

Revisión Bibliográfica

Racional científico para las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización.

Gregorio Martínez Sánchez

Asesor científico, Freelance, Italia.

Palabras clave

ozono,
compuestos
ozonizados,
aceites vegetales,
aceites ozonizados

Resumen

El uso de aceites ozonizados en medicina ha ganado importancia recientemente, debido a su reconocido potencial antimicrobiano y la diseminación más frecuente de microorganismos resistentes a los agentes antimicrobianos convencionales. Este artículo revisa las aplicaciones clínicas generales de los aceites ozonizados que han aparecido en la literatura científica entre 1859-2020. Los compuestos derivados de la reacción del ozono con ácidos grasos y otros sustratos puede actuar como germicida, estimulante inmunológico y agente restaurador de tejidos. Las actividades biológicas y la estabilidad de los aceites ozonizados permiten el desarrollo de formulaciones que brindan los beneficios del ozono, respaldadas por estudios preclínicos y clínicos. La calidad del aceite ozonizado debe ser de suma importancia para su uso en clínica, con el fin de garantizar su eficacia y evitar la toxicidad. La caracterización química y física y los valores precisos de peróxidos (como índice de dosificación) se considerarán como criterio de calidad de una preparación de aceite ozonizado medicinal. Hoy en día las principales aplicaciones del aceite ozonizado son para uso externo fundamentalmente en dermatología, odontología, oftalmología y ginecología, sin embargo, existen evidencias de efectos inmunoestimulantes, germicidas y reparadores cuando se usa por vía oral. Se necesitan ensayos clínicos adicionales para respaldar el uso de los aceites ozonizados, pero basados en formulaciones estandarizadas y estables.

.
.
...

Sugerencia sobre cómo citar este artículo:

Martínez Sánchez, Gregorio, (2021). Racional científico para las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Ozone Therapy Global Journal* Vol. 11, nº 1, pp 201-237

Introducción

Las primeras pruebas sobre el uso clínico de los aceites ozonizados aparecieron en la literatura científica en 1859. Este artículo revisa las aplicaciones clínicas generales y principales de los aceites ozonizados que han aparecido en la literatura científica entre 1859 y 2020. Los productos de oxidación generados después de la reacción del ozono con los ácidos grasos y otros sustratos pueden actuar como germicida, estimulante inmunológico y agente de restauración de tejidos. Las actividades biológicas y la estabilidad de los aceites ozonizados permiten el desarrollo de formulaciones estandarizadas que brindan los beneficios del ozono, respaldadas por estudios preclínicos y clínicos. Los principales estudios clínicos que avalan el uso de aceites ozonizados utilizan el aceite de girasol ozonizado o aceite de oliva ozonizado. Las aplicaciones son esencialmente para uso externo.¹

En el mundo, hay millones de personas afectadas por lesiones traumáticas, heridas infectadas, úlceras crónicas, úlceras de decúbito, infecciones bucales, vaginitis, quemaduras, lesiones herpéticas, infecciones por hongos y picaduras de insectos, que sufren durante mucho tiempo debido a que los tratamientos tópicos basados en antibióticos y antiinflamatorios no son suficientemente eficaces. Las cepas de bacterias patógenas resistentes a los antibióticos son cada vez más frecuentes en los hospitales y la comunidad.² Se necesitan nuevos antibióticos para combatir estos patógenos bacterianos, pero el progreso en su desarrollo es lento. Históricamente, la mayoría de los antibióticos provienen de un pequeño conjunto de estructuras moleculares cuya vida útil se ha extendido por generaciones. La aparición de resistencia a los antibióticos sugiere que el descubrimiento de nuevas estrategias debería ser una prioridad.³ Desafortunadamente, la mayor parte del sector médico desconocen la potencia y eficacia del aceite ozonizado.⁴

El Dr. Velio Bocci dijo: “Me gustaría predecir que la aplicación de aceite ozonizado, un remedio simple y económico, será mucho más útil que las costosas cremas farmacéuticas y presagiará una evolución médica para el tratamiento tópico de úlceras y heridas tópicas. Bajo estos términos, no es exagerado proclamar al ozono como el fármaco maravilloso del siglo XXI.”⁴

A pesar de su inestabilidad, la molécula de O_3 se puede estabilizar como un ozonido entre los dobles enlaces de un ácido graso monoinsaturado como el ácido oleico.⁵ La ozonización del aceite comestible se realiza burbujeando la mezcla de gases (O_2/O_3) durante algunas horas. Un gramo de aceite puede unirse hasta con 160 mg de ozono. Como consecuencia, el aceite ozonizado permanece estable durante 2-3 años a 4°C dependiendo del método de estabilización. Este tipo de preparados han demostrado ser ideales para el uso tópico de O_3 en el tratamiento de áreas cutáneas y mucosas del cuerpo con infección crónica.⁶ El O_3 es ampliamente reconocido como uno de los mejores agentes bactericidas, antivirales y antifúngicos y, por lo tanto, se utiliza de manera rentable y práctica como aceite ozonizado con un contenidos de peróxido bien definidos.

El aceite ozonizado se usa tópicamente para el tratamiento de heridas de guerra, infecciones anaeróbicas, infecciones herpéticas (HHV I y II), úlceras tróficas y quemaduras, celulitis, abscesos, fisuras anales, úlceras por decúbito (úlceras de decúbito), fístulas, enfermedades fúngicas, furunculosis, gingivitis y vulvovaginitis.⁴ Se ha descubierto que incluso las lesiones por radiodermatitis en pacientes con cáncer se benefician tras su exposición a una simple aplicación de aceite ozonizado.⁷

La eficacia y seguridad del aceite ozonizado está estrechamente relacionada con su control de calidad. Uno de los parámetros básicos para definir la dosis y su aplicación clínica es el índice de peróxido.⁸ Este indicador es fundamental para definir la indicación adecuada. Se estima que los valores bajos de IP (80 mEq O_2/kg a 120 mEq O_2/kg) se utilizan principalmente en cosmética. Los valores más altos de índice de peróxido entre 200 mEq O_2/kg a 400 mEq O_2/kg , tienen un efecto más importante en los procesos de curación. Por otro lado, los efectos germicidas de los aceites son más marcados a valores de IP superiores a 400 mEq O_2/kg . Es importante que la medición de IP se lleve a cabo mediante un método adecuado.⁸ En cuanto a la seguridad, es importante descartar la no presencia de formaldehído y mantener el índice de acidez y los valores de malondialdehído dentro de un intervalo controlado. De esta forma se evitarán reacciones de hipersensibilidad e irritación.

Química de los aceites vegetales ozonizados

Para obtener aceite ozonizado, el aceite comestible se burbujea con la mezcla de gases (O_2/O_3). Durante la reacción del O_3 con el ácido graso presente en los aceites vegetales, se forman lipoperóxidos, ozónidos aldehídos, cetonas y peróxidos. En química, especialmente bioquímica, un ácido graso es un ácido carboxílico a menudo con una cola (cadena) alifática no ramificada larga, que está saturada o insaturada. Por ejemplo, el ácido oleico es un ácido graso omega-9 monoinsaturado que se encuentra en diversas fuentes animales y vegetales. Tiene la fórmula $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$. El término oleico significa “relacionado con”, o “derivado del”, aceite de oliva (Fig. 1).

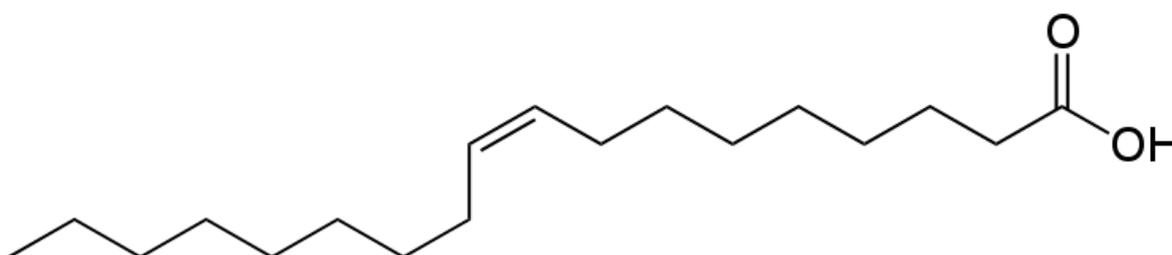


Figura 1. Representación de la estructura química del ácido oleico.

La reacción de O_3 esencialmente con el doble enlace insaturado del ácido graso forma diferentes derivados, como ozónidos orgánicos y lipoperóxidos.

Ozónidos orgánicos: se forman por reacciones de adición de ozono y compuestos insaturados. Son intermedios en la ozonólisis y tienen una estructura de anillo de trioxolano con un anillo $COOCO$ de cinco miembros. (Figura 2).^{9,10} Suelen aparecer en forma de líquidos aceitosos con un olor característico y se descomponen rápidamente en presencia de agua en compuestos carbonílicos: aldehídos, cetonas, peróxidos.



Figura 2. Representación del mecanismo de reacción de Criegee.

En el mecanismo generalmente aceptado propuesto por Rudolf Criegee en 1953, el alqueno y el ozono forman un molozonido intermedia en una cicloadición 1,3-dipolar. A continuación, el molozonido vuelve a su correspondiente óxido de carbonilo (también llamado intermedio de Criegee) y aldehído o cetona en una cicloadición retro-1,3-dipolar. El óxido y el aldehído o la cetona reaccionan nuevamente en una cicloadición 1,3-dipolar o producen un intermedio de ozonido estable (un trioxolano) (Fig. 3).

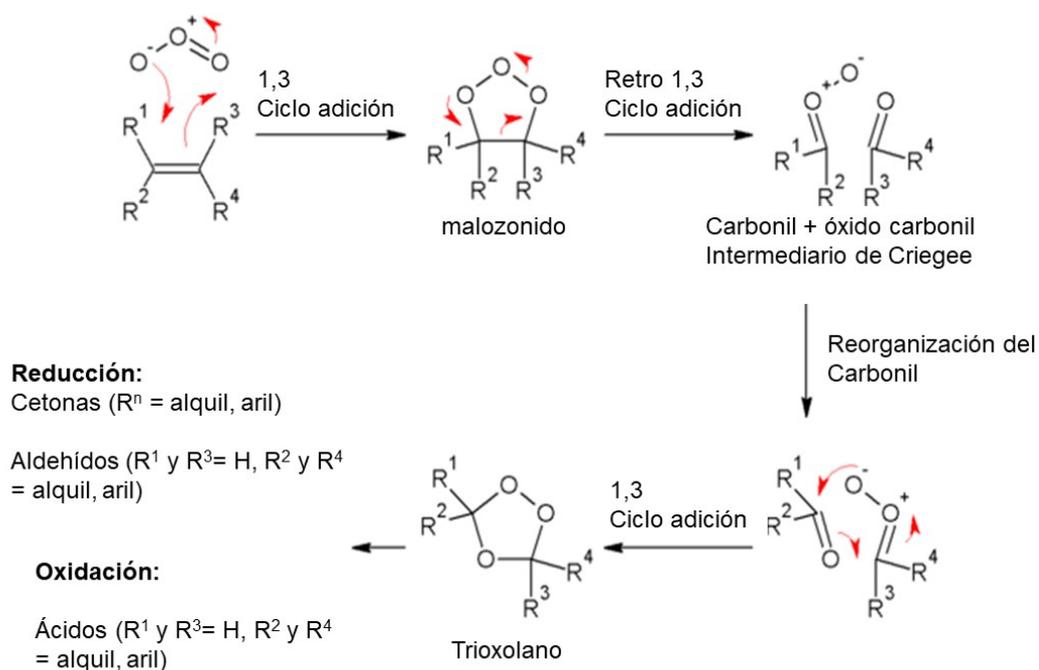


Figura 3. Representación de los pasos de la reacción de Criegee para formar trioxolano.

La evidencia de este mecanismo se ha determinado mediante el marcaje isotópico. Cuando el benzaldehído marcado con O^{17} reacciona con óxidos de carbonilo, se marca exclusivamente el enlace éter del ozonido. Todavía hay controversia sobre si el molozonido se degrada a través de un proceso concertado o radical; esto también puede depender del sustrato.

Peroxidación lipídica: se refiere a la degradación oxidativa de lípidos. Este proceso afecta con mayor frecuencia a los ácidos grasos poliinsaturados, porque contienen múltiples dobles enlaces entre los cuales se encuentran grupos metileno -CH₂- que poseen un hidrógeno especialmente reactivo (Fig. 4).

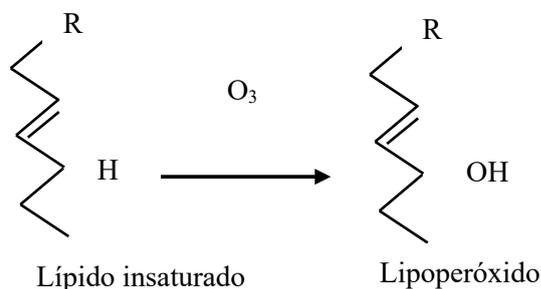


Figura 4. Formación de lipoperóxido durante la reacción de lípidos insaturados con ozono.

La reacción del ozono con los aceites vegetales se produce casi exclusivamente con los dobles enlaces carbono-carbono presentes en los ácidos grasos insaturados produciendo, además de los peróxidos lipídicos y ozónidos, varios compuestos oxigenados: aldehídos, diperóxidos y poliperóxidos; y estos compuestos también podrían ser responsables de la amplia actividad antimicrobiana de los aceites ozonizados.¹¹ Los sustratos de lípidos insaturados reaccionan con la mezcla de O₂/O₃ dando lugar a derivados ozonizados terapéuticamente activos (Fig. 5).

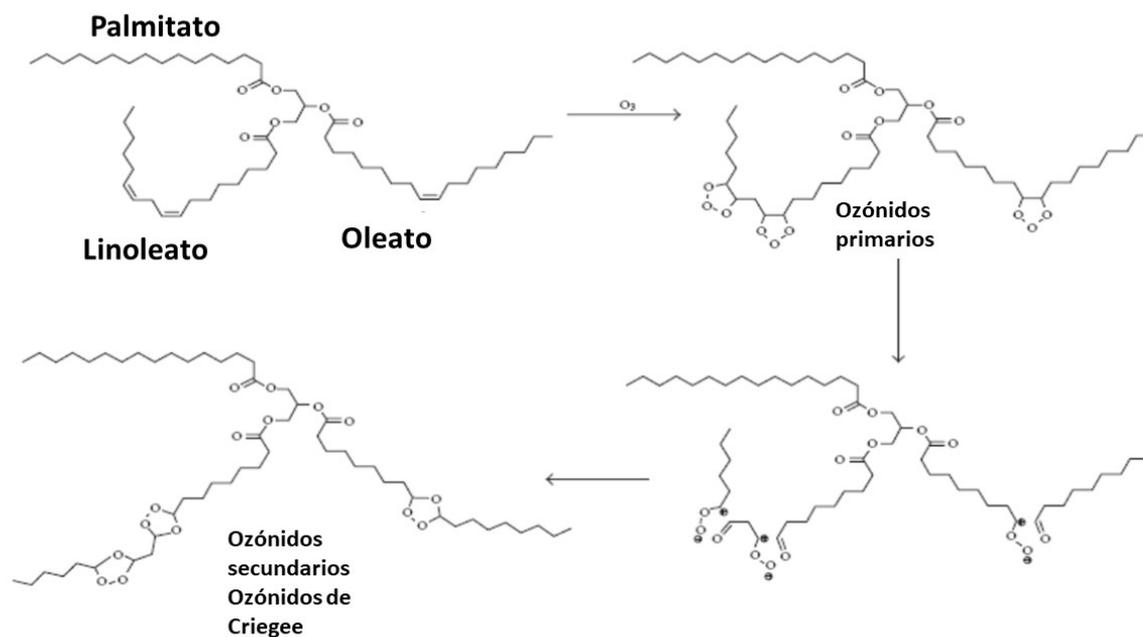


Figura 5. Estructuras químicas representativas de derivados ozonizados que se forman por reacción química del ozono con triglicéridos insaturados. Los ozonidos primarios son especies transitorias e inestables que se reorganizan en los ozonidos secundarios normales también conocidos como ozonidos de Criegee.¹²

En resumen, los principales compuestos oxigenados que posiblemente podrían obtenerse en la reacción de un ácido graso con ozono son: peróxidos y aldehídos (Figura 6).¹³ Los peróxidos son los productos más importantes formados. Este grupo incluye ozonidos, hidroperóxidos, peróxidos poliméricos y otros peróxidos orgánicos y, probablemente, es responsable de la amplia actividad biológica de los aceites vegetales ozonizados descritos.¹⁴

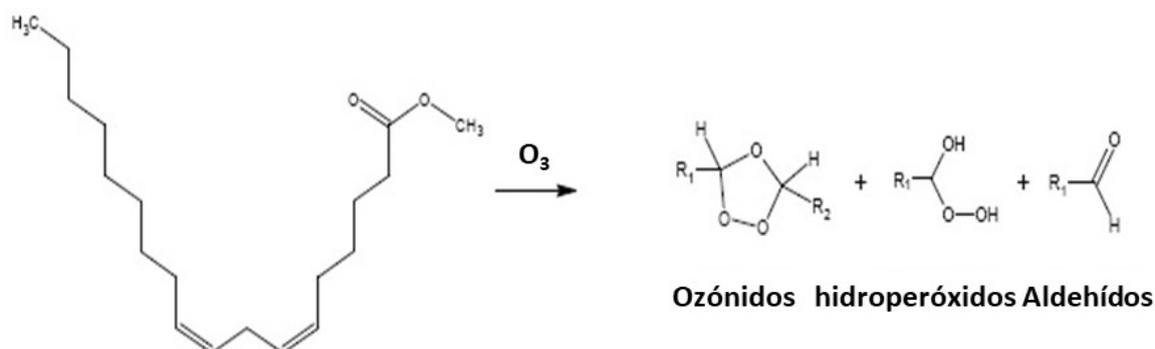


Figura 6. Compuestos oxigenados obtenidos durante la reacción del ozono con linoleato de metilo.^{15,16}

Calidad de los aceites vegetales ozonizados

Desde un punto de vista industrial, la calidad general de los derivados ozonizados depende de varios parámetros, tales como: 1) el tipo y la calidad de los generadores de ozono; 2) las condiciones de ozonización, en términos de reactores y tiempo, tipo y cantidad de material, presencia de agua y / o catalizadores; 3) la eficacia del ozonizador, en términos de salida de concentración de O_3 , flujo de gas, gas portador. En cuanto a este último, el uso de O_2 de alta calidad como precursor, en lugar de aire, es un punto importante a considerar; de hecho, la materia prima aire (contiene aproximadamente un 78% de nitrógeno) utilizada para la ozonización de sustratos insaturados podría conducir a la producción de subproductos nitrados potencialmente tóxicos y a una disminución significativa de la eficiencia de la ozonización. Otro aspecto importante es que el aceite ozonizado debe caracterizarse inequívocamente en términos del contenido de los diferentes compuestos terminales, así como de la cinética de la reacción. Para estos fines, el conocimiento de las propiedades fisicoquímicas de los aceites vegetales ozonizados durante la producción tiene una gran importancia para su caracterización e identificación.¹²

Para determinar la calidad de los derivados de la ozonización, generalmente se llevan a cabo métodos analíticos como los valores de peróxido, ácido y yodo, densidad relativa, viscosidad. El índice de peróxido (PV) representa la cantidad de peróxido en la muestra; el índice de acidez (IA) representa los ácidos grasos libres; y el índice de yodo (IY) es una medida del número total de dobles enlaces en la muestra. Todos los métodos para su determinación están bien descritos en la farmacopea europea¹⁷ y métodos oficiales de análisis de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, 2019 y OACS, 1995).¹⁸

El PV representa la cantidad de peróxido expresada en miliequivalentes de oxígeno activo contenida en una muestra de 1000 g (mEq O₂/kg). En el caso de materiales caracterizados por un alto contenido de peróxidos, algunos autores determinan el PV introduciendo cambios en el método descrito en la monografía oficial debido a la lenta reactividad del yoduro con los peróxidos de dialquilo.^{19,20} De acuerdo con los métodos oficiales de análisis, después de la adición de yoduro de potasio, la muestra se deja reposar durante 1 min para que el peróxido se oxide y se convierta en yodo. Durante la ozonólisis del aceite, se forman peróxidos poliméricos y otros peróxidos orgánicos, y debido a la alta concentración de peróxidos se requiere un tiempo de reacción prolongado para que estos compuestos oxiden el yoduro en yodo.^{21,22} Algunos métodos incluyen aumento del tiempo de reacción y reflujo hasta de 30 °C a 60 °C. El contenido de peróxido del aceite ozonizado mediante un ensayo volumétrico alcanza los valores máximos a las 24 h de tiempo de reacción. Otras dificultades encontradas en el ensayo son la susceptibilidad a la interferencia del oxígeno molecular, así como la reacción del yodo liberado con otros componentes del sistema.²³

El ensayo de PV es fundamental para establecer la dosis terapéutica de aceite ozonizado. La falta de un método estandarizado adaptado a altos niveles de peróxido altos es uno de los desafíos en el control de calidad del aceite ozonizado. La Tabla 1 muestra un ejemplo de un informe de control de calidad del aceite ozonizado de girasol Ozonia 3000® de Innovares (Italia). Para evitar variabilidades se recomienda utilizar métodos estandarizados para ensayar el PV, como el método recomendado por el ISCO3.⁸

El análisis de los indicadores físico químicos debería incluirse para cada lote. Mientras que la presencia de metales pesados, formaldehído, malonildialdehído o pesticidas y la caracterización estructural del aceite utilizando métodos como la espectroscopía U.V., infrarroja y de masa; podrían realizarse cuando se modifiquen los parámetros de producción o la proveniencia de la materia prima.

Tabla 1. Ejemplo de informe de calidad de características químicas y físicas de un aceite ozonizado: Ozonia 3000® (Innovares, Italia).

Análisis	Método / Normativa	Limites
Densidad	Farmacopea europea	0,98 ± 0,02 g / mL
Índice de acides	Farmacopea europea	26,50 ± 5,50 mg de KOH / 1 g
Índice de peróxidos	Farmacopea europea Modificado	3300 ± 300 mEq O ₂ /kg
Índice de yodo	Farmacopea europea	13- 53 g / 100 g
Viscosidad	Farmacopea europea	625,00 ± 40,00 mPa · s
Formaldehido	EPA 8315 A :1996	< 0,0005
Arsénico		<100 µg/kg
Cadmio	C.E. 629/2008	<1000 µg/kg
Cromo		<50 µg/kg
Mercurio	U.E.420/2011	<1000 µg/kg
Níquel		<200 µg/kg
Plomo	C.E. 1881/06	<100 µg/kg
Benzopirenos	C.E. 1881/06	<2 µg/kg
Benzopirenos + benzo antracenos + benzo fluoranteno + criseno		<10 µg/kg*
Dioxina total	OMSPCDD/ F-TEQ C.E. 1881/06	<0,75 pg/g

Leyenda: Para el aceite de coco el límite es de 20 µg/kg.

¿Cómo actúa el aceite ozonizado?

El aceite ozonizado actúa por diferentes mecanismos, dependiendo de la dosis en términos de PV. Probablemente, cuando el triozonido estable entra en contacto con los exudados calientes de la herida, se descompone lentamente en ozono reactivo, que se disuelve rápidamente en agua, generando peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos que pueden explicar la actividad desinfectante y estimulante prolongada. Si es correcto este razonamiento, implica que deberíamos haber titulado preparaciones con concentraciones de triozonido alta, media o baja para ser utilizadas durante la fase séptica inflamatoria I, fase de regeneración II o fase de remodelación III, respectivamente. Estas fases se han relacionado con los tipos de células implicadas y con la liberación de citocinas y factores de crecimiento que modulan el complejo proceso de curación.⁴

Por otro lado, recientemente se ha observado que el aceite de oliva, que durante la ozonización “atrapa” O₃ en forma de ozonido estable, cuando se aplica a todo tipo de infecciones cutáneas agudas y crónicas, libera lentamente O₃ que, en comparación con las cremas convencionales, muestra actividades desinfectantes y estimulantes eficaces que conducen a una curación rápida.⁶ Además, se ha demostrado que el efecto antimicrobiano no solo es atribuible a los ozonidos presentes en el aceite ozonizado, sino a toda la compleja mezcla de compuestos derivados del proceso de ozonización,²⁴ como el formaldehído.²⁵ Sin embargo, por razones toxicológicas es preferible evitar la formación de formaldehído durante la producción de un aceite médico ozonizado. Tras el contacto aceite ozonizado - microorganismo se ha observado una severa alteración del citoplasma del microorganismo.²⁶ Además, la aplicación de aceite ozonizado conduce a una reducción significativa de las actividades de las enzimas amilasa, lipasa, queratinasa y ureasa en el microorganismo en consonancia con una reducción del contenido de ácido nucleico.²⁷

Se realizó un estudio reciente para evaluar los efectos terapéuticos del aceite de oliva ozonizado tópico sobre la cicatrización de heridas cutáneas agudas en un modelo de cobaya y también para dilucidar su mecanismo terapéutico.²⁸ Después de crear heridas cutáneas en la espalda de cobayas mediante el uso de una biopsia con punch de 6 mm, los autores examinaron el efecto de curación de las heridas tratadas con aceite de oliva ozonizado aplicado tópicamente (grupo de ozono), en comparación con el aceite de oliva puro (grupo de aceite) y sin tratamiento (grupo de control). El grupo de ozono tuvo un tamaño de herida significativamente menor y un área de herida residual menor comparado con el grupo de aceite, en los días 5 (p <0,05) y 7 (p <0,01) después de practicada la herida, respectivamente. Tanto la tinción con hematoxilina-eosina como la tinción con tricómico de Masson revelaron una mayor intensidad de las fibras de colágeno y un mayor número de fibroblastos en el grupo de ozono que en el grupo de aceite el día 7. La tinción inmunohistoquímica demostró una regulación positiva del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformador beta (TGF-β) y expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), pero no la expresión del factor de crecimiento de fibroblastos en el grupo de ozono el día 7, en comparación con el grupo de aceite. En conclusión, estos resultados demostraron que la aplicación tópica de aceite de oliva ozonizado puede acelerar la reparación de heridas cutáneas agudas en cobayas en asociación con el aumento de expresión de PDGF, TGF-β y VEGF.

Incluso cuando no se describe el mecanismo de acción exacto del aceite ozonizado, hay mucha evidencia preclínica y clínica de su efecto antimicrobiano y eficacia para la cicatrización de heridas. Como antimicrobiano, la bacteria más sensible es *Staphylococcus aureus* y la más resistente es *Pseudomonas aeruginosa*.²⁴ Un estudio *in vitro* confirmó la sensibilidad de los microorganismos al aceite ozonizado de esa manera (de más a menos sensibilidad): *Staphylococcus aureus* > *Candida albicans* > *Escherichia coli* > *Pseudomonas aeruginosa* > *Enterococcus faecalis*.²⁹ En general, el efecto letal del aceite ozonizado es evidente cuando se aplica a cepas multirresistentes de *Staphylococcus epidermis*, *Stafilococcus aureus*, también cuando se aplica a hongos del género *Trichophyton*, *Epidermophyton* y *Microsporum*, levaduras como *Candida albicans* y protozoos como *Giardia lamblia*.^{27,30,31}

Recientemente se realizó una comparación de la eficacia antimicrobiana del aceite de oliva extra virgen ozonizado (índice de peróxido de 560/590 mEq/kg) con digluconato de clorhexidina al 0,2% y povidona yodada al 10 % mediante una prueba de difusión en disco.³² El aceite ozonizado mostró un comportamiento significativamente mejor que las referencias. Este efecto sobre uno de los principales patógenos periodontales, sugiere su potencial aplicabilidad para el tratamiento periodontal.³² El mecanismo de acción de curación de heridas del aceite ozonizado puede estar relacionado en parte con su efecto antimicrobiano, pero también con su capacidad para promover la liberación de factores de crecimiento,³³ activar el mecanismo antioxidante local^{34,35} y promover la reparación de tejidos.³⁶

Esquemáticamente la secuencia teórica de la curación de heridas ocurre en tres etapas sucesivas (Fig. 7), se distinguen tres fases: La fase I indica la etapa de inflamación, que normalmente dura 2-3 días. La infección bacteriana sucesiva a un traumatismo, la presencia de diabetes, isquemia local y posiblemente resistencia a antibióticos, puede incidir en la cronicidad, a menos que sea posible intervenir este proceso con el uso de aceites ozonizados. La fase II corresponde a la etapa intermedia y normalmente dura dos semanas. La síntesis de matriz extracelular (fibronectina, colágeno III / I, ácido hialurónico y condroitina sulfato) se acompaña de una activa proliferación de fibroblastos y queratinocitos. El uso de aceite ozonizado no solo previene una sobreinfección, sino que estimula la reconstrucción inicial del tejido. Fase III, incluye la cicatrización final y la remodelación del tejido cicatricial y puede llevar mucho tiempo en pacientes ancianos y / o diabéticos. En algunos casos, la liberación excesiva de factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-β 1) puede estimular una fibrogénesis excesiva con formación de queloides.⁴

El efecto del aceite ozonizado de girasol (índice de peróxido 75 mEq/kg - 100 mEq/kg³⁷) se estudió, tras su aplicación tópica durante 12 semanas en un total de 30 pacientes que padecían quemaduras cutáneas de segundo grado en la fase de reepitelización. La quemadura cutánea se subdividió en dos partes simétricas. Una parte fue tratada con aplicación oclusiva de aceite ozonizado; la parte contralateral de la lesión se trató con la aplicación tópica de gel de ácido hialurónico, una vez al día durante 12 semanas. El aceite ozonizado fue más eficaz que el ácido hialurónico para reducir los síntomas relacionados con las quemaduras de la piel, pero podría ser más eficaz para prevenir la hiperpigmentación poslesional.³⁷

Sin embargo, la palabra “ozonizado” carece de significado científico si no se asocia con la cantidad de peróxidos presentes en el aceite. De hecho, desde el punto de vista terapéutico, las composiciones de ozonido tienen la capacidad de suministrar O₂ activo y / u otras especies útiles en la profundidad de la lesión sin causar irritación primaria de la piel. Los pocos estudios relacionados con los efectos terapéuticos de los aceites ozonizados sobre la cicatrización de heridas cutáneas agudas en modelos animales no investigaron la respuesta dosis / efecto, expresada como la cantidad de peróxidos existentes en el derivado ozonizado utilizado.²⁸ Recientemente, se ha desarrollado una evaluación cuantitativa del efecto terapéutico del aceite de sésamo ozonizado aplicado tópicamente sobre la cicatrización de heridas cutáneas agudas utilizando ratones como modelo animal.³⁸ Los resultados indicaron que tanto las dosis bajas (<1000) como las altas (> 3000), expresadas en términos de índice de peróxido, retrasan la cicatrización de las heridas cutáneas.

Esta evidencia se ve reforzada por una serie de resultados entre los grupos en los que la concentración «media» (alrededor de 1500) tiene el efecto más beneficioso para acelerar la tasa de cierre de la herida. Aun así, debemos considerar que los métodos usados por los autores para medir el PV no fueron homogéneos, por tanto, los valores referidos son orientativos e indican solo que existe un valor de PV óptimo para la cicatrización.

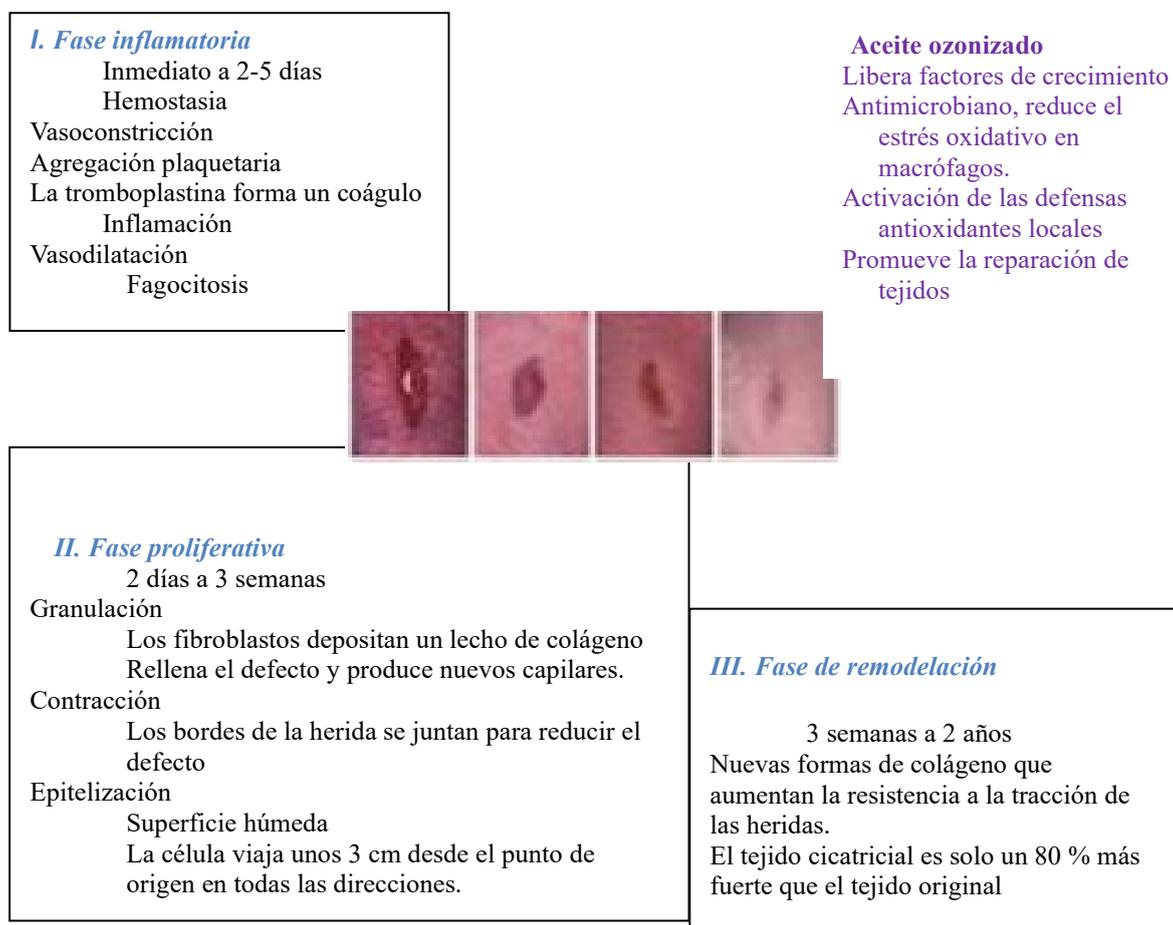


Figura 7. Posible mecanismo de acción del aceite ozonizado durante la cicatrización de heridas. Todo el proceso de cicatrización de heridas, transita por una serie compleja de eventos que comienza en el momento de la lesión y puede continuar durante meses o años. Los componentes del aceite ozonizado pueden actuar en diferentes pasos del proceso de curación de heridas mediante diferentes mecanismos de acción.¹

En resumen, el posible mecanismo de acción del aceite ozonizado se basa en: 1) Oxidación directa (germicida): liberación lenta de O₃, trioxolano y lipoperóxidos que pueden destruir por oxidación los gérmenes infecciosos.^{6,25,39} Se ha planteado la hipótesis de que el mecanismo antimicrobiano del aceite ozonizado implica el 1,2,4-trioxolano presente en el aceite ozonizado.

Esta hipótesis plantea que al ponerse en contacto con los exudados calientes de la úlcera, se descompone lentamente generando oxígeno local, H₂O₂ como especie reactiva de oxígeno (ERO) y trazas de productos de oxidación de lípidos (4-HNE).²⁹ Tal cascada puede explicar la acción desinfectante prolongada y la estimulación de la actividad proliferativa de fibroblastos y queratinoblastos.³⁹ 2) Citotoxicidad: el trioxolano, los lipoperóxidos y los aldehídos son citotóxicos para los microorganismos; pueden inactivar las vías enzimáticas mediante mecanismos que implican la interrupción de mediadores nucleares.²⁷ 3) Liberación de factores de crecimiento: El O₃ y otros componentes del aceite oxidado pueden liberar factor de crecimiento de las plaquetas⁴ o de los tejidos locales (aumento de la expresión de PDGF, TGF-β y VEGF) que actúan como factores de remodelación tisular.²⁸ Además, se ha observado que el aceite ozonizado facilita la cicatrización de heridas mediante el aumento de la migración de fibroblastos y el proceso de transición epitelio-mesenquimatoso (EMT) a través de la vía de señalización PI3K / Akt / mTOR *in vivo* e *in vitro*.⁴⁰ 4) Pre-condicionamiento oxidativo, la oxidación local del tejido por los componentes del aceite oxidado puede estimular la expresión del mecanismo antioxidante endógeno^{34,35} y promover la reparación de tejidos.³⁶

Es muy probable que no todos los mecanismos se produzcan simultáneamente. Por ejemplo, el efecto antioxidante (pre-condicionamiento oxidativo) se produce a valores bajos de peróxido y se explota más en cosméticos con aceites ozonizados. Por otro lado, el efecto germicida tiene lugar a valores de peróxido más altos. Por eso es fundamental conocer el índice de peróxido de la formulación.

Uso actual de aceites ozonizados en dermatología

Velio Bocci: “*Tan pronto como la comunidad médica aprecie su eficacia, el aceite ozonizado se convertirá en herramientas indispensables en las unidades de cicatrización de heridas crónicas*”.⁴

Ya se han establecido las propiedades germicidas del aceite vegetal ozonizado. Los aceites vegetales ozonizados se han utilizado en el tratamiento de infecciones microbianas de la piel (dermatitis, llagas, heridas infectadas, fístulas, acné, quemaduras infectadas y úlceras), en el tratamiento de infecciones nasales, de oído y vaginales (patente de EE.UU. 984,722,⁴¹ Patente de EE.UU. 5.270.344,⁴² Patente de EE.UU. 5.364.879,⁴³ Patente de EE.UU. 2.356.062;⁴⁴ Patente de EE.UU. 3.504.038)⁴⁵ y en trastornos postoperatorios. También se han utilizado en el tratamiento de úlceras gastroduodenales (Patente WO 01/37829 A1),⁴⁶ contra infecciones intestinales (Patente de EE.UU. 5.364.879)⁴³ o erisipela (Pat RU 2040235 A)⁴⁷ se han utilizado recientemente en el tratamiento de *Giardia lamblia* (Patente WO 01/37829 A1)⁴⁶ *Tynea Pedis*, Herpes simple recidivante genital, infección por *Helicobacter pylori* y en hemorroides externas y escaras.²⁴ Tratamiento del asma, úlceras gastroduodenales (US 925590 A),⁴⁸ tratamiento de infecciones causadas por oxiuros, virus del papiloma humano (VPH) y hongos, tales como microorganismos del género *Candida* (WO 03/085072 A1).⁴⁹

Los aceites y grasas vegetales ozonizados también se han utilizado en cosmética. Desde la década de 1950, en Francia, las soluciones ozonizadas se han utilizado en cosmética, directamente sobre la piel o en baños, como estimulantes, depurativos, descongestionantes, tranquilizantes y sustancias regeneradoras del tejido epidérmico. Las propiedades para estimular la regeneración tisular, la oxigenación de las células y tejidos y las propiedades blanqueadoras moderadas se suman a la reconocida actividad germicida de los productos de la ozonización de compuestos insaturados, como terpenos, ácidos grasos, triglicéridos y aceites vegetales en aplicaciones cosméticas. Los compuestos altamente oxigenados, como los aceites vegetales ozonizados, favorecen la flexibilidad y la hidratación de la piel y se utilizan también para preparar cremas para reparar el tejido epitelial (Patente WO 01/37829 A1).⁴⁶

¿Cómo y cuándo se utilizan los aceites ozonizados? Las heridas crónicas van desde el pie diabético hasta las úlceras infectadas y profundas debidas a la aterosclerosis de las extremidades o traumatismos y quemaduras. Además, tanto la quimioterapia inmunosupresora como la radioterapia provocan abscesos, fisuras anales y fístulas, úlceras de decúbito, forunculosis y osteomielitis que son difíciles de tratar y que a menudo fracasan después de tratamientos prolongados. El tratamiento de heridas de diferentes etiologías constituye una parte importante del presupuesto total de atención de salud. Se estima que entre 1,5 y 2 millones de personas en Europa sufren heridas agudas o crónicas.⁵⁰ Diversos tipos de desinfectantes, antibióticos, antifúngicos, anti protozoarios y factores de crecimiento son escasamente eficaces porque no modifican el metabolismo alterado ni la hipoxia local. Se han propuesto y utilizado de forma variable varios enfoques, como la terapia de vacío, la terapia de gusanos (para debridar) y dispositivos para proporcionar oxigenoterapia tópica en un entorno clínico. Este último enfoque tiene un fundamento en el sentido de que la oxigenación es útil para activar el metabolismo y la proliferación celular de los tejidos isquémicos. Sin embargo, también tiene limitaciones considerables por ser una terapia engorrosa, con mínima actividad desinfectante y modificaciones de los mecanismos patogénicos fundamentales.¹²

La aplicación de aceite ozonizado puede ser ideal para el uso tópico en el tratamiento de las áreas cutáneas y mucosas del cuerpo con infección crónica. Además, se ha empleado para reducir la fatiga muscular.⁵¹ El aceite ozonizado se ha aplicado en patologías humanas que involucran gérmenes. Las formulaciones de aceite ozonizadas regularmente son tópicas y se aplican en el área afectada dos veces al día o según lo prescrito por el médico. Antes de la aplicación, la superficie de la piel dañada debe limpiarse eliminando el tejido necrótico, el pus, la deposición de fibrina y el exceso de exudado líquido. El aceite ozonizado tiene una amplia gama de efectos antimicrobianos, son útiles para tratar infecciones tópicas originadas por hongos, bacterias y virus. Además, los aceites ozonizados se utilizan en el tratamiento de las úlceras por presión y en la profilaxis del pie del diabético. Las interacciones no están bien documentadas,

pero es preferible no mezclar aceite ozonizado con ningún otro medicamento o cosmético. Los efectos adversos en dermatología se producirán con baja frecuencia: erupciones cutáneas (raras veces), sensación de ardor en la piel, prurito y eritema (0,3%) y dermatitis por contacto.⁵²

5.1. Aceites ozonizados y medicina regenerativa en úlceras en heridas cutáneas

La justificación del uso de aceite ozonizado combinado con medicina regenerativa en el tratamiento de heridas y úlceras se basa básicamente en los siguientes criterios: 1) El pretratamiento de la herida / úlcera con aceites ozonizados permite la preparación de un microambiente adecuado para recibir un injerto de PRP (Plasma Rico en Plaquetas), y por tanto una mayor probabilidad de éxito terapéutico. 2) La frecuencia del tratamiento con PRP por razones fisiológicas se limita a una serie de intervenciones con una frecuencia de 14 a 21 días. Mientras tanto, el tratamiento continuo, incluso en casa, con aceite ozonizado podría contribuir como terapia adyuvante a: a) mantener la zona de la herida bajo control microbiológico. b) estimular la liberación de factores de crecimiento a través de la interacción de los componentes del aceite con las plaquetas presentes en la herida.

Existe mucha evidencia científica sobre el papel positivo del PRP y los aceites ozonizados en la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas. Además, una ventaja importante del PRP autólogo y los aceites ozonizados, en el entorno clínico, es que no tienen efectos negativos. Lo más probable es que, según el mecanismo de acción de ambos, exista una sinergia cuando se utilizan simultáneamente.

Uso de aceites ozonizados en ginecología

6.1. Introducción

Vaginitis es el término general para los trastornos de la vagina causados por infecciones, inflamación o cambios en el entorno microbiano vaginal normal. El microbiota, los signos y síntomas son similares, independientemente de la etiología subyacente. La vaginitis suele ser el resultado de la acción de agentes infecciosos. La candidiasis vulvovaginal puede transitar por múltiples episodios de candidiasis vulvovaginal dentro de un período de 12 meses, afecta negativamente la calidad de vida, la salud mental y la actividad sexual.⁵³ Las infecciones más comunes, la vaginosis bacteriana (VB), la vulvovaginitis por *Candida* y la tricomoniasis, representan más del 90% de las infecciones. La cervicitis, generalmente por infecciones de transmisión sexual, como gonorrea, clamidiosis y micoplasmosis, también puede presentarse como síntomas vaginales inespecíficos. Las mujeres con vaginitis suelen presentar uno o más de los siguientes síntomas: cambio en el flujo vaginal, prurito, ardor, irritación, eritema, dispareunia, manchado y disuria. Dada la naturaleza inespecífica de los síntomas de la vaginitis, la documentación de laboratorio de la etiología de la vaginitis es obligatoria antes de iniciar el tratamiento. Los pasos principales en la evaluación inicial de las mujeres con síntomas de vaginitis son obtener un historial y realizar un examen físico, medir el pH vaginal, realizar pruebas para detectar infecciones vaginales y cervicales, tratar según los resultados anormales.⁵⁴

6.2. Estudios preclínicos

Un estudio reciente investigó la eficacia antimicrobiana de un aceite ozonizado de oliva disponible comercialmente (O_3 -Oil, 560-590 mEq/kg), en comparación con el digluconato de clorhexidina al 0,2% (CHX) y de povidona yodada 10% (PVP-I) a través de una prueba de difusión en disco. Los antisépticos sin diluir y las siete diluciones se probaron frente a dos cepas bacterianas liofilizadas: *Staphylococcus aureus* (Sa) y *Porphyromonas gingivalis* (Pg). O_3 -Oil mostró diámetros de inhibición del crecimiento significativamente mayores ($p < 0,01$) que CHX y PVP-I en todas las diluciones para ambas cepas probadas. CHX perdió toda eficacia antibacteriana cuando se diluyó más de 1:32. A la dilución más alta, los diámetros de inhibición del crecimiento contra Sa fueron $20,67 \pm 0,58$ mm y $15,33 \pm 0,58$ mm, para O_3 -Oil y PVP-I, respectivamente. A la misma dilución, los diámetros de inhibición del crecimiento frente a Pg fueron: 19.³²

El aceite ozonizado es muy eficaz contra *Candida albicans*. Para el aceite de Theobroma ozonizado, los valores de concentración mínima inhibitoria y concentración mínima de fungicida están entre 5 y 3,75 mg / mL y 11,58 y 5,78 mg / mL para índices de peróxidos de 1002 y 1200 mEq O₂/kg de muestra, respectivamente. El aceite de oliva ozonizado se investigó por su capacidad para inhibir el crecimiento de 38 cepas de levadura de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* y *Saprochaete capitata*. El aceite de oliva ozonizado 1352 mEq O₂/kg fue el más eficaz. Se eligió fluconazol como agente antifúngico de control. Este estudio demostró que el aceite de oliva ozonizado puede ayudar a controlar algunas cepas fúngicas sensibles dependientes de la dosis y resistentes al fluconazol.⁵⁵ El aceite ozonizado de semilla de girasol con un índice de peróxido equivalente a 356 mEq O₂/kg fue eficaz contra varias cepas de hongos de relevancia clínica: *Candida parapsilosis*, *Candida albicans*, *Trichosporon asahii*, *Candida tropicalis* y *Candida guilliermondii*.⁵⁶ Los estudios *in vivo* también demostraron que el aceite ozonizado de semilla de girasol tiene una actividad antimicrobiana significativa, propiedades antiinflamatorias y de cicatrización de heridas, en comparación con otros agentes antimicrobianos disponibles comercialmente.⁵⁷

Los animales infectados por vía intravaginal con *Candida albicans* tratados con óvulos de aceite ozonizado de Theobroma al 20% 220 mEq O₂/kg dieron como resultado una disminución de 0,7 log del número de microorganismos después de 5 días de tratamiento; además, no se encontraron signos de infección en ratas después de 10 días. Este resultado fue muy similar al obtenido con ketoconazol.⁵⁸ Esto está en línea con el efecto antifúngico *in vitro* del aceite ozonizado contra *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*.⁵⁹

6.3. Estudios clínicos

Cien pacientes con candidiasis vulvovaginal confirmada se clasificaron aleatoriamente en dos grupos y se trataron con aceite de oliva ozonizado o clotrimazol durante 7 días. Los resultados del estudio fueron cambios en la aparición de prurito, ardor, leucorrea y cultivo celular antes y después del tratamiento, que se evaluaron mediante una entrevista y un examen paraclínico. El aceite ozonizado y el clotrimazol redujeron significativamente los síntomas y dieron lugar a cultivos de muestras negativos ($p < 0,05$). No hubo diferencias significativas entre los dos grupos en su efecto sobre el prurito, la leucorrea y el cultivo ($p > 0,05$). Sin embargo, el aceite ozonizado disminuyó la sensación de ardor significativamente mejor que el clotrimazol ($p < 0,05$).⁶⁰⁻⁶²

El aceite ozonizado se ha utilizado para curar heridas del cuello uterino después de tratamientos destructivos en 50 pacientes. Un grupo de control estuvo formado por 57 mujeres que no recibieron tratamiento tópico después de aplicar la técnica destructiva. En el grupo de estudio, se encontró que el uso de aceite de oliva ozonizado acortó significativamente las fases de alteración y epitelización y hubo una reducción significativa en el tiempo de epitelización completa de la herida después del LASER (a $14 \pm 0,4$ días en promedio) y tratamientos radioquirúrgico (a $16,1 \pm 0,6$ días) en comparación con el grupo control ($22,3 \pm 1,7$ días). El aceite de oliva ozonizado utilizado después de intervenciones destructivas para enfermedades cervicales reduce el tiempo de cicatrización de la herida en un promedio de $6,2 \pm 2,15$ días, lo que puede mejorar la eficacia clínica del tratamiento.⁶³

Se seleccionaron pacientes (150) con edades comprendidas entre 30 y 50 años, con vulvovaginitis de al menos 6 meses de evolución, refractarias al tratamiento farmacológico habitual y cultivos positivos para candidiasis. Se realizó una hidro colon terapia con agua ozonizada. Se administró: dieta baja en carbohidratos de alto índice glucémico, instilaciones intravaginales diarias con agua ozonizada (10 sesiones), insuflaciones diarias de ozono intravaginal a concentración de $20 \mu\text{g} / \text{mL}$ a un flujo de $0,2 \text{ L} / \text{min}$ durante 10 min (10 sesiones), aplicación de aceite ozonizado (aceite ozonizado de girasol) con PV de 600 y 400, durante 10 días, 4 autohemoterapia mayor a $20 \mu\text{g}$ una vez por semana. Al final del tratamiento se repobló el microbiota vaginal con comprimidos vaginales de *Lactobacillus* durante 7 días y se repobló el microbiota intestinal con *Lactobacillus* por vía oral, durante 1 mes. Resultados: el 85% de los pacientes respondió favorablemente al tratamiento, el 10% permaneció asintomático por un período de menos de un año y el 5% de los pacientes no respondió al tratamiento. La ozonoterapia intravaginal ofreció una alternativa eficaz al tratamiento convencional con fungicidas habituales, no solo logró una remisión de los síntomas y cultivos negativos de exudados vaginales en pacientes con vulvovaginitis, sino también un aumento de IgA y la población de *Lactobacillus* en el epitelio vaginal.⁶⁴

Aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de la infección causada por el virus del papiloma humano: Se estudiaron 16 mujeres con el virus del papiloma humano (VPH) en la vagina o en el cuello uterino y se trataron con aceite de girasol ozonizado en las zonas afectadas, utilizando el espéculo para la curación. El tratamiento se realizó diariamente durante 15 días. Los resultados, por colposcopia y citología, mostraron una efectividad del 94%.^{24,65} (Patente CU 22749)

6.4. Observaciones

La aplicación de aceite ozonizado con un PV entre (220-1200) mEq O₂/kg en caso de vaginitis reduce significativamente los síntomas y elimina patógenos lo cual se evidencia mediante cultivos negativos para estos gérmenes. Además, puede ayudar a controlar la resistencia a los antibióticos. También sirve para restaurar las capacidades de defensa del propio organismo al estimular la normalización de la inmunidad local de la mucosa vaginal sin producir un efecto perturbador sobre los saprófitos. Además, acorta las fases de alteración y epitelización y reduce significativamente el tiempo de epitelización completa de la lesión.

Aceite ozonizado y su aplicación en odontología

7.1. Periodontitis

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en periodontitis: se realizó un ensayo clínico, de fase III, aleatorizado, controlado y a simple ciego, utilizando solo aceite ozonizado y terapia combinada. La muestra era de 50 pacientes, divididos en 5 grupos de 10 cada uno: Grupo A, Tratados con gas ozono. Grupo B, aceite ozonizado de girasol (Oleozon®). Grupo C, agua ozonizada. Grupo D, tratamiento de ozono combinado con las tres modalidades (gas, agua ozonizada y Oleozon®). El Grupo Z (control) recibió el tratamiento convencional. Los grupos A, B, C y D fueron los grupos experimentales. Se realizó la evaluación clínica y microbiológica. Se evaluó la efectividad del tratamiento y los eventos adversos La evaluación clínica fue satisfactoria al mes del tratamiento en el 84,6% de las zonas estudiadas, con mejores resultados en el grupo D (96%), con diferencias significativas entre los grupos experimentales y el control. La evaluación microbiológica fue satisfactoria y aumentó al 85,4% a los seis meses del estudio. Predominó el grupo experimental D (96,6%). La efectividad fue buena en el 85,4% de la muestra, predominando en el grupo experimental D con 96,6%, seguido del grupo A. El porcentaje de eventos adversos fue bajo, 1,5%. Este estudio concluyó que: la evaluación clínica y microbiológica arrojó resultados satisfactorios, asociados a un bajo porcentaje de eventos adversos (solo con gas ozono). La ozonoterapia combinada fue el tratamiento más eficaz para este tipo de periodontitis.⁶⁶

Un estudio evaluó el efecto de la aplicación subgingival de gel de aceite de oliva ozonizado como complemento del raspado y alisado radicular (SRP) en la periodontitis agresiva. Treinta pacientes fueron seleccionados al azar y divididos en partes iguales: el grupo I recibió solo SRP, el grupo II recibió SRP y gel de aceite de oliva ozonizado. La aplicación subgingival de gel de ozono se realizó después del SRP al inicio y a los 7, 14 y 21 días. Las mediciones clínicas incluyeron profundidad de la bolsa (PD), índice de placa (IP), índice gingival (GI), sangrado al sondaje (BOP) y nivel de inserción clínica (CAL). Ensayo de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) para determinar el efecto del tratamiento tanto sobre *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) y *Porphyromonas gingivalis* (Pg). Las mediciones clínicas y de laboratorio registraron al inicio del estudio, uno, tres y seis meses después del tratamiento. Los resultados mostraron una mejoría en todos los parámetros clínicos en el grupo II, que se mantuvo hasta seis meses ($p < 0,05$). Sin embargo, esta mejora fue mejor después de un mes, pero disminuyó gradualmente a los 3 y 6 meses. Mientras que el SRP por sí solo resultó en una mejora significativa solo hasta un mes para los parámetros BOP, PPD y CAL y hasta tres meses para los puntajes PI y GI en comparación con los valores iniciales. El estudio reveló una reducción significativa de las copias medias de ADN de Pg y Aa al mes y a los 3 meses para el grupo II, mientras que el grupo I resultó en una ligera reducción de hasta 1 mes solo seguido de un aumento gradual hasta alcanzar los valores de referencia. No hubo diferencias significativas entre los grupos a los tres y seis meses con respecto a las copias de ADN de Pg. Hubo una diferencia significativa entre los grupos en los períodos de uno y tres meses en términos del número de copias Aa ($p < 0,001$, $p < 0,05$ respectivamente). El estudio concluyó que el gel de aceite ozonizado podría ser un complemento prometedor de SRP en el tratamiento de la periodontitis agresiva.⁶⁷

Se encontraron resultados similares cuando se evaluó la eficacia del aceite de oliva ozonizado como monoterapia y como complemento del raspado y alisado radicular en el tratamiento de la periodontitis crónica. Se llevó a cabo un ensayo clínico controlado aleatorio, doble ciego, de boca dividida en 20 sujetos diagnosticados con periodontitis crónica. Los cuadrantes de cada sujeto se asignaron aleatoriamente a cuatro grupos y se trataron en consecuencia: Grupo A, escala y SRP; Grupo B, aceite de oliva ozonizado tópico como complemento del raspado y alisado radicular; Grupo C, aceite de oliva ozonizado tópico como monoterapia y Grupo D, gel de clorhexidina tópico como monoterapia. Los cuadrantes se analizaron clínicamente por índice de placa, índice gingival, índice de sangrado del surco, profundidad de la bolsa de sondaje y nivel de inserción clínica al inicio, a intervalos de tiempo de 2, 4, 6 y 8 semanas. Los sujetos también fueron analizados para detectar dolor percibido, malestar o hipersensibilidad dental (en cada cuadrante) según la Escala Visual Analógica (EVA). Además, se recolectaron muestras de placa subgingival de los dos sitios predeterminados de cada cuadrante al inicio, 4 y 8 semanas para el análisis de los recuentos bacterianos totales (TBC) y la detección de la frecuencia de ocho

periodontopatógenos mediante el método de PCR. El uso del aceite ozonizado junto al SRP resultó en una mejora significativa ($p < 0,001$) de los parámetros clínicos, así como de los parámetros microbiológicos a lo largo del tiempo y en comparación con los grupos de control. El aceite ozonizado como monoterapia también mostró una mejora significativa ($p < 0,001$) en los parámetros clínicos, así como en los parámetros microbiológicos a lo largo del tiempo, sin efectos secundarios documentados. Sin embargo, hubo un aumento significativo ($p < 0,05$) en la hipersensibilidad de la dentina luego del aceite ozonizado como complemento de la terapia de raspado y alisado radicular. El aceite ozonizado, tanto como terapia adyuvante como en monoterapia, es eficaz para mejorar las condiciones periodontales.⁶⁸

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en periodontitis: En este estudio se utilizó aceite de girasol ozonizado para evaluar su efecto en el tratamiento de la periodontitis simple moderada y para prevenir su recidiva. Se realizó un ensayo clínico fase III aleatorizado, controlado y simple ciego en 84 pacientes, mayores de 35 años, de ambos sexos. Se aplicó tópicamente aceite de girasol ozonizado a 42 pacientes en el área operada y en los días 7, 14 y 21 después de la operación en los tejidos periodontales adyacentes. El grupo control estuvo formado por 42 pacientes que recibieron el tratamiento convencional con clorhexidina (solución acuosa al 0,2%). Se aplicó a los pacientes un índice analítico de higiene, pruebas clínicas y radiográficas y controles microbiológicos, al inicio, a los 21, 90 y 180 días y con intervalos de 1 mes hasta 9 meses después de la operación. La efectividad del tratamiento a los 180 d se consideró: buena (valoraciones clínicas y microbiológicas satisfactorias) en el 98% de los pacientes del grupo tratado con aceite de girasol ozonizado y en el 78% del grupo control; bastante bueno (algunas de las evaluaciones no fueron satisfactorias) para el 2 y el 17%, respectivamente, y en la categoría de malo (ambas evaluaciones no fueron satisfactorias) solo el 5% apareció en el grupo de control. La recidiva fue más frecuente en el grupo control (15%) que en el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado (5%). En general, los mejores resultados clínicos (mejor evolución y cicatrización durante el estudio) y microbiológicos se obtuvieron en el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado, y también se encontró un menor porcentaje de recidiva en ese grupo. No se observaron efectos secundarios.²⁴ (Patente CU 22749)

7.2. Alveolitis

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de la alveolitis: El aceite de girasol ozonizado se utilizó como único fármaco en el tratamiento de la alveolitis. Los resultados se compararon con los correspondientes a un grupo control, donde se utilizó Alvogil® (yodo) como tratamiento local, además de aplicar un antibiótico oral. La muestra estuvo formada por 100 pacientes adultos, distribuidos aleatoriamente en dos grupos, con 50 pacientes cada uno. Las curaciones se realizaron cada 72 h y las visitas al médico se realizaron según fue necesario. El criterio de curación considerado fue la formación de tejido cicatrizante y la disminución o eliminación del dolor. La curación se alcanzó en el 43% de los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado y en el 41% de los pacientes tratados con Alvogil®, sin diferencia significativa entre ambos grupos. Sin embargo, los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado curaron más rápidamente y solo requirieron dos o tres visitas del médico, con respecto a los pacientes curados con Alvogil® que requirieron de cuatro a seis visitas al médico.^{24,69} En la osteítis alveolar, y el tratamiento del dolor derivado de esta patología, se observó el efecto más potente para el gas ozono, luego el agua ozonizada y finalmente los aceites ozonizados.⁷⁰

7.3. Gingivitis

Tratamiento de la gingivitis necrotizante de úlceras agudas con aceite de girasol ozonizado: Se realizó un ensayo clínico de fase III aleatorio en un grupo de 48 pacientes que padecían gingivitis necrosante de úlcera aguda. De esos pacientes, 24 formaron el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado, mediante aplicaciones tópicas sobre las lesiones, tres veces al día, durante 7 días.

El grupo control (24 pacientes) fue tratado con aplicaciones locales de solución acuosa de perborato de sodio, con una periodicidad similar a la del grupo tratado con aceite de girasol ozonizado. Las pruebas se realizaron 3 o 7 días después del inicio de los tratamientos. En el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado, el 75% de los pacientes se curaron frente al grupo control que alcanzó el 29,2%, con una diferencia significativa ($p < 0,01$). En cuanto a los signos y síntomas evaluados: sangrado gingival, signos de tumefacción aguda local y dolor gingival, desaparecieron más rápidamente en el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado.²⁴

En un estudio de caso clínico sobre la eficacia de una formulación basada en aceite de girasol ozonizado [450 PV] (Ozoral®, Innovares, Italia), una aplicación de la fórmula una vez al día durante tres semanas redujo en un 55% la carga bacteriana total. Los resultados también mostraron una reducción del 58% en la población microbiana patógena.⁷¹

7.4. Conductos radiculares

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de conductos radiculares infectados:

La muestra estuvo constituida por 200 pacientes adultos que presentaban áreas de rarefacción radiolúcidas, con o sin fístulas en dientes monorradiculares. Los pacientes del estudio se asignaron al azar en dos grupos de 100 pacientes cada uno. El grupo de prueba recibió curaciones con aceite de girasol ozonizado, mediante bolas de algodón estériles impregnadas con el aceite y colocadas en la cavidad, a la entrada de los conductos.

El cambio de cura se realizó cada 48 h. En el grupo control, la cicatrización se realizó en el mismo lugar y de manera similar, utilizando un bactericida líquido (Cresophen®). En este grupo se realizó una aplicación similar siete días después. Se realizaron pruebas radiológicas y clínicas a los pacientes al inicio y al final del tratamiento. En el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado, los resultados fueron mejores, con 91% de mejora respecto al grupo control (55%) con diferencias significativas ($p < 0,01$). El 88% y el 5% de los pacientes curaron con aceite de girasol ozonizado y Cresophen®, respectivamente, mostrando diferencias significativas entre ambos grupos. Los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado necesitaron dos o tres visitas al consultorio del médico,²⁴

Un estudio evaluó en perros la respuesta de los tejidos perirradiculares al tratamiento de endodoncia de conductos radiculares infectados realizado en una sola visita o en dos visitas, utilizando diferentes apósitos entre citas. Las lesiones perirradiculares se indujeron inoculando *Enterococcus faecalis* en los conductos radiculares. Después de confirmar que se desarrolló una lesión perirradicular, los conductos radiculares se trataron en una o dos visitas, utilizando aceite ozonizado o hidróxido de calcio en paramonoclorofenol alcanforado (CMCP) como medicación intracanal. Después de 6 meses, los animales fueron sacrificados y las muestras se procesaron para análisis histológico e histobacteriológico. Las endodoncias tratadas en una sola visita mostraron una tasa de éxito del 46%. Cuando se utilizó una medicación intracanal interpunto basada en hidróxido de calcio / CMCP, El 74% de los casos se clasificaron como exitosos. En los casos en que se utilizó aceite ozonizado como medicación intracanal, se observó una tasa de éxito del 77%. Estos resultados demostraron que el tratamiento de dos visitas ofreció una mayor tasa de éxito en comparación con la terapia de una visita. Además, el aceite ozonizado puede potencialmente usarse como medicamento intracanal.³⁶ El aceite ozonizado es eficaz contra los microorganismos que infectan el conducto radicular (p. Ej., *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* y *Candida albicans*) con un patrón de seguridad adecuado.⁷²

7.5. Gingivoestomatitis

Estudio comparativo del efecto del aceite de girasol ozonizado en la gingivoestomatitis en relación con los tratamientos convencionales: Se trató a ciento sesenta niños con gingivoestomatitis aftosa, entre 0 y 15 años. La clínica de los niños fue fiebre, anorexia marcada, salivación, dolor gingival, astenia y malestar de varios días de evolución. El grupo experimental (60 niños) fue tratado diariamente con toques de aceite de girasol ozonizado y los grupos control con tres productos diferentes (siguiendo un procedimiento similar al utilizado para el grupo experimental): iodouridina (60 niños), hibitane (20 niños), boroglicerina (20 niños). Entre el tercer y el séptimo día de tratamiento se alcanzó la curación completa de las lesiones en el 75% de los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado y en el 6% de los pacientes del grupo control, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$).²⁴

7.6. Infecciones virales

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de la gingivoestomatitis herpética aguda: Este estudio abarcó el tratamiento de 113 pacientes con antecedentes de gingivoestomatitis herpética aguda, que fueron tratados diariamente con aceite de girasol ozonizado. En el 76,9% de esos pacientes, los síntomas desaparecieron después de un tratamiento de tres días; en el 20,4% desaparecieron al séptimo día de tratamiento y en el 2,7% los síntomas desaparecieron al décimo día. El microorganismo aislado con mayor frecuencia en las lesiones fue el *Staphylococcus aureus*.²⁴ En un estudio adicional en el que participaron 2596 pacientes, la eficacia fue del 92,7% (2007 pacientes curados) con un 0,3% de reacciones adversas.⁷³

7.7. Otras aplicaciones

Recientemente se ha demostrado, en modelos animales, que el aceite ozonizado aplicado tópicamente puede tener una influencia positiva en la densidad ósea y en la calidad de la osteointegración alrededor de los implantes dentales.⁷⁴ Además, la combinación de tratamientos mediante ozonoterapia local y la aplicación de una formulación a base de aceite de girasol ozonizado [450 PV] (Ozoral®, Innovares, Italia) durante 60 días, en un caso de periimplantitis mostró la restauración de la condición patológica. Se demostró que síntomas como: edema, sangrado y purulencia, desaparecieron durante el tratamiento. Además, se observó reepitelización de tejidos. Además, se observó, mediante imagen radiográfica evolutiva, neo formación de hueso después del tratamiento.⁷⁵ Además, recientemente se ha demostrado, en modelos animales, que el aceite ozonizado aplicado tópicamente puede tener una influencia positiva en la densidad ósea y en la calidad de la osteointegración alrededor de los implantes dentales.⁷⁶

El aceite ozonizado también mostró un efecto beneficioso en el liquen plano oral y las lesiones liquenoides, que comprenden un grupo de trastornos de la mucosa oral que probablemente representan un patrón de reacción común a 1 o más antígenos desconocidos.⁷⁷ Una formulación a base de aceite de girasol ozonizado [450 PV] (Ozoral[®], Innovares, Italia) aplicada durante 4 semanas en 20 pacientes mostró una reducción del dolor tras la primera aplicación y una reducción de la inflamación local.⁷⁸ Además, el liquen plano también se trató con aceites ozonizados de oliva⁷⁹ o sésamo⁸⁰ con excelente mejora, lamentablemente en estos casos no se declaró el IP de los aceites.

Un estudio evaluó la eficacia del aceite de oliva ozonizado con o sin la aplicación complementaria del uso de un enjuague mineral que contiene fosfosilicato de sodio y calcio para revertir la hipersensibilidad de la dentina radicular posquirúrgica. Se realizó un ensayo clínico controlado aleatorio, doble ciego, en 51 participantes con hipersensibilidad de la dentina radicular (RDH). Los participantes fueron asignados aleatoriamente a 4 grupos: Grupo A, aceite de oliva ozonizado: Grupo B, aceite de oliva ozonizado y lavado mineral: Grupo C, aceite de oliva placebo (PPO) y lavado mineral: Grupo D, solo aceite de oliva placebo. El tratamiento se llevó a cabo en la clínica y siguió una atención domiciliaria con una pasta remineralizante. La respuesta a diversos estímulos de dolor se evaluó periódicamente con una escala analógica visual. Adicionalmente, el estudio de microscopio electrónico de barrido evaluó la oclusión del túbulo dentinario y el cambio en el área de la superficie tubular después del tratamiento. Los participantes del grupo B mostraron una disminución significativa en el nivel de los dientes y la sensibilidad global durante el período ($p < 0,001$). Además, la comparación intergrupala también reveló un resultado significativo ($p < 0,001$). Del mismo modo, los participantes del grupo C también mostraron una reducción significativa en la sensibilidad durante el período ($p < 0,001$). Considerando que, no se detectó una diferencia significativa ($p > 0,05$) entre el grupo A y el grupo D para el nivel dentario y el análisis de sensibilidad global. El resultado del estudio mostró una oclusión de túbulos significativamente mejorada ($p < 0,001$) y una disminución del área de superficie tubular en las muestras del grupo B en comparación con otras muestras del grupo. El aceite ozonizado, como monoterapia, no es eficaz para reducir la RDH posquirúrgica. Sin embargo,⁸¹ existe una tendencia sobre el uso de aceite ozonizados para realizar el *oil pulling*⁸² pero deben realizarse ensayos clínicos para corroborar su efecto. En 96 sujetos con un diagnóstico de periodontitis, se descubrió que el raspado y alisado radicular con la ayuda de enjuague bucal de aceite de oliva ozonizado era más eficaz en la reducción de metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) salival que el raspado y alisado radicular por sí solos. MMP-8 juega un papel fundamental en el daño al tejido periodontal en pacientes con periodontitis.⁸³

Un estudio se centró en evaluar la eficacia de aceite de oliva ozonizado en el tratamiento de lesiones orales. Se realizó un estudio longitudinal en 50 pacientes (ulceraciones aftosas, herpes labial, candidiasis oral, liquen plano oral y queilitis angular). El aceite ozonizado se aplicó dos veces al día hasta que la lesión evolucionó hacia la curación, el seguimiento fue durante un máximo de 6 meses. Todas las lesiones se curaron en pacientes con ulceraciones aftosas, herpes labial, candidiasis oral y queilitis angular o mostraron una mejoría en los signos y síntomas en pacientes con liquen plano oral. No se observó toxicidad ni efectos secundarios en ninguno de los pacientes. La ozonoterapia probablemente sea más efectiva si se aplica también en forma de gas, pero la forma tópica (aceites ozonizados) también evidencia resultados positivos sin ninguna toxicidad o efecto secundario. Por tanto, puede considerarse como una terapia mínimamente invasiva para condiciones infecciosas o de naturaleza autoinmune en la mucosa oral.⁸⁴

El reporte de un caso mostró el efecto del aceite ozonizado en una lesión gingival fibrosa exofítica. Se estudió a una paciente de 42 años que presentaba una lesión fibrosa exofítica, leve a moderadamente dolorosa en la encía anterior superior. Esta lesión gingival se trató con 2 mL de aceite ozonizado, tres veces al día durante una semana. Después de la terapia, se midieron y analizaron los resultados postoperatorios. Finalmente, la lesión fue sometida a biopsia excisional y evaluación histopatológica. Después de la terapia, la paciente refirió que tenía menos dolor. Al examinar la lesión, se observó una mejoría del signo clínico de la inflamación y también una reducción de la ulceración superficial. Durante la biopsia final, se observó menos sangrado. El análisis morfométrico mostró una reducción del tamaño de la lesión. El análisis histopatológico mostró una reducción de las fibras de colágeno y de las células inflamatorias del estroma del tejido conectivo. La terapia tópica con aceite ozonizado proporcionó beneficios potenciales para el tratamiento de lesiones gingivales exofíticas. Los beneficios observados en este reporte de caso deben verificarse en el futuro con ensayos clínicos bien controlados.⁸⁵

Miscelánea

Uso de aceite ozonizado en Oftalmología: En un ensayo prospectivo, simple ciego, aleatorizado y de grupos paralelos, 80 pacientes con un diagnóstico clínico de presunta conjuntivitis viral se dividieron al azar en dos grupos de tratamiento: un grupo de estudio y un grupo de control, 40 para cada grupo. Los pacientes del grupo de estudio recibieron gotas oftálmicas de tobramicina al 0,3% / dexametasona 0,1% tópicas, más gotas oftálmicas de aceite ozonizado, ambas cuatro veces al día; los pacientes del grupo de control recibieron sólo gotas oftálmicas de tobramicina al 0,3% / dexametasona 0,1%, cuatro veces al día. El tratamiento fue por siete días en ambos grupos. El uso de colirios con aceite ozonizado en combinación con colirio tópico de tobramicina al / dexametasona cuatro veces al día pareció reducir los signos de conjuntivitis y la duración de la infección viral, aunque no afectó la apariencia de los infiltrados corneales subepiteliales.⁸⁶ También se ha informado del éxito del tratamiento con aceites ozonizados en la conjuntivitis, la queratoconjuntivitis y las úlceras corneales en medicina veterinaria.⁸⁷

Aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de la conjuntivitis hemorrágica epidémica (EHC). La EHC es una inflamación conjuntiva autolimitada de etiología viral que afecta a todas las edades y se presenta en forma epidémica. Sus principales síntomas son sensación de cuerpos extraños, lagrimeo, fotosensibilidad, malestar general y dolor. Sus signos críticos son hemorragias subconjuntivales, reacción folicular y adenopatía preauricular. Además, se observan secreción serosa, quemosiis, queratitis puntiforme superficial y ptosis palpebral. Teniendo en cuenta el amplio espectro germicida del aceite de girasol ozonizado, así como su carácter antiinflamatorio, un estudio evaluó la efectividad de este medicamento en su forma de colirio para el tratamiento de EHC. El estudio se realizó en el Hospital Clínico "Dr. Salvador Allende" (La Habana, Cuba). En octubre de 2009, 20 pacientes con EHC fueron tratados. Doce de ellos recibieron tratamiento con colirio de aceite de girasol ozonizado (una gota dos veces al día), 8 se utilizaron como grupo control y recibieron tratamiento convencional (compresas frías, antiinflamatorios no esteroideos, yodoxuridina en colirio o interferón alfa-2b recombinante). Todos los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado experimentaron una rápida evolución hacia la recuperación. A las 72 h mostraron signos de gran mejoría y en 1 semana estaban totalmente curados. Ningún paciente presentó complicaciones. En el grupo control la evolución fue más prolongada, principalmente en pacientes que presentaron complicaciones (3 con queratitis). El tratamiento de EHC con colirio de aceite de girasol ozonizado proporcionó resultados muy positivos en esta enfermedad. Todos los pacientes tratados con aceite de girasol ozonizado experimentaron una rápida evolución hacia la recuperación. A las 72 h mostraron signos de gran mejoría y en 1 semana estaban totalmente curados. En el grupo control la evolución fue más prolongada, principalmente en pacientes que presentaron complicaciones (3 con queratitis).⁸⁸

Aplicación de aceite de girasol ozonizado en la tonsilitis aguda: Se estudiaron quince pacientes que padecían tonsilitis aguda y se trataron diariamente con aceite de girasol ozonizado en la zona orofaríngea durante una semana. A esos pacientes se les realizaron controles microbiológicos (exudado faríngeo) y pruebas físicas de la zona orofaríngea al inicio y al final del tratamiento. Entre los microorganismos del primer exudado se encontraron *Streptococcus pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella pertussis* y otros. Al final del tratamiento, todos los pacientes fueron curados, teniendo en cuenta las pruebas microbiológicas y clínicas realizadas.²⁴ (Patente CU 22749)

Aplicación de aceite de teobroma ozonizado en el tratamiento de Tynea pedis: Se estudiaron 50 pacientes con diagnóstico de tynea pedis, distribuidos aleatoriamente en dos grupos de estudio, 25 pacientes en cada grupo. El grupo experimental fue tratado con un ungüento que contenía aceite de Theobroma (ozonizado al 20%), durante 6 semanas, dos veces al día y el grupo control fue tratado con ungüento Whitfield sin azufre con un plan de tratamiento similar. El criterio de curación fue la presencia de exudado microbiológico negativo. Se obtuvo una curación del 85% y 20% en los grupos experimental y control, respectivamente, con diferencia significativa entre ambos grupos.²⁴ (Patente CU 22749)

Los aceites ozonizados de girasol y oliva son fungicidas, activos contra hongos que originan micosis superficiales en el ser humano, como *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum*.^{24,65} (Patente CU 22749). El aceite ozonizado de girasol tópico se evaluó en un ensayo de fase III aleatorizado controlado, utilizando ketoconazol (Nizoral®) como grupo de comparación. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los dos medicamentos, ni se observaron efectos secundarios o superinfección bacteriana en el estudio.²⁴

Aplicación de aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica: Se realizó un estudio con 20 pacientes con úlceras de miembros inferiores por insuficiencia venosa crónica con menos de cinco años de evolución. Ambos grupos fueron tratados con reposo venoso, dieta hiposódica y analgésicos. Además, se realizó una desinfección mecánica con cloruro de benzalconio 1/5000 dos veces al día. Después de la desinfección, se aplicó aceite de girasol ozonizado al grupo experimental y se aplicaron pomadas antibióticas, según el germen aislado, al grupo control. En el grupo experimental se observó una mejoría de los signos inflamatorios a las 72 h y la aparición de tejido de granulación a partir del quinto día, mientras que en el grupo control tanto la evolución como la desaparición de signos y síntomas se prolongó más.²⁴ (Patente CU 22749)

Aplicación del aceite de girasol ozonizado en el tratamiento de escaras: Se estudiaron veinte pacientes con úlceras de decúbito en la región sacra y se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos de 10 pacientes cada uno. El grupo experimental fue tratado con aceite de girasol ozonizado, dos veces al día, y el grupo control fue tratado con ungüentos de antibióticos, según el germen presente, con un plan de tratamiento similar. Todos los pacientes lograron curar sus heridas. En el grupo tratado con aceite de girasol ozonizado, el tiempo de curación fue más corto y no fue necesario realizar ningún antibiograma, debido al amplio poder germicida del aceite ozonizado.²⁴ (Patente CU 22749)

Aplicación del aceite ozonizado en el tratamiento de fístulas y heridas quirúrgicas crónicas: En un estudio en el que participaron 28 pacientes que padecían fístulas y heridas quirúrgicas crónicas, se encontró una efectividad total en 27 casos sin efectos secundarios.⁷ El aceite ozonizado también se utilizó en el tratamiento de la osteonecrosis de la mandíbula en pacientes con metástasis óseas.⁸⁹ Se desarrolló un ensayo clínico en ocho pacientes que se sometieron a radioterapia para el tratamiento de cáncer de cuello uterino o cuello y fueron diagnosticadas con osteorradionecrosis de los maxilares. La lesión ósea expuesta y el margen osteomucoso se limpiaron con desbridamiento manual y se trataron con aplicaciones tópicas de aceite ozonizado durante 10 minutos con resultados exitosos.⁹⁰ El aceite ozonizado también ha demostrado ser muy eficaz en las quemaduras.⁴ Además, los aceites ozonizados se utilizan para el tratamiento a largo plazo de lesiones, quemaduras e infecciones locales como la micosis de la piel y las uñas, así como en el tratamiento de seguimiento de *ulcus cruris* y úlceras por decúbito.⁹¹

El aceite de girasol ozonizado muestra inhibición y actividad germicida en caso de infecciones por *Giardia lamblia*.⁴⁹ Además, el aceite de oliva ozonizado puede tener efectos sinérgicos con la Glucantime® (antimoniato de meglumina) en el tratamiento de la leishmaniasis cutánea, un ensayo clínico informó la reducción del tamaño de la lesión tras la aplicación simultánea de Glucantime® y aceite ozonizado, en un paciente afectado de leishmaniasis cutánea.⁹²

Seguridad de los aceites ozonizados

El primer informe de uso de aceite ozonizado se realizó en 1859,⁹³ el aceite ozonizado se utilizó por ingestión en pacientes con neumonía, y se observó una mejora en las condiciones de salud. Los diversos estudios toxicológicos realizados con aceite de girasol ozonizado demostraron la seguridad de este tipo de productos: estudios toxicológicos, estudios histológicos, estudios de mutagenicidad,^{94,95} estudios de genotoxicidad^{96,97} y estudios de teratogenicidad²⁴ ponen en evidencia la seguridad de este tipo de productos. Los estudios de irritabilidad oftálmica e irritabilidad dérmica,⁹⁸ clasifican el aceite de girasol ozonizado como no irritante.⁹⁹ También se probó el efecto sensibilizador del aceite ozonizado de girasol, lo que resultó en un efecto no sensibilizante.¹⁰⁰ En ensayos clínicos que utilizan aceite ozonizado en el tratamiento de lesiones infecciosas, no se informaron efectos secundarios.¹⁰¹ Se observan las mismas tendencias para otros aceites ozonizados, por ejemplo: la prueba de citotoxicidad para el aceite de avellana ozonizado concluyó que el aceite de avellana es seguro.¹⁰² El aceite de oliva ozonizado con un PV de 2700 a 2900 mEq O₂/kg no fue citotóxico en la línea celular de fibroblastos L929.¹⁰³ La prueba de irritabilidad vaginal para el aceite de Theobroma ozonizado mostró que el aceite no causa irritabilidad.¹⁰⁴

Los estudios sobre el metabolismo del aceite de girasol ozonizado mostraron que la administración oral a ratas Wistar produjo cambios en el contenido urinario de ácidos orgánicos dicarboxílicos. Entre otros, los ácidos heptanodioico (ácido pimélico) y no anodioico (ácido azelaico) fueron los mayores ácidos dicarboxílicos encontrados.¹⁰⁵

El aceite de oliva ozonizado a dosis de 3 y 6 mg/kg administrados por vía oral, mostró una reducción significativa macroscópica y microscópica en las puntuaciones de daño, en un modelo experimental de colitis ulcerosa. Además, las actividades de CAT, GSH-Px y SOD aumentaron significativamente en el colon distal de animales inflamados, pretratados con aceite ozonizado con respecto al grupo de control de forma dependiente de la dosis. Este experimento proporcionó evidencia de que los efectos protectores del aceite ozonizado están mediados por la estimulación de algunas enzimas antioxidantes.¹⁰¹ El mismo efecto se observó en un modelo experimental de úlceras inducidas por etanol en ratas.³⁴

La administración rectal de aceite ozonizado a ratas Wister, realizada cada dos días para un total de 10 aplicaciones, no mostró ningún hallazgo morfológico patológico en los tejidos examinados. No se observó diferencia alguna entre las mucosas del grupo control y el resto de animales tratados.¹⁰⁶

Calidad

Se debe preparar un aceite ozonizado de calidad para uso médico siguiendo las buenas prácticas de fabricación. Eso significa un estricto control de calidad durante su producción en un reactor de alta calidad, teniendo en consideración la calidad de las materias primas y variables de reacción importantes como: tiempo de reacción, concentración de ozono, fuente de ozono, flujo del burbujeo, temperatura de reacción y otras. Un control de calidad del componente activo (aceite ozonizado) debe incluir análisis químico-físico, análisis microbiológico y análisis biológicos. El análisis biológico debe demostrar el efecto farmacológico atribuido al aceite y la ausencia de toxicidad. La microbiología debe demostrar la calidad microbiológica de la preparación. Se realizarán análisis químico / físico para garantizar el contenido químico homogéneo del componente activo y la estabilidad. El análisis químico implicará la medición del contenido de lipoperóxidos y aldehídos, índices de yodo y saponificación. El análisis físico tendrá en cuenta los valores de acidez, la densidad y la viscosidad del componente activo. Los estudios se deben realizar de acuerdo con los métodos de la farmacopea y también debe usarse para demostrar la estabilidad de la preparación.¹⁰⁷

Conclusiones

El uso médico de aceites ozonizados en enfermedades infecciosas tiene numerosas ventajas sobre las terapias convencionales. Este tipo de terapias reduce el costo, tiene efectos similares o superiores a los antibióticos tradicionales, da como resultado un amplio espectro antimicrobiano y una baja tasa de eventos adversos. Los productos de oxidación de lípidos producidos tras la reacción del ozono con ácidos grasos y otros sustratos, generan compuestos con actividad germicida, inmunoestimulante y reparadora de tejidos. La estabilidad de las preparaciones ozonizadas permite el desarrollo de formulaciones convencionales para uso clínico. Se requieren altos estándares de control de calidad para el aceite ozonizado como materia prima farmacéutica para garantizar su eficacia y evitar la toxicidad. Se considerará como criterio de calidad la caracterización química y física y un PV preciso (como índice de dosificación). Hoy en día las principales aplicaciones del aceite ozonizado son para uso externo fundamentalmente en dermatología, odontología, oftalmología y ginecología, sin embargo, existen evidencias de efectos inmunoestimulantes, germicidas y reparadores cuando se usa por vía oral. Se necesitan ensayos clínicos adicionales para respaldar el uso clínico de aceites ozonizados, pero bases en formulaciones estandarizadas y estables.

Referencias Bibliográficas

1. Sánchez GM, Re L, Perez-Davison G, Delaporte RH. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Revista Española de Ozonoterapia*. 2012/05/30 2012;2(1):121-139.
2. Fischbach MA, Walsh CT. Antibiotics for emerging pathogens. *Science*. Aug 28 2009;325(5944):1089-1093.
3. Ugazio E, Tullio V, Binello A, Tagliapietra S, Dosio F. Ozonated Oils as Antimicrobial Systems in Topical Applications. Their Characterization, Current Applications, and Advances in Improved Delivery Techniques. *Molecules*. Jan 14 2020;25(2).
4. Bocci V. *Ozone A New Medical Drug*. Dordrecht, The Netherlands: Springer; 2005.
5. Bocci V. *Oxygen-Ozone Therapy: A Critical Evaluation*. 1 ed: Springer; 2010.
6. Valacchi G, Fortino V, Bocci V. The dual action of ozone on the skin. *Br J Dermatol*. Dec 2005;153(6):1096-1100.
7. Matsumoto A, Sakurai S, N NS. Therapeutic effects of ozonized olive oil in the treatment of intractable fistula and wound after surgical operation. Paper presented at: 15th Ozone World Congress; 11–15 September 2001, 2001; London, UK.
8. ISCO3, Martínez-Sánchez G, Lozano ÓL. Physico-chemical characterization of ozonized oil. Peroxide Value. <http://isco3.org/officialdocs/#4>. 2016;ISCO3/LAB/00/04
9. Criegee RA. Mechanism of Ozonolysis. *Chem. Int. Ed. Engl*. 1975;87:745-752.
10. Diaz M, Lezcano I, Alvarez I. H-NMR studies of the ozonization of methyl oleate. *Bol Soc Chil Quim*. 1997;42:349-353.
11. Ledea-Lozano OE. Havana, Cuba.: National Center for Scientific Research 2003.
12. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V. Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:610418.
13. Almeida NRd, Adilson Beatriz ACM, Arruda EJd. Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. *Orbital Elec. J. Chem*. 2012;4(4):313-326.
14. Díaz MF, Gavín JA, Gómez M, Curtielles V, Hernández F. Study of Ozonated Sunflower Oil Using ¹H NMR - and Microbiological Analysis. *Ozone: Science & Engineering: The Journal of the International Ozone Association*. 2006 2006;28(1):59.
15. Almeida NR, Beatriz A, Micheletti AC, Arruda EJd. Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. *Orbital - The Electronic Journal of Chemistry*. 18/01/2013 2013;4(4):313-326.
16. Díaz MF, Gavín JA, Gómez M, Curtielles V, Hernández F. Study of Ozonated Sunflower Oil Using ¹H NMR and Microbiological Analysis. *Ozone Science & Engineering*. 2006;28(1):59-63.
17. Europe. C. European Pharmacopoeia 7th Edition, Druckerei C. H. Beck, ISBN 978-92-871-9700-2, Nördlingen, Germany. Method: 2.5.5. Iodine Value. *European Pharmacopoeia* 2010:137-138.
18. AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 21 Ed. Washington 2019.
19. Richaud E, Farcas F, Fayolle B, Audouin L, Verdu J. Hydroperoxide titration by DSC in thermally oxidized polypropylene. *Polymer Testing*. 2006;25(6):829-838.
20. Zanardi I, Travagli V, Gabbrielli A, Chiasserini L, Bocci V. Physico-chemical characterization of sesame oil derivatives. *Lipids*. Sep 2008;43(9):877-886.
21. Díaz Gómez M, Téllez G, Cruz M, Mancheno R. Chemical analysis of ozonized theobroma fat. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. November 01, 2006 2006;83(11):943-946.
22. Tellez GM, Lozano OL, Gomez MFD. Measurement of Peroxidic Species in Ozonized Sunflower Oil. *Ozone: Science and Engineering*. 2006;28:1-5.
23. Nourooz-Zadeh J, Tajaddini-Sarmadi J, Wolff SP. Measurement of Hydroperoxides in Edible Oils Using the Ferrous Oxidation in Xylenol Orange Assay. *J. Agric. Food Chem*. 1995;43(1):17-21.
24. Menéndez s, González R, Ledea O. *Ozono, aspectos básicos y aplicaciones clínicas*. La Habana: CENIC; 2008.
25. 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.

26. Sechi LA. Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone). *Journal of Applied Microbiology* 90,. 2001 2001;90:279–284.
27. Neveen SI. Antifungal activity of ozonized Olive Oils (Oleozone). *International J of Agriculture and Biology* 2006;8(5):670-675.
28. Kim HS, Noh SU, Han YW, et al. Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci.* Jun 2009;24(3):368-374.
29. Zanardi I, Burgassi S, Paccagnini E, Gentile M, Bocci V, Travagli V. What is the best strategy for enhancing the effects of topically applied ozonated oils in cutaneous infections? *Biomed Res Int.* 2013;2013:702949.
30. Hernandez F, Hernandez D, Zamora Z, et al. Giardia duodenalis: effects of an ozonized sunflower oil product (Oleozone) on in vitro trophozoites. *Exp Parasitol.* Mar 2009;121(3):208-212.
31. Menendez S, Falcon L, Simon DR, Landa N. Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis. *Mycoses.* Oct 2002;45(8):329-332.
32. Montevecchi M, Dorigo A, Cricca M, Checchi L. Comparison of the antibacterial activity of an ozonated oil with chlorhexidine digluconate and povidone-iodine. A disk diffusion test. *New Microbiol.* Jul 2013;36(3):289-302.
33. 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.* Feb 5 1981;88(2):60-64.
34. 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.
35. Zamora Z, Gonzalez R, Guanche D, et al. Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm Res.* Jan 2008;57(1):39-43.
36. 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.
37. Campanati A, De Blasio S, Giuliano A, et al. Topical ozonated oil versus hyaluronic gel for the treatment of partial- to full-thickness second-degree burns: A prospective, comparative, single-blind, non-randomised, controlled clinical trial. *Burns.* Sep 2013;39(6):1178-1183.
38. Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, et al. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society.* Dec 6, 2010 2010;19(1):107-115.
39. Valacchi G, Lim Y, Belmonte G, et al. Ozonated sesame oil enhances cutaneous wound healing in SKH1 mice. *Wound Repair Regen.* Jan 2011;19(1):107-115.
40. Xiao W, Tang H, Wu M, et al. Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci Rep.* Dec 22 2017;37(6).
41. US984722, Twombly AH, Inventors. Composition Yielding Ozone1911.
42. US5270344, Herman S, Inventors. Method of treating a systemic disorder using trioxolane and diperoxide compounds 1993.
43. US5364879, Herman S, Inventors. Medical uses of trioxolane and diperoxide compounds1994.
44. US2356062, Charles J, Inventors; LATIMER LAB INC assignee. Therapeutic Composition1944.
45. US3504038, Beal RE, Inventors. Ozonization of vegetable oils in an improved aqueous medium 1970.
46. WO0137829(A1), Gomez-Moraleda MA, Melegari P, Aglio RD, Inventors. 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 medicine2001.
47. Поздеев ВГ, Синегуб ГА, Калинина НА, Суколин ГИ, Яковлев АБ, Inventors. Method for curing acute and chronic inflammation of middle ear 1997.
48. Neel WD, Inventor. Process of producing a medicament1909.
49. Moleiro MJ, Menendez SAC, Ledea OEL, et al., Inventors. Method for obtaining ozonized oils and vegetable fats and use of said products for pharmaceutical and cosmetic purposes 2003.
50. Lindholm C, Searle R. Wound management for the 21st century: combining effectiveness and efficiency. *Int Wound J.* Jul 2016;13 Suppl 2:5-15.
51. 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):57-58.

52. Aerts O, Leysen J, Horst N, Lambert J, Goossens A. Contact dermatitis caused by pharmaceutical ointments containing 'ozonated' olive oil. *Contact Dermatitis*. Aug 2016;75(2):123-126.

53. Blostein F, Levin-Sparenberg E, Wagner J, Foxman B. Recurrent vulvovaginal candidiasis. *Ann Epidemiol*. Sep 2017;27(9):575-582 e573.

54. Hillier SL, Austin M, Macio I, Meyn LA, Badway D, Beigi R. Diagnosis and Treatment of Vaginal Discharge Syndromes in Community Practice Settings. *Clin Infect Dis*. Apr 30 2020.

55. Varol K, Koc AN, Atalay MA, Keles I. Antifungal Activity of Olive Oil and Ozonated Olive Oil Against Candida Spp. and Saprochaete Spp. *Ozone: Science & Engineering*. 2017;39(6):462-470.

56. Guerrer LV, Cunha KC, Nogueira MC, Cardoso CC, Soares MM, Almeida MT. "In vitro" antifungal activity of ozonized sunflower oil on yeasts from onychomycosis. *Braz J Microbiol*. Oct 2012;43(4):1315-1318.

57. Rodrigues KL, Cardoso CC, Caputo LR, Carvalho JCT, Fiorini JE, Schneedorf JM. Cicatrizing and antimicrobial properties of an ozonised oil from sunflower seeds. *Inflammopharmacology*. 2004 2004;12(3):261-270.

58. F.D M, R.I M, I F, Y S, G G. In vivo Antimicrobial Activity of Ozonized Theobroma Oil Ovules against Candida albicans. *Arch Clin Microbiol*. 2017;8(6):70.

59. Monzillo V, Lallitto F, Russo A, et al. Ozonized Gel Against Four Candida Species: A Pilot Study and Clinical Perspectives. *Materials (Basel)*. Apr 8 2020;13(7).

60. Tara F, Zand-Kargar Z, Rajabi O, Berenji F, Azizi H. P02.140. Comparing the effect of ozonated olive oil to clotrimazole cream in the treatment of vulvovaginal candidiasis [Abstract]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2012 2012;12(Suppl. 1):P196.

61. Tara F, Rajabi O, Berenji F, Paeizi R, Azizi H. Comparing the Effect of Ozonated Olive Oil and Clotrimazole Cream for the Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. *Journal of Alternative & Complementary Medicine*. 2014;20(5):A83-A83.

62. Tara F, Zand-Kargar Z, Rajabi O, et al. The Effects of Ozonated Olive Oil and Clotrimazole Cream for Treatment of Vulvovaginal Candidiasis. *Alternative Therapies in Health and Medicine*. Jul 2016 2016;22(4):44-49.

63. Badretdinova FF, Trubin VB, Kortunova VV. [Experience with ozonated olive oil after destructive operations on the cervix uteri]. *Rossiiskii Vestnik Akushera-Ginekologa*. 2014 2014;14(3):54-56.

64. Schwartz A. Ozone therapy in the treatment of recurrent vulvo-vaginitis by Candida albicans. *Revista Española de Ozonoterapia*. 2015;5(1):99-107.

65. Balkanyi A. Herpes zoster- ein komplementärmedizinisches Behandlungskonzept. In: Viebahn-Hänsler KH, ed. *Ozon-Handbuch*. Landsberg2002.

66. Judit MA, Mark T. W, Silvia MC. Therapeutic effects of Ozone therapy in adult periodontitis treatment, subtypes I and II. *Journal of Ozone Therapy*. 2015;1(1):13.

67. Shoukheba MYM, Ali SA. The effects of subgingival application of ozonated olive oil gel in patient with localized aggressive periodontitis. A clinical and bacteriological study. *Tanta Dental Journal* 2014;11:63-73.

68. Patel PV, Patel A, Kumar S, Holmes JC. Effect of subgingival application of topical ozonated olive oil in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, controlled, double blind, clinical and microbiological study. *Minerva Stomatol*. Sep 2012;61(9):381-398.

69. Judit MA, Nelia GF, Antonio BG, Sandra NR, Eduardo LL, Silvia MC. Efficacy of OLEOZON® compared to Alvogil in the treatment of alveolitis. *Journal of Ozone Therapy*. 2015;1(1):8.

70. Khalifah MAA. A comparative study for the efficacy of different forms of ozone as a treatment for alveolar osteitis. *Oral Surg*. 2018;11(3):195-199.

71. Ciavanni R. Valutazione dell'efficacia antibatterica dell'olio di girasole ozonizzato sulla flora crevicolare. Estratto di tesi di master di II livello in ossigeno-ozono terapia. *On Medicine*. 2018;XII(2):<http://www.onmedicine.it/articolo.php?id=16&nr=22018&t=app>.

72. Elshinawy MI, Al-Madboly LA, Ghoneim WM, El-Deeb NM. Synergistic Effect of Newly Introduced Root Canal Medicaments; Ozonated Olive Oil and Chitosan Nanoparticles, Against

- Persistent Endodontic Pathogens. *Front Microbiol.* 2018;9:1371.
73. 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;7:55-59.
74. 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.* Apr 2011;37(2):247-257.
75. Oldoini G, Ottonelli G, Genovesi A. L'ozonoterapia nella gestione della perimplantite: case report. *Igiene Tribune Italian Edition.* 2018;Aprile:18-19.
76. El Hadary A, Yassin H, Mekhemer S, Holmes J, Grootveld M. Evaluation of Ozonated Oils on Osseointegration of Dental Implants under the Influence of Cyclosporine A: An In Vivo Study. *The Journal of Oral Implantology.* Jun 14, 2010 2010.
77. Carozzo M, Porter S, Mercadante V, Fedele S. Oral lichen planus: A disease or a spectrum of tissue reactions? Types, causes, diagnostic algorithms, prognosis, management strategies. *Periodontol 2000.* Jun 2019;80(1):105-125.
78. Bosotti M, Rossi M, Porrini M, et al. Valutazioni Terapeutiche Del Gel Ozonizzato Orale Nelle Stomatiti Croniche. Risultati Preliminari. Paper presented at: XXVI Congresso Nazionale Collegio degli Universitari di Discipline Odontostomatologiche; 11 -13 aprile, 2019; Napoli
79. Casu C, Argiolas L, Fais S, Garau V, Orru G. Polarized Light as an Adjuvant to Drug Therapy for the Treatment of Refractory Oral Erosive Lichen Planus: A Case Report. *J Immunol Res Ther.* 2020;5(S1):10.
80. Samadova SI. Improvement of Complex Treatment of Red Lichen Planus of the Oral Mucosa. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT).* 2020;23(2).
81. Patel PV, Patel A, Kumar S, Holmes JC. Evaluation of ozonated olive oil with or without adjunctive application of calcium sodium phosphosilicate on post-surgical root dentin hypersensitivity: a randomized, double-blinded, controlled, clinical trial. *Minerva Stomatol.* May 2013;62(5):147-161.
82. Gbinigie O, Onakpoya I, Spencer E, McCall MacBain M, Heneghan C. Effect of oil pulling in promoting oro dental hygiene: A systematic review of randomized clinical trials. *Complement Ther Med.* Jun 2016;26:47-54.
83. Nardi GM, Cesarano F, Papa G, et al. Evaluation of Salivary Matrix Metalloproteinase (MMP-8) in Periodontal Patients Undergoing Non-Surgical Periodontal Therapy and Mouthwash Based on Ozonated Olive Oil: A Randomized Clinical Trial. *Int J Environ Res Public Health.* Sep 11 2020;17(18).
84. Kumar T, Arora N, Puri G, Aravinda K, Dixit A, Jatti D. Efficacy of ozonized olive oil in the management of oral lesions and conditions: A clinical trial. *Contemp Clin Dent.* Jan-Mar 2016;7(1):51-54.
85. Patel PV, Gujjari SK. The Morphometrical and Histopathological Changes which were Observed after Topical Ozone Therapy on an Exophytic Fibrous Gingival Lesion: A Case Report. *J Clin Diagn Res.* Jun 2013;7(6):1239-1243.
86. Cagini C, Mariniello M, Messina M, et al. The role of ozonized oil and a combination of tobramycin/dexamethasone eye drops in the treatment of viral conjunctivitis: a randomized clinical trial. *Int Ophthalmol.* Jul 22 2020.
87. Spadea L, Tonti E, Spaterna A, Marchegiani A. Use of Ozone-Based Eye Drops: A Series of Cases in Veterinary and Human Spontaneous Ocular Pathologies. *Case Rep Ophthalmol.* May-Aug 2018;9(2):287-298.
88. Copello M, Menendez S, Schwartz A. Clinical Experience in the Treatment of Epidemic Hemorrhagic Conjunctivitis with Oleozon® Collyrium. *Rev Esp Ozonoterapia.* 2012;2(2):48-49.
89. Ripamonti CI, Cislighi E, Mariani L, Maniezzo M. Efficacy and safety of medical ozone (O(3)) 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.* Mar 2011;47(3):185-190.
90. Bianco E, Maddalone M, Porcaro G, Amosso E, Baldoni M. Treatment of Osteoradionecrosis of the Jaw with Ozone in the Form of Oil-based Gel: 1-year follow-up. *J Contemp Dent Pract.* Feb 1 2019;20(2):270-276.
91. Beck EG. Ozone in preventive medicine. Paper presented at: Ozone in Medicine, 12th World Congress of the International Ozone Association 1995; Lille, France.
92. Aghaei M, Aghaei S, Sokhanvari F, et al. The therapeutic effect of ozonated olive oil plus glucantime on human cutaneous leishmaniasis. *Iran J Basic Med Sci.* Jan 2019;22(1):25-30.

93. Thompson T. Observations on the Medical Administration of Ozonized Oils. (Physician to The Hospital For Consumption, Etc.).1859.
94. Fernández SI, Quinzan C, Menéndez S, Gómez M. [Mutagenic evaluation of ozonated oil administered by intragastric route]. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 1989 1989;20(1-3):14-16.
95. Jang IW, Lee SJ, Ahn JY, Miura T, Jung MY, Choi DS. Evaluation of Antimicrobial Activity and Mutagenicity of Ozonized Olive Oil. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 2006 2006;38(6):805-809.
96. Remigio A, González Y, Zamora Z, Rodríguez G, Molerio J. [Genotoxic evaluation of OLEOZON by the micronucleus Assay from bone marrow and peripheral blood of mice. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 1998 1998;29(3):200-202.
97. Remigio Montero A, González Carvajal Y, Zamora Rodríguez Z, Fonseca López G. [Influence of ozone therapy for bone marrow in treated mice]. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 04/1999 1999;18(1):24-26.
98. Diaz MF, Sanchez Y, Garcia K, Meneau RI, Garcia G. [Evaluation of irritant power of cosmetic cream OZONOL]. *REDVET*. 2010 2010;11(4):041004.
99. Rodríguez-Zamora Z, Martínez-Gutierrez A, Napoles-Ocaña L, Riso-Urquiaga D, Fernández-García LA, Gil-Ibarra D. Evaluación de la irritabilidad dérmica y oftálmica de la formulación de aceite de girasol ozonizado en conejos. *Rev CENIC Cien Biol*. 2019;50(3):242-253.
100. Diaz MF, Garcia G, Garcia K, Sanchez Y, Tillan J. [Evaluation of ophthalmic, dermal irritability and the sensitizing effect of OLEOZON Topic]. *REDVET*. 2006 2006;7(11):110615.
101. Abu-Gharbieh E, Bayoumi FA, Ahmed NG. Alleviation of antioxidant defense system by ozonized olive oil in DNBS-induced colitis in rats. *Mediators Inflamm*. 2014;2014:967205.
102. Serhat-Tonus S, Bayıl-Oğuzkan S, Ibrahim-Uğraş H, Halil-Kılıç I. Determining the cytotoxic effect potential of ozonated hazelnut oil. *Ozone Therapy*. 2018;3.
103. Günaydın Y, Sevim H, Tanyolaç D, Gürpınar ÖA. Ozonated Olive Oil with a High Peroxide Value for Topical Applications: In-Vitro Cytotoxicity Analysis with L929 Cells. *Ozone: Science & Engineering*. 2017;40(1):37-43.
104. Diaz MF, Meneau RI, Pina YC, Garcia G. [Evaluation of vaginal irritability caused by formulated vaginal suppositories with ozonized theobroma oil]. *REDVET*. 2009 2009;10(4):04028.
105. Jardines D, Correa T, Ledea O, Zamora Z, Rosado A, Molerio J. Gas chromatography-mass spectrometry profile of urinary organic acids of Wistar rats orally treated with ozonized unsaturated triglycerides and ozonized sunflower oil. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. Jan 15 2003;783(2):517-525.
106. Öztürk A, Lüleci N, Bozkurtoğlu H, Kaya C, Tan N. Morphological Effects of Ozone or Ozonized Oil on Rectal Mucosa of Rats. Paper presented at: III International Congress of AEPROMO; 7th - 9th June, 2012, 2012.
107. Sega A, Zanardi I, Chiasserini L, Gabbrielli A, Bocci V, Travagli V. Properties of sesame oil by detailed ¹H and ¹³C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value, and viscosity measurements. *Chem Phys Lipids*. Feb 2010;163(2):148-156.