology Vol I-4*, Academic Press, New York, 1982.
22. Chow C.K., Plopper C.G., Chiu M. and Dungworth D.L. *Environ. Res.*, **24**, 315, 1981.
23. Chow C.K., Cross C.E. and Kaneko J.J. *J. Toxicol. Environ. Health*, **3**, 877, 1977.
24. Dillard C.J., Urribarri N., Reddy K., Fletcher B., Taylor S., de Lumen B., Langberg S. and Tappel A.L. *Arch. Environ. Health*, **25**, 426, 1972.
25. Castleman W.L., Dungworth D.L. and Tyler W.S. *Lab. Invest.*, **29**, 310, 1973.
26. Gordon T., Taylor B.F. and Amdur M.O. *Arch. Environ. Health*, **36**, 284, 1981.
27. Buckley R.D., Hackney J.D., Clark K. and Posin C. *Arch. Environ. Health*, **30**, 40, 1975.
28. Goldstein B.D., Pearson B., Lodi C., Buckley R.D. and Balchum O.J. *Arch. Environ. Health*, **16**, 648, 1968.
29. Clark K.W., Posin C.I. and Buckley R.D. *J. Tox. Environ. Health*, **4**, 741, 1978.
30. Colabrese E. and Moore G.S. *Med. Hypotheses*, **6**, 505, 1980.
31. Moore P.F. and Schwartz L.W. *Exp. Mol. Pathol.*, **35**, 108, 1981.
32. Menzel D.B., Slaughter R.J., Bryant A.M. and Jauregui H.O. *Arch. Environ. Health*, **30**, 234, 1975.
33. Posin C.I., Clark K.W., Jones M.P., Buckley R.D. and Hackney J.D. *J. Toxicol. Environ. Health*, **5**, 1049, 1979.
34. Linn W.S., Buckley R.D., Spier C.E., Blessey R.L., Jones M.P., Fisher D.A. and Hackney J.D. *Amer. Rev. Respir. Dis.*, **117**, 835, 1978.
35. Mellick P.W., Dungworth D.L., Schawartz L.W. and Tyler W.S. *Lab. Invest.*, **36**, 82, 1977.
36. Castleman W.L., Tyler W.S. and Dungworth D.L. *Exp. Mol. Pathol.*, **26**, 348, 1977.
37. Ibrahim A.L., Zee Y.C., and Osebold J.W. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **3**, 251, 1980.
38. Rilling S. and Viebahn R. *The application of ozone in medicine*, 8th Ozone World Congress. Zurich. Proceedings Vol. 3. International Ozone Association, 1987.
39. Werkmeister H. *OzonNachrichten*, **4**, 53, 1985.
40. Turk R. *OzonNachrichten*, **4**, 61, 1985.
41. Viebahn R. *OzonNachrichten*, **4**, 1/2, 1985.
42. Vebahn R. *J. Int. Ozone Ass.*, **7**, 275, 1985.
43. Rokitansky O. *Hospitalis*, **52**, 711, 1982.
44. Viebahn R. *Ars. Medici*, **5/86**, 194, 1986.
45. Klimov N. *The role of monocyte-macrophage in the development of atherosclerotic lesions in coronary arteries of human heart*, Primer Congreso Panamericano de Angiología Ciudad de La Habana, 1987.
46. Menéndez S. *Aplicaciones terapéuticas del ozono*, Primer Congreso Panamericano de Angiología. Ciudad de La Habana. Cuba, 1987.
47. Romero A., Menéndez S., Ley J., Díaz W. y Vecino, C. *Valor de la ozonoterapia en las arteriopatías en estadio avanzado*, Primer Congreso Panamericano de Angiología. Ciudad de La Habana, Cuba, 1987.

48. Velasco N., Menéndez S., Lima B. Fernández J.E., Díaz W., Montalvo J., y Vecino C. Valor de la ozonoterapia en el tratamiento del pie diabético neuroinfeccioso, Primer Congreso Panamericano de Angiología. Ciudad Habana, Cuba, 1987.
49. Ohta A. Cancer is curable with oxygen, 8th Ozone World Congress. Zurich. Proceedings vol. 3. International Ozone Association, 1987.
50. Preuss A. **OzoNachrichten**, **5**, 3, 1988.
51. Fahmy Z. The application of ozone therapy in rheumatology, 8th Ozone World Congress. Zurich. Proceedings. Vol.3. International Ozone Association, 1987.
52. Riva-Sanseverina E. The influence of ozone therapy on the remineralization of the bone tissue in osteoporosis, 8th Ozone World Congress, Zurich, Proceedings vol.3, International Ozone Association, 1987.
53. Suematsu T., Kamda T., Abe H., Kikudzi S., Yagi K. **Clin. Chim. Acta**, **79**, 267, 1977.
54. Takeuchi N., Iritani N., Fukunda E. and Tanaka F. In: Tocopherol, oxygen and biomembranes, 257, de Dube & Hayishi (ed). Elsevier North-Holland/Biomedical Press, Amsterdam, 1978.
55. Yoshikawa M. and Hira S. **J. Geront.**, **22**, 162, 1980.
56. Glavind J., Hartmann S., Clemmesen J., Jessen K.E. and Dam. H. **Acta Pathol.**, **30**, 1, 1952.
57. Sato Y., Hotta N., Sakamoto N., Matsvoka S., Ohishi N. and Yagi K. **Biochem. Med.**, **21**, 104, 1979.
58. Goto Y. In: Lipid Peroxides in biology and medicine, 295, Yagi K.(ed). Academic Press, New York, 1982.
59. Fukuzumi I. **Yukagaku**, **14**, 119, 1965.
60. Yagi K., Ohkawa H., Ohishi N., Yamashita M. and Nakashima T. **J. Appl. Biochem.**, **3**, 58, 1981.
61. Aoyama S., and Iwakami M. **Jpn. Heart**, **J. 6**, 128, 1965.
62. Iwakami M. **Nagoya J. Med. Sci.**, **28**, 50, 1965.
63. Brown M.S. and Goldstein J.L. **Abb. Rev. Biochem.**, **52**, 223, 1983.
64. López Ruíz J., Illnait Ferrer J. y Sorell Gómez L. Posibles bases fisiopatológicas comunes al cáncer y la aterosclerosis, Editorial CENIC, DICT, Ciudad de La Habana, 1986.
65. Leibovitz B.E., Siegel B.V. **Aging J. Gerontol.**, **1**, 45, 1980.
66. Ames B.N. In: Diet and prevention of coronary heart disease and cancer, 25, Hallgren *et al.* (eds), Raven Press, New York, 25, 1986.
67. Hafeman D.G. and Hockstra W.G. **J. Nutr.**, **107**, 656, 1977.
68. Mattasi R. Posibilidades técnicas y resultados clínicos de la terapia con ozono en las arteriopatías oclusivas, Primer Congreso Panamericano de Angiología, Ciudad de La Habana, 1987.
69. Hafeman D.G. and Hockstra W.G. **J. Nutr.**, **107**, 666, 1977.
70. Dillard C.J.E., Dumelin E.E. and Tappel A.L. **Lipids**, **13**, 396, 1986
71. Kartha C.L.N., Krishnamurthy S. **Int. J. Vitam. Nutr. Res.**, **48**, 39, 1978.
72. Leiboritz B.E. and Siegel B.V. **J. Geront.**, **1**, 45, 1980.
73. Yagi K.(ed) In: **Lipid peroxides in biology and medicine**, 131, 149, 161, 213, Academic Press, New York, 1982.
74. Nishigaki I., Hagibara M., Tsunekawa H., Maseki M., and Yagi K. **Biochem. Med.**, **25**, 273, 1981.
75. Howard C.F. **Atherosclerosis**, **15**, 359, 1972.
76. Kjeldsen K., Wanstrup J. and Astrup P. **J. Atherosclerosis Res.**, **8**, 835, 1968.
77. Kipshidge N.N. **Bull. Exp. Biol. Med.**, **47**, 54, 1959.
78. Astrup P., Kjeldsen K. and Wanstrup J. In: Atherosclerosis (Proceeding of the 2nd International Symposium), 108, Springer, New York, 1970.
79. Chisolm G.M., Gainer J.L., Stoner G.E. and Gainer J.V. **Atherosclerosis**, **15**, 327, 1972.
80. Wanstrup J., Kjeldsen J. and Astrup P. **J. Atheroscler. Res.**, **10**, 173, 1969.
81. Altschul R. and Herman I.H. **Arch. Biochem. Biophys.**, **51**, 308, 1954.
82. Dise C.A., Hansen-Flaschen J., Lanken P.N. and Goodman D.B.P. **J. Lab. Clin. Med.**, **105**, 89, 1985.
83. Mole M.L., Stead A.G., Gardner D.E., Milter F.J. and Graham J.A. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, **80**, 367, 1985.
84. Hernández Rosales F., Noa M., Armas L. y Menéndez S. **Rev. Inv. Biomed.**, **9**, 40, 1990.
85. Simón R., Triana M.E., Menéndez S. Pantaleón O., Gómez C., Comas C. y Morejón O. Influencia del ozono sobre algunos parámetros lipídicos y de la coagulación, Primer Congreso Panamericano de Angiología, Ciudad de La Habana, Cuba, 1987.