

## artículo original

# Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización

G. Martínez- Sánchez<sup>1</sup>

L. Re <sup>1,2</sup>

Gema Perez-Davison<sup>1</sup>

Rosemeres Horwat Delaporte<sup>3</sup>

1 Medinat srl Clinic, Camerano, Italy.

2 Pharmacology, D.I.S.M.A.R., University of Ancona, Italy.

3 Departamento de Fonoaudiologia - Faculdade Global de Umuarama – FGU, Brasil

---

## Palabras clave

ozono  
compuestos ozonizados  
aceites vegetales  
aceites ozonizados

---

## Resumen

Las primeras evidencias sobre el uso clínico de los aceites ozonizados aparecen en la literatura científica desde 1859. Para la realización de este trabajo se tuvieron en cuenta los aspectos generales y las principales aplicaciones clínicas de los aceites ozonizados que aparecen en las base de datos entre 1859 y 2011. Los productos de la oxidación que se generan tras la reacción del ozono con los ácidos grasos y otros sustratos, forman compuestos con actividad germicida, inmuno-estimulante y reparadora de tejidos. Su estabilidad y beneficios biológicos posibilitan su uso en múltiples patologías, lo cual está avalado por estudios preclínicos y clínicos. Los preparados de aceite de girasol y oliva son los más utilizados y la vía de administración más común es la tópica, aunque hay evidencias de sus efectos positivos por vía oral. Es necesario continuar con el trabajo investigativo con estos preparados para un mejor conocimiento de sus mecanismos de acción y para ampliar y fundamentar el espectro de aplicaciones en el campo de la medicina.

## Medical uses of ozonized oils, an up-date

---

### Keywords

ozone,  
ozonated compounds,  
vegetable oils,  
ozonated oils

---

### Abstract

*Early evidence on the clinical use of ozonated oils first appear in scientific literature in 1859. This paper reviews the general and main clinical applications of ozonated oils that have appeared in scientific literature between 1859-2011. The oxidation products generated after the reaction of ozone with fatty acids and other substrates can acts as a germicide, immune stimulant and tissue restoration agent. The biological activities and stability of the ozonated oils allows the development of standard formulations that deliver the benefits of ozone, supported by pre-clinical and clinical studies. The main clinical studies that support the use of ozonized oils apply ozonized sunflower oil or ozonized olive oil in different clinical conditions. The applications are essentially for external use, however there is evidence of immune-stimulating and repair effects when used orally. A deep study of the biological effects of various formulations already on the market will support the scientific basis of the use of ozonized oil in different pathologies.*

### Sugerencia sobre cómo citar este artículo:

G. Martínez- Sánchez, L. Re, Gema Perez-Davison, Rosemeres Horwat Delaporte (2012). Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Revista Española de Ozonoterapia*. Vol. 2, nº 1, pp. 121-139.

## 1. Introducción.

En la actualidad el manejo de las infecciones es en extremo complejo. El fenómeno de la resistencia a los antibióticos es cada vez más frecuente así como la aceleración de la gravedad de las infecciones en pacientes inmunocomprometidos.<sup>1</sup> La prevalencia de las infecciones a nivel mundial es alta: lesiones traumáticas, heridas infectadas, úlceras, escaras, lesiones herpéticas, infecciones por hongos, picaduras de insectos y otras escapan al control de los antibióticos convencionales. En este escenario inciden factores relacionados con la resistencia microbiana y con elementos sociales.<sup>2</sup> El ozono, las aguas y aceites ozonizados tienen un amplio espectro germicida pero permanece desconocido para una gran parte de los sistemas de salud.

El ozono tiene un poder germicida muy elevado, su gran desventaja es que es sumamente inestable, por lo cual debe ser generado prácticamente antes de ser utilizado. Sin embargo, una reacción controlada del ozono con ácidos grasos produce derivados oxidados con una elevada actividad germicida que pueden ser estabilizados por un periodo de hasta 2-3 años. Los aceites ozonizados encuentran múltiples aplicaciones en infecciones de la piel, diversos tipos de dermatitis, infecciones vaginales y procesos infecciosos estomatológicos, entre otros.<sup>3-6</sup> Incluso han sido utilizados en el tratamiento de radiodermatitis secundarias a la radioterapia del cáncer.<sup>7</sup>

El presente trabajo tuvo como objetivo realizar una actualización bibliográfica sobre los aspectos generales y los principales resultados clínicos referidos al uso de aceites ozonizados. La búsqueda y localización de la información, incluyó una revisión de artículos científicos en la Base de Datos MedLine/PubMed, entre los años 1859-2011, los textos especializados en el tema<sup>8-10</sup> y la base de datos del ISCO3,<sup>11</sup> para lo cual se utilizaron en lo fundamental los descriptores siguientes: aceites ozonizados, ozonidos, terpenos ozonizados y ozonización. Se localizaron las fuentes de información primaria (artículos originales) en inglés, español e italiano. La búsqueda bibliográfica incluyó artículos científicos de revisión, de resultados experimentales y presentaciones en eventos científicos.

## 2. Desarrollo.

### 2.1. Formación de derivados de la ozonización de ácidos grasos

La reacción de ozonización de los aceites vegetales se basa en el burbujeo con ozono de estos sustratos bajo condiciones de reacción controladas. Durante esta reacción se forman diferentes sustancias como: lipoperóxidos, ozónidos, aldehídos, cetonas entre otras.<sup>12</sup> Los ácidos grasos presentes en los aceites vegetales desde el punto de vista químico son ácidos carboxílicos con una cadena alifática que puede ser monoinsaturada o tener varias insaturaciones (ácidos grasos poli-insaturados AGPI).

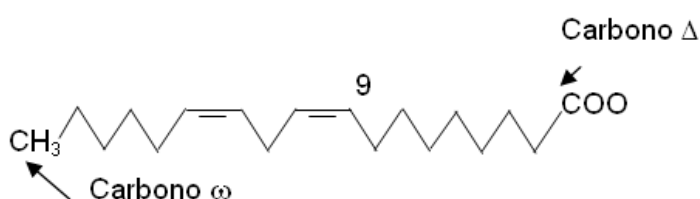
Los AGPI son los más susceptibles a la oxidación. Para su nomenclatura se han establecido diferentes reglas, se denomina el carbono del grupo ácido carbono  $\Delta$ , y el carbono terminal del grupo CH<sub>3</sub>, carbono  $\omega$ . Al numerar los carbonos que participan en el doble enlace, solo se hace referencia al que posee la numeración menor, a ese número se le suele anteponer la letra  $\Delta$  que indica la presencia de una insaturación. Los dobles enlaces también se pueden

especificar por su localización a partir del carbono donde se ubica el primer doble enlace, pero a partir del -CH<sub>3</sub> (carbono ω) (Fig. 1). Los AGPI se pueden clasificar en 3 series, si se toma en cuenta que los dobles enlaces adicionales se adicionan solo entre el átomo de carbono donde se localiza el primer doble enlace (a partir del carbono ω) y el carbono del grupo -CO<sub>2</sub>H, por ello las series son ω3, ω6 y ω9. La composición de los ácidos grasos es en general variable (Tabla 1), dentro de estos compuestos los insaturados son los que reaccionan más fácilmente con el ozono para rendir los productos de oxidación que constituyen los principios activos.

Fig. 1

9-12 octadecanodienoico (serie ω6)

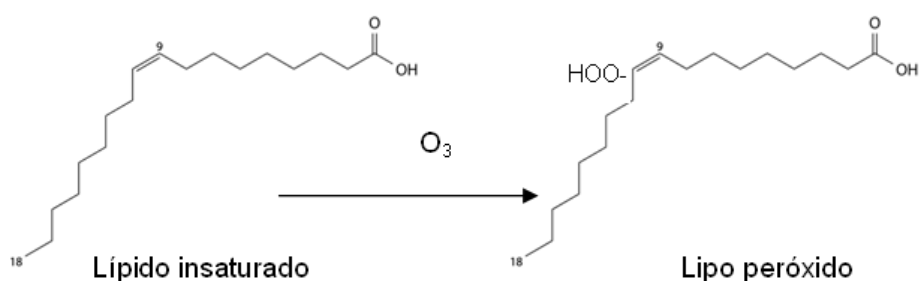
18:2(9-12) 18<sup>Δ9-12</sup>



Ejemplo de nomenclatura de los ácidos grasos poli-insaturados: Ácido linoleico

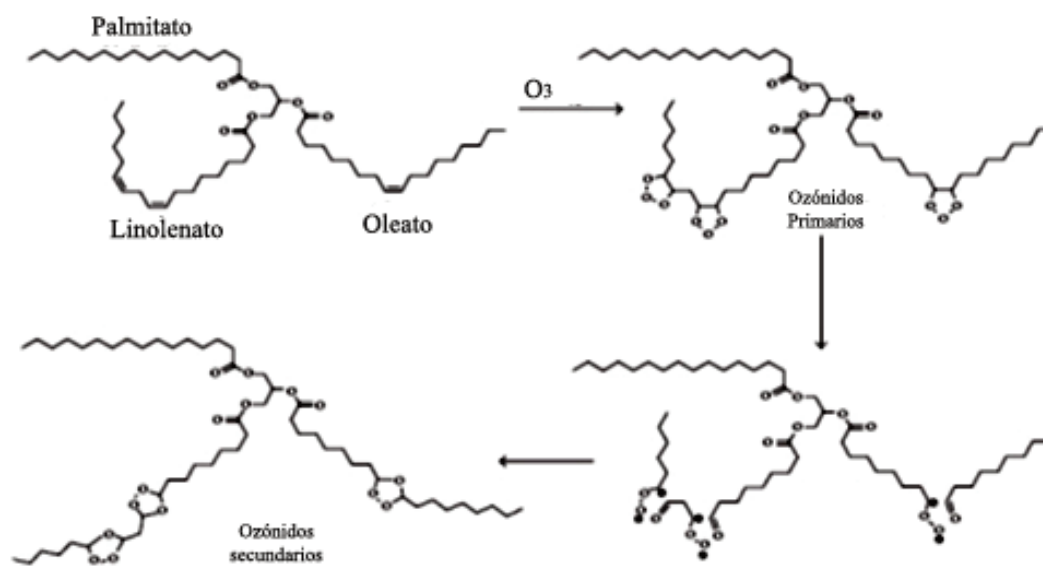
Los ozónidos se forman mediante reacciones de adición del ozono frente a compuestos insaturados en general. Su descomposición es rápida para formar aldehídos, cetonas y peróxidos.<sup>13</sup> Los lipo-peróxidos se forman esencialmente a partir de los AGPI y un radical de alta reactividad. En la fase de iniciación un radical como el hidroxilo extrae un átomo de hidrógeno de un ácido graso insaturado para producir el radical lipídico, el cual se reorganiza y forma un dieno conjugado que en su reacción con el O<sub>2</sub> da lugar al radical peroxilo, con suficiente reactividad como para atacar otro lípido y conducir a la propagación de la peroxidación lipídica. En la fase de terminación y en presencia de hierro se producen aldehídos y otros compuestos (Fig.2). Además de peróxidos simples se pueden formar formaldehído<sup>12</sup>, peróxidos complejos (Fig. 3), di-peróxidos y poli-peróxidos,<sup>14</sup> la pérdida de la insaturación de los lípidos se correlaciona con un incremento de la viscosidad del aceite durante la reacción.<sup>15</sup>

Fig. 2



Reacción simplificada de formación de lipo-peróxidos a partir de un lípido insaturado y el ozono.

Fig. 3



Representación esquemática de diferentes estructuras químicas que se forman durante la reacción del ozono con los ácidos grasos insaturados. Los ozonidos primarios son inestables, se reorganizan para dar lugar a los ozonidos secundarios, conocidos también como ozonidos de Criegee (Modificado de Travagli et al. 2010).<sup>49</sup>

Las proporciones de uno u otro producto de la reacción depende de numerosos factores. Cuando estos aceites se producen de manera industrial es necesario controlar diversas variables, tales como: tipo de generador de ozono (forma, materiales con que se construye, tipo de burbujeador, tipo de agitador, entre otros) y condiciones de reacción (tiempo de reacción, presencia de agua o catalizadores, temperatura, flujo y concentración de ozono, velocidad de agitación, entre otros). El uso de una fuente de oxígeno de alta calidad y concentración es de gran importancia, la generación de ozono a partir de aire (con un elevado contenido en nitrógeno) puede llevar a la generación de derivados nitrogenados potencialmente tóxicos. De igual manera el control de la calidad del aceite durante el proceso productivo y la del producto final, mediante ensayos físico químicos es de gran importancia para lograr un producto de calidad farmacéutica.

Existen diversas patentes que emplean como sustrato de la ozonización desde aceites vegetales (ej. oliva, girasol, coco, cacao, aguacate, almendra, palma, sésamo, jojoba entre otros), aceites esenciales o sus componentes (geraniol, linalol, canfeno, farnesol, entre otros) y aceite de hígado de animales.<sup>16</sup> En principio un sustrato con un mayor número de insaturaciones es más susceptible a reaccionar con el ozono. Por ejemplo el aceite de girasol con predominio en su composición de ácidos grasos con doble insaturación será más reactivo que el aceite de oliva con predominio de ácidos grasos mono insaturados (Tabla. 1). Estos dos últimos aceites son los más empleados, en este caso el criterio de selección se basa en que son los que tienen un mayor número de estudios que soportan sus aplicaciones medicas. Un estudio que comparó ambos aceites encontró similar espectroantimicrobiano entre ellos, con la única excepción fue la actividad antimicrobiana frente a *Pseudomona aeruginosa*, donde

a bajo índice de peróxido el aceite de girasol fue más efectivo, mientras que a levado índice de peróxido sucedió lo contrario.<sup>17</sup>

## 2.2. Métodos de preparación de los aceites ozonizados

Aun cuando lo ideal resulta preparar los aceites ozonizados a nivel industrial, bajo parámetros optimizados, se pueden obtener para uso clínico pequeñas cantidades de aceites siguiendo normas relativamente simples. Se ozonizan bien los aceites refinados de girasol, oliva, maíz y otros. La ozonización se lleva a cabo bajo diferentes concentraciones y tiempos de burbujeo en dependencia de la aplicación que se le pretende dar al aceite. Por ejemplo:

-para la aplicación interna (administración por vía oral), se parte de 100 mL de aceite que se burbujea con una concentración de ozono de 20 µg/mL, por 10 min, o a una concentración mayor 40 µg/mL por 5 min.

-para la aplicación externa, se parte de 100 mL de aceite y se burbujea con una concentración de ozono de 20-24 µg/mL por 15 min o a una concentración de 40-50 µg/mL por 8 min.<sup>18</sup>

El aceite ozonizado se debe almacenar en un recipiente de vidrio ámbar. Su estabilidad depende de la temperatura de almacenamiento. Según datos recientes, el aceite ozonizado conserva su actividad a temperatura ambiente durante 3 meses y en refrigeración (4-8 °C) durante 2 años.<sup>19</sup> Existen diferentes generadores de ozono médico que prevén la posibilidad de ozonizar aceite mediante dispositivos adjuntos. Por los problemas de estabilidad, para uso ambulatorio es preferible disponer de aceite recién elaborado.

Por otra parte los métodos de preparación industriales emplean reactores elaborados con materiales resistentes al ozono (p.ej., acero inoxidable o vidrio) y tuberías de silicona. Los reactores varían en su forma, diseño de los burbujeadores, paletas de agitación y sistemas de control de la temperatura de reacción entre otros.

## 2.3. Estabilidad de los aceites vegetales ozonizados

El desarrollo de métodos y estrategias para preservar los aceites vegetales ozonizados y por tanto oxidados, ha sido una tarea ardua. En general los aceites oxidados continúan rutas de descomposición muy difíciles de detener. El resultado de la oxidación de los aceites es el desarrollo de una rancidez (término utilizado para describir la oxidación de las grasas) acompañada de sabor y olores desagradables, además del cambio en las propiedades físicas (p.ej. incremento de la viscosidad). Aunque el deterioro de los aceites puede provenir de otras causas distintas a la oxidación como la acción de enzimas o microorganismos, la oxidación es, la causa más importante desde el punto de vista práctico. La luz, el calor y ciertas impurezas, tales como el agua y los metales, aceleran ese proceso. Se conoce que los peróxidos son los compuestos de descomposición primaria de la oxidación de las grasas y aceites. En la reacción secundaria, los productos de descomposición que resultan de la oxidación son los peróxidos, aldehídos, ácidos, entre otros.<sup>18</sup>

La reacción entre un aceite vegetal y el ozono es una reacción de oxidación en la que se forman compuestos peroxídicos que elevan considerablemente el índice de peróxido del aceite tratado y por ende favorecen sus procesos de oxidación y degradación posterior. Las reacciones que ocurren después de la reacción de ozonización, en las etapas de almacenamiento y preparación de formulaciones, son tan complejas que es imposible desarrollarlas al detalle por lo que solo mencionaremos las tres más importantes: formación de ácidos, des-polymerización y auto-transformación de los derivados de hidroperóxidos.

Durante la ozonización de estos aceites y después durante el almacenamiento del producto, se observa la formación de ácidos libres tanto volátiles como no volátiles, en pequeñas cantidades. Esto demuestra que tiene lugar la oxidación de una parte de los aldehídos con el ozono y el oxígeno molecular a un estado de oxidación superior, correspondiente a los ácidos grasos y una auto-oxidación de los hidroxil-hidroperóxidos.<sup>10,18</sup>

Asimismo, durante el almacenamiento del aceite vegetal ozonizado se observa una ligera disminución de la viscosidad, como consecuencia de la des-polymerización de los poli-peróxidos que se forman durante el proceso. Los compuestos formados entre el óxido de carbonilo y el compuesto prótico en el medio reaccionante, son capaces de auto-descomponerse, quedando el aldehído y el hidroperóxido en equilibrio dinámico.<sup>10</sup>

Estas reacciones en su conjunto provocan que los aceites vegetales ozonizados durante su almacenamiento modifiquen sus propiedades químicas, físicas y microbiológicas. Por todos estos factores, el conocimiento sobre la estabilidad de los aceites vegetales ozonizados constituye una premisa fundamental para preestablecer su tiempo de vida útil con buenas condiciones de calidad y por tanto desarrollar formulaciones aptas para su comercialización a gran escala.<sup>10</sup>

#### **2.4. Indicadores de calidad del aceite ozonizado**

Los aceites ozonizados destinados a uso médico deben ser preparados según las buenas prácticas de fabricación que regularmente sigue la industria farmacéutica. Lo cual implica entre otros elementos el uso de materias primas de partida de alta calidad y el control de indicadores de calidad durante el proceso productivo. Este último debe hacerse fijando parámetros de reacción estables con la finalidad de obtener siempre un producto final de calidad homogénea.

El control de calidad de los componentes activos de los aceites ozonizados debe comprender estudios químicos, físicos, biológicos y microbiológicos. Los estudios químico/físicos deben garantizar la estabilidad y homogeneidad del principio activo. Por otra parte, las propiedades que se le atribuyan al aceite deben ser demostradas por estudios pre-clínicos y clínicos, al igual que la ausencia de toxicidad.

Desde el punto de vista químico la valoración del contenido de lipoperóxidos y aldehídos, el índice de yodo, el índice de saponificación se encuentran entre los elementos fundamentales a valorar. Desde el punto de vista físico se debe tener en consideración el índice de acidez, la densidad y la viscosidad. Estos ensayos deben ser realizados por métodos estándares, reconocidos por las farmacopeas y deben hacerse de manera progresiva con vistas a garantizar la estabilidad de los preparados.<sup>15</sup>

## 2.5. El mecanismo de acción de los aceites ozonizados

El mecanismo de acción exacto sobre la actividad biológica de los aceites ozonizados es aún desconocido. Sin embargo existen varias hipótesis que intentan explicarlo. Una de ellas plantea que es probable que los trioxolanos estables al entrar en contacto con los exudados de las heridas que se encuentran a una temperatura de aproximadamente 37°C, se descompongan y generen ozono, este ozono formaría peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos que serían los responsables de los efectos regenerativos y desinfectantes.<sup>8</sup> Se plantea que la liberación lenta de ozono en las heridas favorece el proceso de cicatrización, no solo por la desinfección local sino también por favorecer a nivel local la liberación de citocinas con efectos reparadores.<sup>5,20</sup>

Con relación a los efectos antimicrobianos, se ha demostrado que no solo los ozonidos son responsables de estos efectos, sino también otros componentes de los aceites.<sup>10</sup> Cuando se pone en contacto el aceite ozonizado con un microorganismo se pueden apreciar severas afectaciones en su citoplasma.<sup>4</sup> Además de originar una reducción en el contenido de ácidos nucleicos que se corresponde con una reducción de la actividad lipasa, amilasa, keratinasa y ureasa.<sup>21</sup>

En síntesis, los mecanismos antimicrobianos y cicatrizantes de los aceites ozonizados pudieran responder a:

- 1) Oxidación directa: la liberación de ozono, trioxolanos y lipoperóxidos pudiera destruir directamente los microorganismos mediante su oxidación.<sup>4,5</sup>
- 2) Citotoxicidad: compuestos como trioxolanos, lipoperóxidos y aldehídos, son citotóxicos para los microorganismos y pueden inactivar rutas enzimáticas claves para su supervivencia.<sup>21</sup>
- 3) 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.<sup>22</sup>
- 4) Pre-condicionamiento oxidativo: la oxidación local de los tejidos por los componentes de los aceites ozonizados pueden estimular mecanismos antioxidantes endógenos<sup>23,24</sup> y promover la reparación de los tejidos.<sup>25</sup>

## 2.6. Aplicaciones médicas de los aceites ozonizados

Existen reportes del uso médico de los aceites ozonizados (en particular de aceites de coco, girasol e hígado) desde 1859.<sup>26</sup> Mientras que el uso de grasas y aceites ozonizados como cosméticos tiene sus antecedentes en Francia alrededor del año 1950. Las cremas preparadas con ellos eran aplicados sobre la piel para explotar las propiedades estimulantes, descongestionantes y regenerantes de la epidermis (WO0137829 A1).<sup>27</sup> Una vez reconocidas las propiedades germicidas de este tipo de preparados, comenzaron a aplicarse en numerosas patologías de origen microbiano y trastornos post operatorios (US984722,<sup>28</sup> US5270344,<sup>29</sup> US5364879,<sup>30</sup> US2356062,<sup>31</sup> US3504038<sup>32</sup> úlceras gástricas, WO0137829 A1),<sup>27</sup> infecciones intestinales US5364879,<sup>30</sup> giardiasis WO0137829 A1,<sup>27</sup> tynea pedis, herpes genital, *Helicobacter pylori* hemorroides y escaras.<sup>10</sup>



Las formulaciones a base de aceites ozonizados han demostrado ser muy eficientes en el tratamiento de áreas mucosas o cutáneas infectadas. Existen numerosos fármacos o cosméticos en el mercado que utilizan como principio activo los aceites ozonizados. Por ejemplo: Oxaktiv® (Pharmoxid Arznei GmbH & KG, Alemania), OleoForte® (NaturOzone, España), Ozonia 10® (Innovares, Italia), OzoneBella® (Econika, Rusia), (OleoSan®, Medinat srl., Italia), Oxizon® (Ozon Yagi Kremi, Turkia), Bi-ono® (Enterprise Pharma srl. Italia). El más estudiado desde el punto de vista clínico es el aceite de girasol ozonizado producido en Cuba bajo la marca comercial Oleozon®. Algunos ejemplos de las aplicaciones clínicas de los aceites ozonizados soportadas por estudios publicados se describen a continuación.

### 2.6.1. Estudios preclínicos

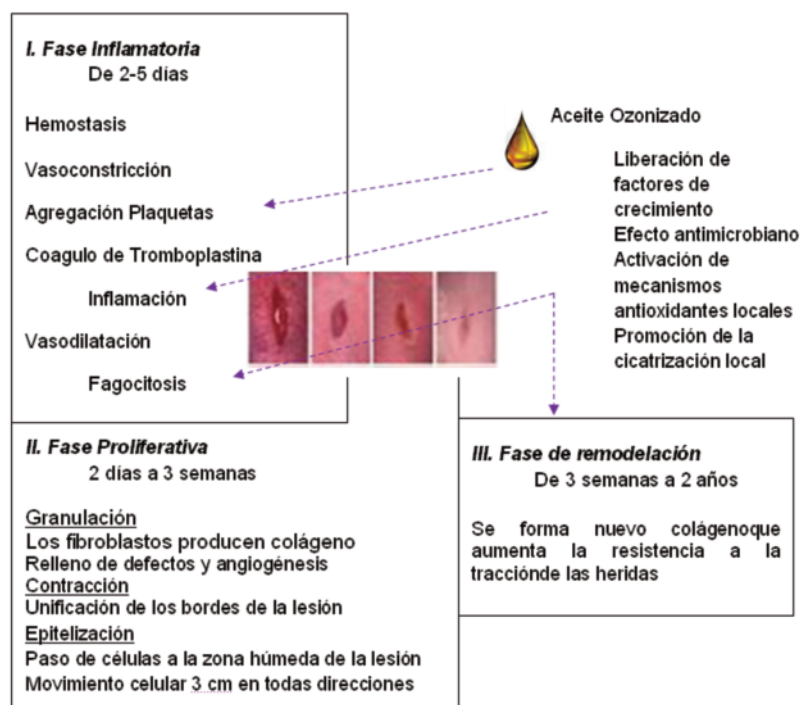
Un estudio evaluó el efecto terapéutico del aceite de oliva ozonizado sobre el proceso de cicatrización de heridas en un modelo de conejillos de indias. A los animales se les provocó una herida experimental de 6 mm. El estudio utilizó como control aceite de oliva no ozonizado y otro grupo sin tratamiento. En los animales tratados con el aceite ozonizado se produjo una reducción significativa del área de la herida después de los 5 y 7 días de tratamiento. Por otra parte, los estudios histológicos evidenciaron una mayor formación de fibras de colágeno y un elevado número de fibroblastos en los animales tratados con el aceite ozonizado a los 7 d. Los estudios inmuno-histoquímicos demostraron una sobre expresión de el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor transformante de fibroblastos beta (TGF- $\beta$ ) y factor de crecimiento vascular (VEGF), pero no para el factor de crecimiento de fibroblastos en el grupo tratado con aceite ozonizado a los 7 d.<sup>22</sup> Este estudio hace evidente que en la aceleración del proceso de cicatrización inducida por el aceite ozonizado, están involucrados los factores de crecimiento.

Una parte importante del mecanismo de acción de los aceites se basa en su actividad antimicrobiana, su espectro antimicrobiano es variable y dependiente de la concentración de hidroperóxidos, pero no es un efecto lineal. Por ejemplo, un estudio que analizó la actividad antifúngica de aceites ozonizados con índices de peróxidos entre 500 a 800 mmol/kg identificó el aceite con índice de peróxido de 650 mmol/kg como el que presentó una mejor actividad antimicrobiana.<sup>21</sup> El mismo fenómeno de efectividad a dosis medias se verificó en un estudio en ratones, relacionado con la valoración de la velocidad de cicatrización tras la aplicación de aceite de sésamo ozonizado. En este caso aceites con índices de peróxidos <1000 o >3000 retardaron el proceso de cicatrización, mientras que este se vio favorecido por el que presentaba un índice de peróxido de alrededor de 1500.<sup>20</sup>

Se ha demostrado también que el *Staphylococcus aureus* es una de las cepas más sensibles, mientras que la *Pseudomonas aeruginosa* muestra una sensibilidad menor.<sup>10</sup> Una característica importante de estos aceites es su amplio espectro antimicrobiano, por lo cual son adecuados en el tratamiento de infecciones mixtas, como es el caso de la úlcera del pie diabético neuroinfectioso.<sup>33</sup> Se han encontrado efectos beneficiosos en general cuando se ha aplicado a cepas resistentes de *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, y también frente a hongos de los géneros *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*, levaduras como la *Candida albicans* y protozoos como la *Giardia lamblia*.<sup>3,21,34</sup> Sin dudas la actividad antimicrobiana es transcendental como parte del mecanismo de los aceites en la cicatrización

de heridas, pero no parecen ser los únicos mecanismos involucrados. La liberación de factores de crecimiento,<sup>22,35</sup> la activación de mecanismos antioxidantes locales,<sup>23,24</sup> y la activación de otros mecanismos de reparación de los tejidos<sup>25</sup> parecen ser parte de su modo de actuar (Fig. 4).

Fig.4



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

## 2.6.2. Estudios clínicos

### Estomatología

Estudio del efecto del aceite de girasol ozonizado (Oleozon®) en la periodontitis. Este estudio clínico de fase III a simple-ciego se realizó en 84 pacientes mayores de 35 años de ambos géneros. El grupo tratado (42 pacientes) fue tratado tópicamente con el aceite y el grupo control con igual número de pacientes se trató con la terapia convencional (clorhexidina 0,2 %). La evolución de los pacientes se siguió por 9 meses y se evaluaron indicadores clínicos, radiográficos y microbiológicos. Al final del estudio un 98 % de los pacientes tratados con aceite ozonizado evolucionó de manera satisfactoria frente al 78 % de los tratados con la terapia convencional.<sup>10,36</sup>

Los efectos del aceite de girasol ozonizado en la alveolitis se describen en un estudio comparativo del uso de aceite de girasol ozonizado Oleozon® vs. Alvogil® (iodo) como único tratamiento por vía tópica más un antibiótico por vía oral. El grupo en estudio estuvo

conformado por 100 pacientes adultos, que se distribuyeron al azar en dos grupos de 50 integrantes cada uno. La evolución se siguió cada 72 h por personal médico. El criterio de curación seguido fue la disminución o desaparición del dolor y la formación de tejido de cicatrización. Se alcanzó la cicatrización en el 43 % de los pacientes tratados con el aceite ozonizado y en el 41 % de los tratados con iodo, sin diferencias significativas entre los grupos. No obstante el proceso de cicatrización fue más rápido en los pacientes tratados con el aceite ozonizado y requirieron solo de 2 a 3 visitas médicas mientras que los pacientes tratados con iodo requirieron de 4 a 6.<sup>36</sup>

Otro estudio refiere el tratamiento de la gingivitis con úlceras necrosante aplicando aceite de girasol ozonizado. En este estudio clínico fase III con asignación aleatoria, un grupo de 48 pacientes afectado de esta patología fueron agrupados de manera aleatoria a 2 grupos. El grupo tratado (24 pacientes) recibieron la aplicación local tres veces al día del aceite ozonizado sobre la lesión por 7 d. El grupo control (24 pacientes) fueron tratados con la terapia convencional (enjuagues con una solución de perborato de sodio), tres veces al día por 7d. Los pacientes se evaluaron a los 3 y 7 días de iniciado el tratamiento. El 75 % de los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado sanaron, en contraste en el grupo control el éxito fue solo en el 29,2 % con diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) con respecto al grupo tratado con aceite ozonizado.<sup>36</sup>

La aplicación de aceite ozonizado en el tratamiento de conductos radiculares infectados ha sido también objeto de investigación. En este estudio participaron 200 pacientes adultos que presentaban fístulas mono-radiculares en los dientes o áreas refractarias radiolúcidas. Los pacientes fueron distribuidos al azar en dos grupos de 100 pacientes cada uno. A los pacientes del grupo tratado con aceite ozonizado se le introdujo dentro de la cavidad una mota de algodón impregnada en el aceite. Los pacientes del grupo control se trataron con el agente bactericida Cresophen® (Dexametasona, P-Clorofenol, Timol). La evolución de ambos grupos se siguió cada 48 h con mediciones radiológicas y clínicas, al principio y al final del tratamiento. La mejoría del grupo tratado con el aceite ozonizado (91 %) fue significativamente ( $p < 0,01$ ) superior a la alcanzada en el grupo control (55 %).<sup>36</sup>

Además de los efectos germicidas de los aceite que pueden explicar los efectos clínicos anteriormente descritos, en el caso del uso en estomatología, se ha demostrado en modelos experimentales que su aplicación tópica puede tener efectos benéficos sobre la densidad ósea y en la calidad de la osteo integración en torno a un implante dental.<sup>37</sup>

En el tratamiento de la gingivo-estomatitis se estudio un grupo de 100 niños entre 0 y 15 años afectados de gingivo-estomatitis aftosa. La principales manifestaciones de la enfermedad eran: fiebre, anorexia, salivación, dolor, entre otros. El grupo bajo estudio (60 pacientes) se trataron con aplicaciones locales de aceite de girasol ozonizado y los pacientes del grupo control con la terapia convencional (yodoxuridina, hibitane o boroglicerina). Entre los días 3 a 7 de tratamiento el 75 % de los pacientes tratados con aceite ozonizado y el 6 % de los pacientes del grupo control habían sanado con diferencias significativas de  $p < 0,001$  entre los grupos.<sup>36</sup>

La efectividad del aceite de oliva ozonizado en la gingivoestomatis herpética fue referida desde 1950.<sup>38</sup> Posteriormente un estudio en el cual participaron 113 pacientes con antecedentes de

gingivoestomatitis herpética fueron tratados diariamente con aceite de girasol ozonizado. En un 76,9 % de los pacientes los síntomas desaparecieron tras 3 d de tratamiento. El microorganismo oportunista más frecuente aislado de las lesiones fue *Staphylococcus aureus*.<sup>10,36</sup> Otro estudio que involucró 2596 pacientes demostró una efectividad de un 92,7 % con un 0,3% de efectos colaterales.<sup>10</sup>

## Dermatología

El efecto del aceite de girasol ozonizado también fue estudiado en el tratamiento del impétigo (causado fundamentalmente por bacterias de los géneros estreptococos y estafilococos). Un estudio clínico de fase III realizado en 136 niños con edades entre 0 a 14 años demostró la eficacia de aceite de girasol ozonizado en el 92,9 % de los casos, sin diferencias significativas con respecto a la eficacia del grupo tomado como control al cual se le aplicó mupirocina y en el que se alcanzó un 100% de respuesta satisfactoria. En ambos grupos los tratamientos se aplicaron 3 veces al día y la variable principal fue la respuesta clínica.<sup>10</sup> Un análisis costo eficacia demostró que el tratamiento con aceite ozonizado redujo los costos del tratamiento en un 30%.<sup>39</sup>

En el mecanismo infeccioso que origina la tinea pedis intervienen hongos del género *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*. Un estudio de fase III en 200 pacientes que padecían tinea pedis involucró a 100 pacientes que fueron tratados con aceite de girasol ozonizado y 100 tratados con la terapia convencional (ketoconazol 2 %), la aplicación se realizó dos veces al día por seis semanas. La efectividad se siguió mediante la observación de la desaparición de la lesión y la negatividad del estudio microbiológico. La efectividad total fue de 75 % para el aceite ozonizado y de 81 % para el ketoconazol sin diferencias significativas entre los grupos. No se observaron eventos adversos durante el estudio, el aceite aventajó en costos al ketoconazol.<sup>3,10</sup> Un estudio posterior fase IV con 2596 pacientes corroboró una alta eficacia del tratamiento (92,7 %) con un bajo porcentaje de efectos adversos (0,3 %).<sup>40</sup>

Los aceites ozonizados son muy efectivos en el tratamiento de la onicomycosis. Un estudio clínico de fase III comparó la efectividad del aceite de girasol ozonizado con la crema de ketoconazol en 400 pacientes que padecían de onicomycosis. Los pacientes fueron distribuidos a los grupos al azar y recibieron 2 veces al día el tratamiento correspondiente por 3 meses. Los pacientes fueron considerados curados cuando la uña recuperó su color, espesor y crecimiento y lo anterior se correspondiera con un estudio microbiológico negativo. El porcentaje de pacientes curados tras el tratamiento con el aceite ozonizado fue de 90,5 % mientras que en el grupo tratado con ketoconazol fue de 13,5 %. Después de un año de seguimiento los pacientes tratados con el aceite ozonizado presentaron un 2,8 % de reinfección mientras que en el grupo tratado con ketoconazol este indicador fue de un 44,4 %. Lo anterior demostró la absoluta superioridad en cuanto a su efectividad, del aceite ozonizado frente a la terapia convencional.<sup>41</sup>

Las úlceras de los miembros inferiores causadas por la insuficiencia venosa crónica son lesiones generalmente infectadas por una flora microbiana variable. Los efectos de aceite ozonizado fueron estudiados en 120 pacientes con este padecimiento, con lesiones de al menos 5 años de evolución que fueron tratados con dieta hiposódica, reposo venoso, fármacos analgésicos

y cura de la úlcera con cloruro de benzalconio (1/5000) dos veces al día. Los pacientes se dividieron en 2 grupos de 60 sujetos cada uno. En el grupo en estudio se aplicó después de la desinfección aceite de girasol ozonizado y en el grupo control una crema con el antibiótico correspondiente a la sensibilidad de las cepas aisladas de la lesión. La mejoría de los síntomas en el grupo tratado con aceite ozonizado se observó a las 72 h y la aparición de tejido de granulación a los 5 d. La desaparición de los síntomas y la evolución de la lesión fue superior en el grupo tratado con el aceite (95 % a los 15 d) comparado con un 11% en el grupo tratado con antibiótico.<sup>10</sup>

Otro estudio clínico analizó la evolución de escaras en 20 pacientes subdivididos en dos grupos de 10 cada uno. A un grupo se le administró aceite de girasol ozonizado dos veces al día y al otro una crema antibiótica que correspondió a la sensibilidad del germen detectado en el antibiograma. La velocidad de cicatrización de las lesiones fue superior en los pacientes tratados con el aceite ozonizado.<sup>36</sup>

Múltiples lesiones con infecciones mixtas también han sido tratada con aceites ozonizados con gran éxito terapéutico como fistulas y heridas quirúrgicas<sup>6</sup>, quemaduras<sup>8</sup>, úlcera de decúbito,<sup>42</sup> necrosis ósea,<sup>43</sup> conjuntivitis, úlceras corneales, queratitis, blefaritis,<sup>10</sup> foliculitis y escaras.<sup>44</sup>

#### Ginecología

Un estudio en 67 mujeres con infección causada por el virus del papiloma humano (HPV) a nivel vaginal o en el cérvix, comprendió la aplicación vaginal de aceite de girasol ozonizado. El tratamiento se efectuó diariamente y se mantuvo por 15 d. Los resultados evaluados mediante exámenes citológicos demostraron una efectividad de un 94 %.<sup>36</sup>

El Herpes simplex genital también ha sido objeto de experimentación clínica con el aceite de girasol ozonizado. Un estudio que abarcó 20 pacientes con este diagnóstico y propensos a recaídas, se trató 2 veces al día durante 9 meses siguiendo un grupo control paralelo que fue tratado con solución fisiológica y loción de zinc. El grupo tratado con aceite ozonizado tuvo una evolución satisfactoria en cuanto a su efectividad y reducción de recaídas.<sup>10</sup> Debemos señalar en este caso que una limitante de este estudio fue el uso de un tratamiento control inespecífico.

Un estudio a doble ciego en 60 mujeres afectadas de vulvovaginitis por *Candida albicans* que se dividieron en 2 grupos (uno tratado con óvulos que contenían como principio activo aceite de girasol ozonizado y otro grupo con óvulos de nistatina). Los tratamientos se mantuvieron por 10 d y en ambos casos se trató también a la pareja sexual. Al final del estudio los resultados microbiológicos y clínicos demostraron un 100 % de curación en los sujetos tratados con óvulos de aceite de girasol ozonizado y un 50 % en los del grupo control. No se reportaron efectos adversos.<sup>10</sup> Resultados igualmente satisfactorios se reportaron durante el tratamiento de la vulvovaginitis causada por *Candida*, tratada con manteca de cacao ozonizada.<sup>45</sup>

## Oftalmología

La queratitis de origen viral (inflamación de la córnea) fue tratada con 3 aplicaciones diarias de aceite de girasol ozonizado hasta la desaparición de los síntomas. El estudio se llevó a cabo en 30 pacientes, como control se tomaron los pacientes que eran sometidos a la terapia convencional (yodoxuridina, homatropina, anti-inflamatorios). La mejoría en los pacientes tratados con el aceite ozonizado fue evidente a las 48 h y los tiempos de curación fueron inferiores a los del grupo control. A los 6 días de tratamiento se declaró curado el 70 % de los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado contra un 11 % de curación en los tratados con la terapia convencional. Estas proporciones a los 30 días fueron de 98 % y 62% respectivamente.<sup>10</sup>

### 3. Otras aplicaciones de los aceites ozonizados.

En el tratamiento de la amigdalitis aguda con aceites ozonizados, un grupo de 15 pacientes que la padecían fueron tratados diariamente mediante aplicación en el área orofaríngea. A los pacientes se les practicó un estudio microbiológico antes y después del tratamiento. El primer exudado reveló la presencia de *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* entre otros. Al final del tratamiento todos los pacientes se curaron, lo cual fue demostrado desde el punto de vista microbiológico.<sup>36</sup>

Resulta muy interesante un trabajo publicado en 1859 que describe el uso de aceites de girasol, coco e hígado de bacalao en pacientes con diferentes afecciones, fundamentalmente tuberculosis. Los aceites se preparaban enriqueciéndolos con oxígeno y exponiéndolos a las radiaciones UV del sol. Eran administrados por vía oral de 2 a 3 veces al día y en general se observaban buenos resultados clínicos.<sup>26</sup> Sobre la base de observaciones experimentales y clínicas recientes se llega a la conclusión de que el aceite ozonizado debe ser considerado como alternativa de la terapia de quemaduras químicas del tracto digestivo, y se recomienda prescribirlo en dosis de 30 mL 3 veces al día.<sup>18,46</sup>

Cuando se administra por vía oral el aceite vegetal ozonizado ejerce no sólo acción antiinflamatoria. En investigaciones en pacientes con diferentes enfermedades infecciosas se demostró su influencia sobre la corrección inmunológica en los indicadores de la inmunidad celular y humoral, tanto en la específica como en la no específica. En todos los casos, independientemente de la patología infecciosa estudiada la aplicación de aceite ozonizado incluida en la terapia base (5 mL dos veces al día) permitió en breve plazo la normalización del contenido absoluto y porcentual de los linfocitos T, disminuyó la cantidad de linfocitos B, incrementó la fagocitosis. La aplicación del aceite vegetal ozonizado condujo a la normalización o al incremento de la defensa humoral no específica, la actividad bactericida y de lisozimas del suero sanguíneo.<sup>18</sup>

Con estos fines, en el uso oral el aceite se aplica al inicio una dosis de 5 mL, 20-30 min después de las comidas, probablemente para favorecer su absorción, 2-4 veces al día, que se aumenta paulatinamente hasta 20 mL 2-4 veces al día.<sup>18</sup> En el tratamiento de la giardiasis se emplea como máximo 1 mL de aceite dos veces al día, la primera dosis en ayuno y la segunda una

hora y media después de la última comida (con el estómago vacío, para favorecer su acción sobre el parásito). Cuando se aplican dos ciclos de 10 d separados por un descanso de 7 días la efectividad terapéutica alcanza y un 64.3 %, Un tratamiento continuado por 30 d alcanza una efectividad del 70%.<sup>10</sup>

La aplicación tópica de aceite de girasol ozonizado al 30% (índice de peróxido de 700) más ácido lipoico 0,5 % (Bioperoxoil®) ha demostrado efectos reductores de la concentración de ácido láctico y una mejoría de la recuperación de la fatiga muscular causada por la actividad física.<sup>47,48</sup>

#### **4. Recomendaciones para la utilización de los aceites ozonizados.**

Las recomendaciones para la utilización de los aceites ozonizados se basa fundamentalmente en la concentración peróxidos en el aceite (IP, se refiere al índice de peróxidos). Por ejemplo: Para la administración oral de aceite ozonizado (en enfermedades del tracto gastrointestinal y post-cirugías del tracto intestinal) se debe utilizar IP=400.

Para aplicaciones a más largo plazo (algunas horas) en mucosa vaginal, rectal, nasal, úlceras tróficas en fase de epitelización, cuidados del cuero cabelludo y piel se debe utilizar IP=400-600.

En heridas, úlceras tróficas y quemaduras en fase de clara y franca granulación se debe utilizar IP=800.

En psoriasis, enfermedades virales e infestación por hongos de la piel, se debe utilizar IP=1200. Para aplicaciones de corto tiempo (1-10 min) de tratamiento en enfermedades de las encías, virus y hongos de la piel de difícil tratamiento por resistencia, por ejemplo: Queilitis angular, tricofitosis de la cabeza y otras se debe utilizar IP=2400-2800.<sup>18</sup>

La medición del IP requiere técnicas analíticas espectrofotométricas que por lo regular no están disponibles en la clínica, es por ello que para saber el IP del aceite que se utiliza es recomendable el uso de los que se preparan de forma industrial, cuyo IP viene analizado durante el proceso de control de calidad. Debemos aclarar que un mayor IP no guarda relación lineal con la efectividad terapéutica.

#### **5. Estudios toxicológicos y efectos adversos.**

Se han realizado diversos estudios sobre la toxicidad de los aceites ozonizados, en particular para el aceite de girasol ozonizado se han estudiado a nivel preclínico los estudios de mutagénesis, genotoxicidad, teratogénesis y los estudios toxicológicos básicos. En todos los casos los indicadores de toxicidad son bajos.<sup>10</sup> En los estudios clínicos donde se han empleado estos aceites en general no se reportan efectos colaterales<sup>5,6</sup> o la magnitud de su aparición es muy baja (0,3% fundamentalmente: prurito, sensación de quemadura, eritema y edema).<sup>10</sup> Por la vía oral, se ha reportado la presencia de vómitos en un 2,6 % de los pacientes.<sup>10</sup>

## 6. Conclusiones.

El uso clínico de los aceites ozonizados en enfermedades infecciosas presenta numerosas ventajas con respecto a las terapias convencionales. Abaratamiento de los tratamientos, efectos similares o superiores a los antibióticos tradicionales, un amplio espectro antimicrobiano y un bajo índice de eventos adversos son algunas de las ventajas. Los productos de la oxidación lipídica que se generan tras la reacción del ozono con los ácidos grasos y otros sustratos, generan compuestos con actividad germicida, inmuno-estimulante y reparadora de tejidos. La estabilidad de los preparados ozonizados permite el desarrollo de formulaciones convencionales para su uso clínico. El estudio más profundo de los efectos biológicos de estos preparados reforzara las bases científicas de su empleo en diferentes patologías.

## Referencias.

1. Nicolau DP. Current challenges in the management of the infected patient. *Curr Opin Infect Dis.* 2011 Feb;24 Suppl 1:S1-10.
2. Cohen JM, Wilson ML, Aiello AE. Analysis of social epidemiology research on infectious diseases: historical patterns and future opportunities. *J Epidemiol Community Health.* 2007 Dec;61(12):1021-7.
3. Menendez S, Falcon L, Simon DR, Landa N. Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis. *Mycoses.* 2002 Oct;45(8):329-32.
4. Sechi LA, Lezcano I, Nunez N, et al. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *J Appl Microbiol.* 2001 Feb;90(2):279-84.
5. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol.* 2005 Dec;153(6):1096-100.
6. Matsumoto A, Sakurai S, N NS. Therapeutic effects of ozonized olive oil in the treatment of intractable fistula and wound after surgical operation. In: IOA MTC (ed). 15th Ozone World Congress. London, UK: Speedprint MacMedia Ltd, 2001:77-84.
7. Jordan L, Beaver K, Foy S. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs.* 2002 Dec;6(4):220-7.
8. Bocci V. *Ozone A New Medical Drug.* Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2005. 295 p.
9. Viebahn-Hänsler R. *The use of ozone in medicine.* 5th ed. Germany: ODREI; 2007. 1-176 p.
10. Menéndez s, González R, Ledea O. *Ozono, aspectos básicos y aplicaciones clínicas.* La Habana: CENIC; 2008.
11. ISCO3. ISCO3 OZONE. Zotero, 2011. [https://www.zotero.org/groups/isco3\\_ozone](https://www.zotero.org/groups/isco3_ozone)



12. Guinesi AS, Andolfatto C, Bonetti Filho I, Cardoso AA, Passaretti Filho J, Farac RV. Ozonized oils: a qualitative and quantitative analysis. *Braz Dent J.* 2011;22(1):37-40.
13. Diaz M, Lezcano I, Alvarez I. H-NMR studies of the ozonization of methyl oleate. *Bol Soc Chil Quim.* 1997;42:349-53.
14. Tellez GM, Lozano OL, Gomez MFD. Measurement of Peroxidic Species in Ozonized Sunflower Oil. *Ozone: Science and Engineering.* 2006;28:1-5.
15. Segal A, Zanardi I, Chiasserini L, Gabrielli A, Bocci V, Travagli V. Properties of sesame oil by detailed <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements. *Chem Phys Lipids.* 2010 Feb;163(2):148-56.
16. Travagli V, Zanardi I, Bocci V. Topical applications of ozone and ozonated oils as anti-infective agents: an insight into the patent claims. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2009 Jun;4(2):130-42.
17. Díaz MF, Hernández R, Martínez G, et al. Comparative Study of Ozonized Olive Oil and Ozonized Sunflower Oil. *J Braz Chem Soc.* 2006;17(2):403-7.
18. Schwartz A, Martinez-Sanchez G, Re L. *Guia para el uso médico del ozono. Fundamentos terapéuticos e indicaciones.* Madrid; 2011.
19. Miura T, Suzuki S, Sakurai S. Structure elucidation of Ozonized Olive Oil 15th World Congress of the International Ozone Association Medical Therapy Conference. London, 2011:72-6.
20. Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, et al. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen.* 2011 Jan;19(1):107-15.
21. Geweely N. Antifungal Activity of Ozonized Olive Oil (Oleozone). *Int J Agri Biol.* 2006;8(5):671-8.
22. Kim HS, Noh SU, Han YW, et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci.* 2009 Jun;24(3):368-74.
23. Zamora Z, Gonzalez R, Guanche D, et al. Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm Res.* 2008 Jan;57(1):39-43.
24. Zamora Rodriguez ZB, Gonzalez Alvarez R, Guanche D, et al. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. *Mediators Inflamm.* 2007;2007:65873.
25. Silveira AM, Lopes HP, Siqueira JF, Jr., Macedo SB, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single-visit endodontic treatment. *Braz Dent J.* 2007;18(4):299-304.
26. Thompson T. Observation on the Medical Administration of Ozonized Oils. *Med Chir Trans.* 1859;42:349-60.

27. WO0137829(A1), Gomez-Moraleda MA, Melegari P, Aglio RD; Composition comprising ozonized oils and/or other ozonized natural and/or synthetic products and their use in pharmaceutical, cosmetic, dietetic or food supplement compositions in human and veterinary medicine. 2001.
28. US984722, Twombly AH; Composition Yielding Ozone. 1911.
29. US5270344, Herman S; Method of treating a systemic disorder using trioxolane and diperoxide compounds 1993.
30. US5364879, Herman S; Medical uses of trioxolane and diperoxide compounds. 1994.
31. US2356062, Charles J; LATIMER LAB INC assignee. Therapeutic Composition. 1944.
32. US3504038, Beal RE; Ozonization of vegetable oils in an improved aqueous medium 1970.
33. Martinez-Sanchez G, Al-Dalain SM, Menendez S, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol.* 2005 Oct 31;523(1-3):151-61.
34. Hernandez F, Hernandez D, Zamora Z, et al. Giardia duodenalis: effects of an ozonized sunflower oil product (Oleozone) on in vitro trophozoites. *Exp Parasitol.* 2009 Mar;121(3):208-12.
35. Schulz S. [A new model for integral measuring of wound healing processes in small laboratory animals, tested with ozonized olive oil (author's transl)]. *Dtsch Tierarztl Wochenschr.* 1981 Feb 5;88(2):60-4.
36. US20060074129, Mirabal JM, Menendez-Cepero S, et al.; Method for obtaining ozonized oils and vegetable fats and use of said products for pharmaceutical and cosmetic purposes CU patent US20060074129. 2006.
37. El Hadary AA, Yassin HH, Mekhemer ST, Holmes JC, Grootveld M. Evaluation of the effect of ozonated plant oils on the quality of osseointegration of dental implants under the influence of cyclosporin a: an in vivo study. *J Oral Implantol.* 2011 Apr;37(2):247-57.
38. Goldstein LS. The treatment of acute herpetic gingivostomatitis with ozonide of olive oil. *N Y State J Med.* 1950 May 15;50(10):1252.
39. Alfonso K, Collazo M, Fernandez M, Ballagas C. Cost-efficacy Analysis of Topical Ozonized Oil versus Mupirocin Cream in the Treatment of Impetigo. *Latin Am J Pharm.* 2008;27(4):512-8.
40. Menéndez S, Re L, Falcón L, et al. Safety of Topical Oleozon® in the Treatment of Tinea Pedis: Phase IV Clinical Trial. *International Journal of Ozone Therapy* 2008;7:55-9.
41. Menendez S, Falcon L, Maqueira Y. Therapeutic efficacy of topical OLEOZON((R)) in patients suffering from onychomycosis. *Mycoses.* 2010 May 17.
42. Beck EG, Viebahn-Hansler R, Wasser G. Current status of ozone therapy - Empirical developments and basic research. *Forschende Komplementarmedizin.* 1998;5(2):61-75.
43. Ripamonti CI, Cislighi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O<sub>3</sub>) delivered in oil suspension applications for the treatment of osteonecrosis of the jaw in patients with bone metastases treated with bisphosphonates: Preliminary results of a phase I-

II study. *Oral Oncol.* 2011 Mar;47(3):185-90.

44. Parodi F. Gel Ossigeno-Ozono. *International Journal of Ozone Therapy.* 2009;8:162-3.

45. Lezcano I, García G, Martínez G, et al. Effectiveness of ozonated cocoa butter for the treatment of vaginal candidiasis. *Rev CENIC Cien Biol.* 1998;29(3):206-8.

46. Lipatov SG. Aplicación del aceite ozonizado en el tratamiento de daño químico del tracto alimentario por intoxicación con ácido acético. Ekaterimburg, 2000.

47. Paoli A. The Effects of sport Massage with Mineral Oil, Ozonated Oil and Passive Recovery on Performance and Fatigue Perception in Competitive Amateur Cyclists. *International Journal of Ozone Therapy.* 2011(Monography III World Congress of Oxygen-Ozone Therapy):57-8.

48. Catela-Cardoso C, Dall'aglio R, Rimonti D, Rodriguez KL, Ferreira LR. Ozonized Sunflower Oil Associated to Lipoic Acid in the Prevention of Muscle Fatigue in Formula 1 Race Pilots. *International Journal of Ozone Therapy.* 2011(Monography III World Congress of Oxygen-Ozone Therapy):64.

49. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators Inflamm.* 2010;2010:610418.