

# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

*Erhlich Ascitic Tumor and Sarcoma 37 se implantaron en ratones y luego los animales fueron tratados con ozono (rectalmente).*

*Una disminución significativa en el número de metástasis fue obtenido. En otro estudio, se aplicó ozono por vía intraperitoneal, antes de la inoculación con carcinoma de pulmón de Lewis.*

*Un efecto retardado en la cinética de desarrollo tumoral y en la tasa de aumento del volumen tumoral en los grupos de ozono fue observado. Con respecto al ensayo clínico, los pacientes con cáncer de próstata fueron tratados con terapia de cobalto-60 y ozono (por vía rectal), disminuyendo la presencia de efectos secundarios (debido a un tratamiento de radiación) y la próstata específica figuras antigénicas Sin embargo, son necesarias más investigaciones a realizarse, para ser considerado la terapia de ozono como terapia complementaria para el cáncer.*

**Palabras clave** Ozono, Adenocarcinoma Prostático,

Metástasis, Quimioterapia, Radioterapia, Lewis 'Lung Carcinoma, sarcoma 37, tumor ascítico de Erhlich

### INTRODUCCIÓN

El cáncer es la segunda causa de muerte detrás de enfermedad del corazón. Sin embargo, las muertes por enfermedades cardíacas disminuyó en un 45% en los Estados Unidos desde 1950 y sigue disminuyendo, mientras que las muertes por cáncer van en aumento.

En este siglo, se prevé que el cáncer sea la causa principal de la muerte. Un informe de la OMS prevé que en todo el mundo las tasas de cáncer pueden duplicarse para 2020, a menos que tomemos medidas estrictas medidas para promover una dieta saludable, dejar de fumar y un mejor acceso a la inmunización viral (Bailar y Gornih, 1997; Levi et al., 1999; Eaton, 2003).

El desarrollo de una terapia efectiva contra el cáncer es un foco principal de la investigación biomédica

(Giovanni et al., 2000). Existe un consenso total de que, siempre que sea posible, el tumor primario se debe extirpar quirúrgicamente (o irradiar) porque la carga de tumor grande o metástasis extensas inducen caquexia y un estado anérgico (Tisdale, 2002; Argiles et al, 2003). Sin embargo, una ablación completa y la curación es rara porque la diseminación hematogena de las células tumorales en la médula ósea pueden ocurrir a una edad temprana etapa de la malignidad (Pantel et al., 1999). Por lo tanto, nosotros puede suponer que, incluso después de una operación exitosa, el paciente, en el peor, puede tener una gran diseminación de neo-células plásticas que, después de superar la inmunodepresión la anestesia y la cirugía, pueden permanecer latentes o eliminado a través de la vigilancia de la inmunidad sistema. Por esa razón, no es sorprendente que los pacientes con índice siempre buscan otras posibilidades, particularmente en el vasto campo de la medicina complementaria prácticas tales como dieta,



# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

nutrición y cambios de estilo de vida, entre otros (Cassileth y Chapman, 1996; Burstein et al., 1999).

La hipoxia tumoral es un mecanismo bien reconocido para resistencia de las células neoplásicas a los medicamentos contra el cáncer y radioterapia.

También es un factor relevante que mejora el neoanálisis, angiogénesis, desdiferenciación y metástasis. Ambos primarios y los tumores metastásicos prosperan en áreas donde el promedio pO<sub>2</sub> es más bajo que los tejidos normales y el anfitrión aparece incapaz de montar una reacción para restablecer la fisiología normales (Brahimi-Bruno et al., 2001; Harris, 2002; Subarsky y Hill, 2003).

La neoplasia es un proceso multifactorial que puede ser ampliamente categorizado en cinco etiologías: genética, viral, químico, físico e inflamatorio. Químico, físico y etiologías inflamatorias están estrechamente vinculadas a reactivos especie de oxígeno (ROS), que puede inducir

fácilmente genómica daño (Brauchle et al., 1996; Bauer et al., 1998). Oxígeno es necesario para la respiración y los procesos energéticos que permitir la vida aeróbica. Los costos asociados con el uso de oxígeno son Formaciones ROS, que crean estrés oxidativo que tiene un efecto complejo en el desarrollo del cáncer (Knight, 1995). En condiciones fisiológicas normales, ROS celulares generación se ve contrarrestada por la acción de antioxidante de enzimas y otras moléculas redox. El balance entre la generación de ROS y la eliminación es importante para mantener estados redox celulares adecuados.

Una acumulación excesiva de ROS conducirá a una lesión celular como el daño al ADN, la proteína y la membrana lipídica. Debido a sus posibles efectos nocivos, un exceso de ROS debe ser rápidamente eliminado de las celdas por una variedad de mecanismos de defensa antioxidantes, incluidos importantes enzimas, como

superóxido dismutasa, catalasa y varios peroxidases (Winklhofer-Roob, 1994). Aunque el preciso mecanismos responsables del aumento del estrés de ROS en el cáncer las células no se han definido, el aumento en la generación de ROS se atribuye a la actividad metabólica celular activa bajo el influencia de señales oncogénicas y / o mitocondriales mal funcionamiento en las células cancerosas (Szatrowski y Nathan, 1991; Salah-Eldin et al., 2000; Maxwell et al., 2001; Maulik y Das, 2002).

El ozono se disuelve en el agua de plasma o en agua presente en la superficie de la piel o en los fluidos intersticiales y desaparece inmediatamente al reaccionar con compuestos orgánicos libras (antioxidantes hidrosolubles y lipofílicos, insaturados ácidos grasos, etc.) generando una cantidad de mensajeros actuando sobre varios componentes de la sangre y procurando temprano (por ROS) y tardío



## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

(por LOP) efectos biológicos (Bocci,2002). Se muestra que el ozono, a través de la acción transitoria de peróxido de hidrógeno, actúa como un inductor suave de citoquinas en leucocitos y, por lo tanto, linfocitos sensibilizados y monocitos, liberando citoquinas en microambiente linfoide, activando el sistema inmune usualmente suprimido por crecimiento tumoral (Larini y Bocci, 2005).

Además, el ozono corrige el estrés oxidativo crónico hasta la regulación del sistema antioxidante, logrando un homeostasis redox (Ajamiyah et al., 2004, 2005; Leo'n et al.,1998), y procura un estado de bienestar en los pacientes mediante activar el sistema neuroendocrino (Bocci, 2002). Además de estos efectos biológicos del ozono, hallazgos experimentales han indicado que, después de la ozonoterapia, la oxigenación aumenta particularmente en los tumores hipóticos (Clavo et al.,2004). Además, sobre la base de la mejora clínica en

diferentes enfermedades (Romero et al., 1993; Giunta et al., 2001; Tylicki et al., 2001) después de solo dos meses de tratamiento con ozono, es probable que la terapia de tres a cuatro meses pueda occasionar una oxigenación normal de los tejidos neoplásicos.

En este artículo revisamos el estado del arte de la diferentes efectos biológicos del ozono que se demostraron en diferentes modelos animales, en relación con la posibilidad utilizar el ozono medicinal como estrategia terapéutica para el cáncer tratamiento. Además, se realizaron estudios preclínicos y clínicos formado para demostrar los efectos del ozonoterapia en el tratamiento del cáncer

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### Estudios preclínicos

En ambos estudios preclínicos, B6D2F1 y NMRI masculino ratones (18-20 g) fueron utilizados. Todos los animales se obtuvieron del Centro Nacional de producción de animales de laboratorio (CENPALAB, La

Habana Cuba). Los animales fueron alojados (10 por jaula) en un ciclo de 12 h de luz-oscuridad con espacio temperatura mantenida a 25 o C, humedad a 55-60% y comida y agua *ad libitum*. Los experimentos fueron conducidos de acuerdo con las directrices éticas establecidas por los Principios de cuidado de animales de laboratorio (Publicación NIH No. 86-23, revisada en 1985) y fueron aprobado por el Comité Ético de Animales Experimentación del Centro Nacional de Investigaciones Científicas Investigación, La Habana, Cuba. Los animales fueron divididos en varios grupos: control positivo (inoculación del tumor, pero sin tratamiento) y experimental (tratado con concentraciones de ozono) con 10 animales por grupo.

En el primer estudio preclínico, un millón de células de Erlich Ascitic Tumor and Sarcoma 37 se implantaron por el plexo ocular de los ratones. Después de la implantación, los animales



# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

fueron tratados con 1 mL de ozono, por aplicación rectal, utilizando diferentes concentraciones de ozono (19, 26 y 42 mg / L), durante 12 sesiones. La diseminación hematogénica de las células neoplásicas presentes en los pulmones era evaluado.

En el segundo estudio preclínico, se aplicó ozono a los ratones por vía intraperitoneal en concentraciones de 4, 11, 20,35 mg / L y un volumen de 80 ml / kg, diariamente durante 15 días. Veinticuatro horas después del último tratamiento con ozono, los animales fueron inoculados con 1 millón de células del pulmón de Lewis carcinoma por vía subcutánea (0.25 mL). El tumor aumento de volumen y la cinética de desarrollo tumoral de El carcinoma de pulmón de Lewis fue evaluado.

### Ensayo clínico

Setenta pacientes con adenocarcinoma de próstata, en Etapa A y B (intracapsular), según la clasificación Whitemore

Jewet (Hernández, 2001), estuvo involucrada en un ensayo clínico aleatorizado controlado en fase III. Todas los pacientes fueron tratados con terapia de cobalto 60, pero para 35 pacientes A se les agregó ozono rectal, 6 días a la semana, en una dosis de 8 mg (40 mg / L y 200 ml) durante las 6 semanas que duró la radioterapia. Para lo preclínico y ensayo clínico el ozono fue generado por un OZOMED 01 equipo fabricado por Centro Investigación de Ozone obtenido de oxígeno de grado médico. El ozono la concentración se midió usando una espectrofotometría UV ometer a 254 nm.

### Análisis estadístico

La prueba preliminar de OUTLIERS para la detección de los valores de error se aplicaron inicialmente. Después, los datos fueron analizado por análisis de varianza de una vía (ANOVA) seguido por la prueba de varianza de homogeneidad (Bartlett-Box). Además, se utilizó una prueba de comparación

múltiple (Duncan prueba). Los resultados se presentan como media  $\pm$  error estándar del significado. El nivel de significación estadística empleado fue  $p <0.05$ .

## RESULTADOS

### Estudios preclínicos

En el primer ensayo preclínico, la diseminación hematogénica de las células neoplásicas presentes en los pulmones fue evaluada para el tumor ascítico de Erhlich (figura 1) y el sarcoma 37 tumor (Figura 2). Una disminución del número de celdas por ratones en relación con el aumento de la concentración de ozono fue observado. Estos resultados demostraron que en ambos tumores una disminución significativa en el número de metástasis fue obtenido.

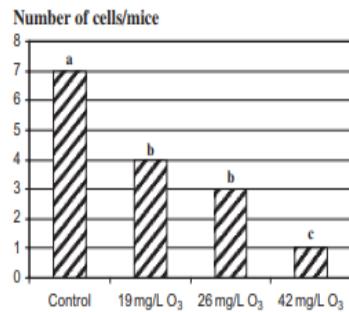
En el segundo estudio preclínico, los resultados del tumor aumento de volumen y la cinética de desarrollo tumoral del



## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

carcinoma de pulmón de Lewis se evaluó (Figuras 3 y 4).

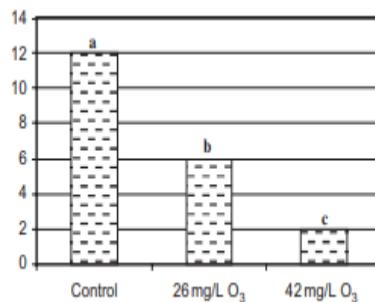
Los principales resultados de la evaluación de respuesta indirecta antitumoral mostró un efecto retardado en el desarrollo del tumor cinética, así como en la tasa de aumento del volumen del tumor en los grupos de pretratamiento de ozono en comparación con grupo de control, con una tendencia a obtener mejores resultados usando la menor concentración de ozono. Además, después de 30 días, una animal sin signos de desarrollo tumoral en cada uno de los



diferentes grupos de ozono se observó, mientras que en el grupo de control positivo todos los animales desarrollaron el tumor.

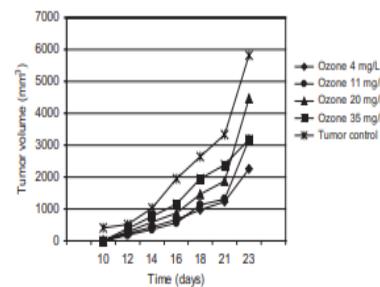
**FIGURA 1.** Multiplicidad tumoral en ratones inoculados por el plexo ocular con 1 millón de células de Tumor Ascítico Ehrlich, usando 1 ml de ozono a diferentes concentraciones (19, 26 y 42 mg / L) por vía rectal aplicación, durante 12 sesiones después de la inoculación. Los datos son media ± SEM. Los medios que tienen letras diferentes indican significantes diferencia ( $p <0.05$ ) entre los grupos.

Número de células / ratones



**FIGURA 2.** Multiplicidad tumoral en ratones inoculados por el plexo ocular con 1 millón de células de Sarcoma-37, utilizando diferentes niveles

de ozono concentraciones (26 y 42 mg / L) por aplicación rectal, durante 12 sesiones después de la inoculación Los datos son mean ± SEM. Medio tener letras diferentes indican diferencia significativa ( $p <0.05$ ) entre los grupos.



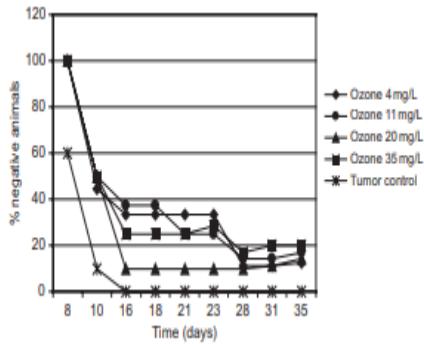
**FIGURA 3.** Aumento del volumen tumoral del carcinoma de pulmón de Lewis.

El ozono se aplicó a ratones por vía intraperitoneal a concentraciones de 4, 11, 20, 35 mg / L y un volumen de 80 ml / kg, diariamente durante 15 días. Veinticuatro horas después del último tratamiento con ozono, los animales eran inoculado con 1 millón de células del carcinoma de pulmón de Lewis por vía subcutánea (0.25 mL).



# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte



**FIGURA 4.** Cinética de desarrollo tumoral de Lewis 'Lung carcinoma. El ozono se aplicó a ratones por vía intraperitoneal en concentrados de 4, 11, 20, 35 mg / L y un volumen de 80 ml / kg, diariamente para 15 días. Veinticuatro horas después del último tratamiento con ozono, los animales fueron inoculados con 1 millón de células del pulmón de Lewis carcinoma por vía subcutánea (0.25 mL).

### Ensayo clínico

En la clínica, la aparición de efectos secundarios (radio-dermatitis, cistitis, proctitis) ocurrió, desde el primer 2 semanas de tratamiento, en pacientes tratados solo con cobalto terapia. Sin embargo, la aplicación de ozono disminuyó estos efectos secundarios, incluso ellos no

aparecen durante este tiempo de irradiación. Al final del tratamiento, en el 84% de pacientes tratados solo con terapia de cobalto y en el 52% del grupo de ozono, refirió la presencia de efectos secundarios, con diferencias significativas entre ambos grupos. Solamente 5 pacientes (14%) terminaron la terapia de cobalto-60, mientras 17 pacientes (49%) del grupo de ozono, podrían terminar el tratamiento con irradiación, con diferencias significativas ambos grupos (Figura 5). Para todos los pacientes, el antígeno prostático específico (PSA) era mesurado. Al comienzo del tratamiento no hay significantes, se pudieron observar diferencias entre ambos grupos (Figura 6A). Un mes después de haber terminado el tratamiento, las cifras de PSA disminuyeron, con menos de 10 ng /mL, en el 92% de los pacientes tratados con ozono y en el 52% de el grupo de control, con diferencias significativas entre ambos grupos (Figura 6B).

### DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio han demostrado las potencialidades del ozono como agente antime-tastásico, así como un adyuvante para el tratamiento de pacientes con cáncer. La Terapia de Ozono puede ejercer influencia en ciertos puntos del complejo proceso tumoral Primero, se ha demostrado su efecto en la regulación del metabolismo y oxigenación del oxígeno, por ejemplo, en el uso de la vía aeróbica para producción de energía y restablecimiento de la funciones metabólicas, controlando la acidosis láctica (Hernández et al., 1995; Bocci, 2002; Larini y Bocci, 2005).

Luego, mejorando la oxigenación tumoral significativamente y aumentar constantemente la disponibilidad de oxígeno y la micro-circulación puede ralentizar el crecimiento del tumor e inhibir la metastatización. En segundo lugar, la oxidativa leve y transitoria el estrés producido por esta terapia



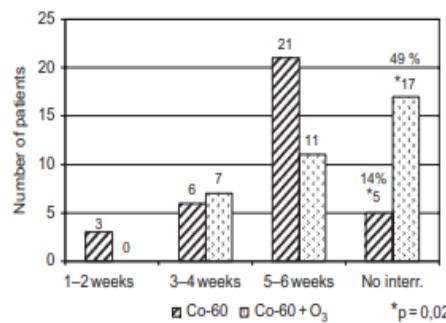
## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

estimula el aumento de enzimas antioxidantes celulares capaces de inhibir estrés oxidativo crónico (Hernández et al., 1995; Bocci, 2002; Ajamieh et al., 2004, 2005; Larini y Bocci, 2005).

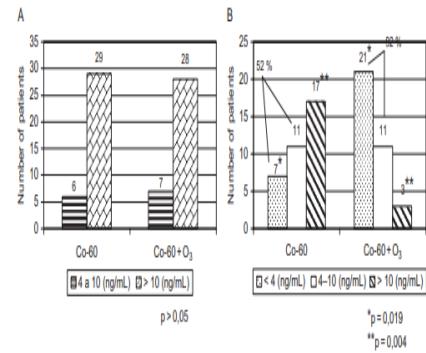
En el cáncer, se ha observado un estrés oxidativo persistente como factor que favorece la progresión de la invasión y la metástasis (Toyokuni et al., 1995). El hecho de que las células cancerosas vivan mejor en un ambiente hipóxico puede implicar que tienen un antioxidante rudimentario sistema para deshacerse de ROS. Entonces, el ozono podría ejercer importantes efectos citotóxicos sobre las células neoplásicas si tienen una pobre sistema defensivo. En tercer lugar, el ozono modula el sistema inmune sistema que hace posible la recuperación de la inmunológica respuesta contra las células tumorales (Hernández et al., 1995; Bocci, 2002; Larini y Bocci, 2005; Ajamieh et al., 2004; Ajamieh et al., 2005).

Se ha demostrado que el crecimiento de humanos el

cáncer es inhibido por el ozono en la cultura, lo que sugiere que las células cancerosas tienen un sistema de defensa deteriorado contra daño por ozono (Sweet et al., 1980; Washuttl et al., 1990).



**FIGURA 5.** Distribución del paciente según la aparición de efectos secundarios, así como el número total de pacientes que no interrumpir el tratamiento de irradiación en ambos grupos. Todos los pacientes fueron tratados con terapia de cobalto-60, pero se agregaron 35 pacientes ozono rectal, 6 días por semana, en una dosis de 8 mg (40 mg / L y 200 ml) durante las 6 semanas que duró la radioterapia.



**FIGURA 6.** Distribución del paciente según las cifras del antígeno prostático específico (PSA), al inicio (A) y 30 días después de haber finalizado el tratamiento (B) de cobalto-60-terapia o cobalto-60-terapia + ozono.

Además, se encontró que la incubación de células neoplásicas en el presencia continua de una dosis baja de ozono (<0.5 ppm) durante 24 h fue citotóxico. Por otra parte, el ozono fue capaz de potenciar la citotoxicidad del 5-fluorouracilo (5-FU) y para aumentar la sensibilidad en un colon resistente a 5-FU variante de carcinoma *in vitro* (Zaïnker y Krocze, 1990). Junto con estos resultados, combina el ozono terapia con radioterapia, un aumento de la citotoxicidad

# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

actividad producida por la irradiación de las células neoplásicas fue observado (Zaïnker y Kroczek, 1989).

Cisplatino es un agente quimioterapéutico eficaz comúnmente utilizado en el tratamiento de una variedad de sólidos cáncer de los órganos, incluidos los de la cabeza, el cuello, los testículos, ovario y mama, sin embargo, la nefrotoxicidad es un importante efecto secundario de esta droga (Lebwohl y Canetta, 1998). En estudios preclínicos, se ha demostrado claramente ese precondicionamiento oxidativo con ozono ejerce protección efecto positivo en la nefrotoxicidad aguda inducida por cisplatino en ratas (Borrego et al., 2004). Además, los datos proporcionan fuerte evidencia de que la ozonoterapia rectal preparó ventilado una disminución en el sistema de defensa antioxidante renal y ciertamente evitó el efecto perjudicial del cisplatino en eso. Además, se ha demostrado que el tratamiento con ozono se revirtió el daño generado por la quimioterapia (Gonzalezet al., 2004; Calunga et al., 2004).

En este ensayo clínico, hemos encontrado una protección favorecido por el tratamiento con ozono en pacientes con próstata cáncer sometido a radioterapia, disminuyendo el lado efectos y hacer posible que más pacientes puedan terminar el tratamiento de terapia de cobalto. Además, una sinergia entre la radioterapia y el ozono se lograron debido a que la figura de PSA disminuye significativamente cuando se agrega ozono a el tratamiento de radiación. No hemos medido ningún parámetro bioquímico en este estudio, pero creemos que la capacidad del ozono para mantener la homeostasis redox (Herna'ndez et al., 1995; Bocci, 2002; Larini y Bocci, 2005; Ajamieh et al., 2004, 2005) es uno de sus principales efectos tener en cuenta los beneficios logrados en el tratamiento el cáncer. Además, se ha demostrado en el estudio preclínico con carcinoma de pulmón de Lewis contiene una respuesta indirecta antitumoral que muestra un efecto retardado en la cinética de desarrollo tumoral, así como en el aumento tasa de volumen tumoral en los

grupos de pretratamiento de ozono en comparación con el grupo de control.

Dos procesos importantes, que son favorecidos en el tumor desarrollo, son la inducción de la angiogénesis y la inhibición de la apoptosis y ambos presentan el común característica de ser dependiente de la generación de ROS (Bauer et al., 1998; Brauchle et al., 1996). Tumor las células producen ROS incluido el peróxido de hidrógeno, que puede ser uno de los elementos que desencadena la angiogénico proceso en el microambiente del tumor (Baueret al., 1998; Brauchle et al., 1996; Knight, 1995; Maulik et al., 2001; Szatrowski y Nathan, 1991; Toyokuni y otros, 1995). Por esa razón, es evidente que un agente capaz de regular el equilibrio antioxidante-prooxidante y el generación de ROS presentará potencialidades para liderar el destino de la célula maligna a la apoptosis y para inhibir la angiogénesis. Hemos demostrado en el ensayo preclínico usando el Tumor Ascítico Erlich y el Sarcoma 37 un ozono efecto antimetastásico. La angiogé-



# St Louis Medical Group

## La terapia de ozono en el tratamiento del cáncer: estado del arte

nesis y la apoptosis son dependiente de la generación de ROS, entre otros factores, y sabemos la capacidad del ozono para mantener el homeostasis redox (Hernández et al., 1995; Bocci, 2002; Larini y Bocci, 2005; Ajamieh et al., 2004, 2005), entonces, puede influir en el destino de la célula. Por supuesto, hay otros factores involucrados en esta regulación. Por ejemplo, algunas proteínas reguladoras de la apoptosis relevantes para la patología renal se han caracterizado, que parece estar fuertemente relacionado en el equilibrio entre factores que contribuyen al crecimiento de la supervivencia o la letalidad en células renales. Bax es una proteína similar a Bcl-2 que se une y antagoniza el efecto protector de Bcl-2 y Bcl-X L, haciendo que las células sean más sensibles a la muerte. En este sentido, la relación de expresión de Bcl-2 o Bcl-X L a Bax aparece para determinar el destino de la célula en un ambiente adverso (Ortiz et al., 2000). En el modelo de cisplatino, el ozono confirió una protección celular (Borrego et al., 2004; González et al., 2004). Nefroprotección y efectos beneficiosos conferidos

por ozono en el cisplatino inducen daño renal agudo están asociadas no solo a la posibilidad de aumentar el antioxidante sistema de defensa, logrando una homeostasis redox, pero también debe considerarse cambios en la función renal expresión de Bax.

De hecho, fue demostrado (Borrego et al., 2006) en este modelo de cisplatino que modula la expresión de ozono de la proteína Bax. Estudios recientes revelaron que grandes cantidades de ROS suprimió la expresión de Bcl-2 aumentando la expresión de Bax y la heterodimerización entre proteínas pro y antiapoptóticas, disminuyendo la ubiquitinación y la degradación de las proteínas proapoptóticas (Dechao et al., 2004). La aplicación de ozono bajo condiciones controladas pueden generar una cantidad apropiada de ROS capaz de generar una respuesta citoprotectora que podría incluir un aumento en la ubiquitinación y degradación de Bax, de manera similar a lo que se informó para N-acetilcisteína y ditiocarbamato de pirrolidina (Wu et al., 2005). Además, se ha observado un aumento en

la expresión de Bcl-X L en tejido renal tratado con ozono, que se correlaciona con una disminución en la expresión de Bax en el mismo tejido (datos no publicados), favoreciendo una relación celular Bax / Bcl-X L promueve una ruta citoprotectora en células renales.

### CONCLUSIONES

A pesar de los efectos biológicos positivos del ozono, su utilidad potencial como adyuvante en quimioradioterapia y su efecto antimetastásico, nuevas investigaciones son necesarios para ser realizado, para ser considerado la ozonoterapia como terapia complementaria para el cáncer.

