

# Efecto cicatrizante de los aceites ozonizados sobre lesiones de la piel

## Healing effect of ozonized oils on skin injuries

Yanaysis Stable- García<sup>a\*1</sup>, Zullyt Zamora Rodríguez<sup>b2</sup>, Asela Fernández García<sup>3a</sup>

<sup>a\*</sup> Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), Unidad de Productos Ozonizados. Departamento de Estudios Biológicos. La Habana, Cuba.

<sup>b</sup> Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), Unidad de Productos Ozonizados. Departamento de Estudios Biológicos. La Habana, Cuba

**Recibido:** 10 de agosto de 2020

**Aceptado:** 19 de septiembre de 2020;

### RESUMEN

La cicatrización de heridas ocurridas en la piel, después de la ocurrencia de alguna acción traumática, constituye un proceso dinámico caracterizado por la integración de cuatro fases secuenciales basadas en la hemostasia. Existen diferentes factores que afectan la cicatrización de las heridas, tal es el caso de infecciones bacterianas e incluso enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus. Teniendo en cuenta que existen pocas evidencias de terapias farmacológicas eficaces para el tratamiento de heridas y úlceras en la piel, la búsqueda de nuevas estrategias farmacoterapéuticas es un tema de interés. Con este propósito, el uso de aceites ozonizados, ha tenido una promisoriosa efectividad como tratamiento de elección para acelerar la cicatrización de las heridas. Por tanto, el objetivo de este trabajo de revisión es identificar los aceites ozonizados empleados en el tratamiento de la cicatrización de las heridas de la piel y su mecanismo de acción cicatrizante. Para ello se recopiló toda la información publicada que se encontró disponible en la base de datos de PubMed. En tal sentido, se realizó una breve descripción del proceso de cicatrización, los factores fundamentales que la afectan, las características generales de los aceites ozonizados y los mecanismos de acción descritos para su acción cicatrizante en diferentes modelos experimentales. Este documento resume de forma organizada todos los resultados que aseguran y sustentan la eficacia de los aceites ozonizados, como estimuladores del proceso de cicatrización. Se concluye que los aceites ozonizados facilitan la restauración de la piel dañada a través de la activación de los diferentes mecanismos moleculares.

**Palabras claves:** cicatrización; heridas de la piel; aceites ozonizados.

### ABSTRACT

The healing of wounds that occur on the skin, after the occurrence of some traumatic action, constitutes a dynamic process characterized by the integration of four sequential phases based on hemostasis. There are different factors that affect wound healing; such is the case of bacterial infections and even metabolic diseases such as diabetes mellitus. Talking into account that there is little evidence of effective pharmacological therapies for the treatment of wounds and/or ulcers in the skin, the search for new pharmacotherapeutic strategies is a current topic. For this purpose, the use of ozonated oils has shown promising effectiveness as the treatment of choice to accelerate wound healing. So the objective of this work is aimed at identifying the ozonated oils used in the treatment of wound healing of the skin and their healing action mechanism. For this, all the published information that was available in the PubMed database was collected. In this sense, a brief description of the healing process, the fundamental factors that the control, the general factors of ozonized oils and the mechanisms of action described for their healing action in different experimental models were made. This document summarizes in an organized way all the results that ensure and sustain the effectiveness of ozonized oils, as stimulators of the healing process. It is concluded that ozonated oils facilitate the restoration of damaged skin through the activation of different molecular mechanisms.

**Keywords:** cicatrization; wound of skin; ozonized oil

<sup>1</sup> 0000-0002-5441-6795

<sup>2</sup> 0000-0002-9387-3761

<sup>3</sup> 0000-0002-1043-5505

## INTRODUCCION

La piel constituye una barrera fisiológica entre el organismo y el medio ambiente. Dada a su acción protectora frente a ambientes hostiles y la constante interacción con el medio externo, es posible la aparición de heridas o lesiones en este órgano, como consecuencia de traumas, úlceras, eventos quirúrgicos, entre otros. Ante la presencia de estos eventos traumáticos en la piel, el organismo genera una serie de complejas reacciones bioquímicas que suceden para la restauración y cicatrización de la piel dañada (Gurtner *et al*, 2008; Eming, 2014; Aarabi *et al*, 2007).

La cicatrización de heridas es un proceso dinámico caracterizado por la integración de cuatro fases secuenciales basadas en la hemostasia (0 a varias horas después de la lesión), inflamación, proliferación y remodelación. Éstas a su vez, involucran una compleja interacción celular y molecular que implica: migración y proliferación celular, deposición de la matriz extracelular y angiogénesis (Gurtner *et al*, 2008; Eming, 2014; Aarabi *et al*, 2007).

En el tratamiento para la cicatrización de las heridas se han aplicado agentes antimicrobianos, técnicas quirúrgicas y una amplia gama de enfoques terapéuticos basados en fármacos y dispositivos. (Wieman *et al*, 1998; Armstrong *et al*, 2004). Estas intervenciones han mostrado un éxito clínico limitado, incluso cuando han estado incluidas en un programa de atención integral de la herida. Las recidivas, en algunos casos siguen siendo un problema que obstaculiza la eficacia clínica de las terapias actuales a corto plazo (Gregor *et al*, 2008). Por otro lado, la terapia con la mezcla Ozono/ Oxígeno, así como sus formulaciones a base de ello, han sido efectivas como tratamiento para la cicatrización de heridas (Valacchi *et al*, 2005).

### Desarrollo

#### Mecanismos moleculares de la cicatrización.

Durante el proceso de cicatrización de heridas transcurren diferentes mecanismos, que incluyen respuesta a la inflamación, formación de nuevos tejidos y remodelación de tejidos (Gurtner *et al*, 2008; Eming *et al*, 2014). En las primeras 48 h después de la lesión, se activan diferentes células inmunes como neutrófilos, monocitos y linfocitos para detener el sangramiento y eliminar los tejidos muertos. Con ello, se logra regular el proceso de inflamación para posteriormente reparar el tejido dañado (Martin, 2005). Por lo que la inflamación juega un papel esencial dentro del proceso de cicatrización, dado que cumple ciertos propósitos en la desinfección de la herida e inducción de la fase de proliferación. Esta fase se caracteriza por la migración de células inflamatorias hacia el tejido lesionado, con la consecuente producción de citocinas pro-inflamatorias y factores de crecimiento. De modo que, si la inflamación se prolonga durante mucho tiempo puede producir daños severos a los tejidos. Por esta razón, los cuidados terapéuticos de las heridas se basan en el control y la reducción de la inflamación (Midwood *et al*, 2004; de la Torre & Sholar, 2006).

En los próximos 2 a 10 días de producirse la herida, se efectúa la formación del tejido nuevo a través de la proliferación celular y la migración de diferentes tipos de células, como fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales. En este punto de formación de tejido nuevo, los fibroblastos juegan un papel muy importante (Eming *et al*, 2014; Schmidt & Horsley, 2013). Específicamente, los fibroblastos secretan una serie de factores entre ellos, la matriz metalopeptidasa-14 (MMP-14), factor básico de crecimiento de fibroblastos (FGF  $\beta$ ) y el factor de crecimiento de fibroblastos-9 (FGF-9) para regular la homeostasis del colágeno, angiogénesis y otras funciones importantes que facilitan la cicatrización de las heridas (Upadhyay *et al*, 2014; Zheng *et al*, 2014).

En las próximas 2 a 3 semanas después de la lesión, ocurre el proceso de remodelación del tejido que puede durar un año o más. En este punto, todos los procesos activados a partir de la lesión se reducen y cesan, mientras que las células activadas sufrirán apoptosis. Diferentes células (fibroblastos, macrófagos y células endoteliales) se encargan de secretar metalopeptidasa de matriz para remodelar y fortalecer los tejidos reparados (Gurtner *et al*, 2008; Lovvorn, 1999).

A su vez, en estas etapas se ponen de manifiesto los factores de crecimiento ya que desempeñan una función esencial en los procesos de reparación y regeneración de los tejidos. Entre los factores de crecimiento involucrados en la cicatrización de heridas se encuentra, el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento de fibroblastos (FCF) (Ornitz & Itoh, 2001), el factor transformador del crecimiento-beta (FTC- $\beta$ ) (Werner & Grose, 2003) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Dichos factores de crecimiento son proteínas que estimulan el crecimiento, diferenciación y proliferación celular en el tejido dañado. Además, en el proceso de cicatrización interviene el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), cuya proteína induce el crecimiento de vasos sanguíneos para la oxigenación del tejido lesionado, y a su vez, ello facilita la restauración de la piel traumática.

Estudios recientes han demostrado que el PDGF es un mediador importante en la cicatrización de heridas que juega un papel primordial en casi todas las etapas, ya que estimula el crecimiento, la diferenciación, proliferación, quimiotaxis y supervivencia de las células. El PDGF se almacena principalmente en los gránulos de plaquetas y puede ser sintetizado por **varias** células **diferentes** tipos. Los efectos biológicos de los PDGF se muestran activando los receptores PDGF-a y PDGF-b que son dos receptores tirosinas quinasas estructuralmente relacionados (Midwood *et al*, 2004).

### **Factores que afectan la cicatrización**

El oxígeno es esencial para la actividad de las células y de la ocurrencia de eventos oxidativos durante el curso del proceso de cicatrización. Sin embargo, durante la cicatrización de heridas se producen especies reactivas de oxígeno (ERO) en grandes cantidades por medio de las células inflamatorias. La producción excesiva de ERO conlleva a un daño celular (denominado "estrés oxidativo") caracterizado por la peroxidación de lípidos de membrana, la inactivación de enzimas sulfhidrilo, la reticulación de proteínas y la descomposición del ADN. A su vez, la acción de estas sustancias mediatiza la actividad de la familia de enzimas antioxidantes superóxido dismutasa-SOD, catalasa-CAT y de las no enzimáticas glutatión-GSH, ácido ascórbico-AA). El equilibrio entre oxidantes y antioxidantes es crucial durante la cicatrización de heridas, ya que de esta manera se imposibilita el daño a los componentes vitales de la célula y la contaminación de las heridas por microorganismos (Kalay & **Coskun** 2012).

Existen procesos infecciosos secundarios que afectan la cicatrización debido a la introducción o proliferación de microorganismos en el sitio abierto de la herida. Ello sin duda agudiza y prolonga los eventos inflamatorios, a través de la migración y proliferación de células inflamatorias, producción de citocinas y liberación de ERO. De modo que la eliminación y/o prevención del ataque bacteriano es un eslabón fundamental, para la obtención de una rápida y efectiva cicatrización de las heridas (Scales & Huffnagle, 2013).

Por otra parte, la cicatrización de heridas puede estar afectada por la Diabetes Mellitus, enfermedad crónica que afecta al 9,3% de la población mundial (International Diabetes Federation, 2015). El proceso de cicatrización de heridas en pacientes diabéticos no está completamente dilucidado, pero se considera que estas afectaciones están dadas por la presencia de diversos factores, entre ellos, anomalías en las producciones de citocinas de las células inflamatorias, deteriorada neovascularización, niveles reducidos de factores de crecimiento, síntesis de colágeno, e incrementados niveles de proteinasas. Fundamentalmente, se plantea que entre los mecanismos que conllevan al retraso y deterioro de la cicatrización de heridas en pacientes diabéticos se encuentran, la escasa producción de citoquinas por células inflamatorias locales y fibroblastos y la reducida angiogénesis. Existen evidencias que han demostrado que los pacientes diabéticos tienen una reducción tisular de las concentraciones de factores de crecimiento, notablemente del ~~factor de crecimiento epidérmico (FCE)~~. Esta disminución afecta la cicatrización natural de las heridas y conduce a heridas crónicas que no cicatrizan y a úlceras del pie diabético (UPD), que posteriormente pueden llevar a la amputación de las extremidades. Más de la mitad de los pacientes con UPD tienen también una enfermedad vascular periférica, caracterizada por la alteración de la circulación de la sangre en las extremidades inferiores, que conlleva a una falta de oxigenación del pie (conocido como pie isquémico). Las UPD isquémicas son las más difíciles de tratar y tienen un mayor riesgo de amputación (Berlanga *et al*, 2013).

La desregulación de cualquiera de las reacciones bioquímicas que propician el crecimiento del tejido dañado y la inactividad del sistema antioxidante, origina una curación deteriorada, por ejemplo, úlceras crónicas difíciles de curar o cicatrización excesiva, que conlleva al incremento del uso de medicamentos, limitaciones en la calidad de vida del paciente y a la imposibilidad de su incorporación a la sociedad, lo que ocasiona pérdidas económicas importantes (Chávez *et al*, 2018; Villacrés, 2016).

### Tratamientos

Las terapias empleadas para tratar las heridas de la piel, son muy amplias y varían, según la magnitud de la lesión. Uno de los remedios naturales más antiguos para la curación de heridas es el azúcar (sacarosa), debido a su índice de osmolaridad que contribuye a la reducción rápida del edema local, y a su vez, permite el paso de elementos plasmáticos y aporta calorías al organismo (Vizcaíno *et al*, 2013). ~~Así mismo,~~ se emplean formulaciones a base de miel de abejas (alto contenido de sacarosa), por sus propiedades antibacteriana, antiinflamatoria, antioxidante; además estas formulaciones contribuyen a la granulación, la epitelización y la angiogénesis (Chirife *et al*, 1983). Diversas investigaciones han reportado las evidencias que justifican el uso de plantas medicinales, como la *Psidium guajava* L. (Okamoto, 2010) y la *Morindacitrifolia* L. (Nayak *et al*, 2009) dado su efecto antimicrobiano que favorece a la cicatrización de heridas. Por otro lado, existen terapias encaminadas a la creación del tejido de granulación, que incluyen la utilización de factores de crecimiento, células madre y más recientemente la terapia génica (Berlanga *et al*, 2013).

Actualmente, el medicamento Heberprot-P, constituye una de las terapias más empleadas y certeras para el tratamiento de la cicatrización de heridas del pie diabético, dado los resultados novedosos que ha aportado para la ciencia. Dicho producto contiene factor de crecimiento epidérmico humano recombinante, el cual es administrado mediante infiltración perilesional e intralesional. Específicamente, en pacientes diabéticos se requieren tratamientos que mejoren la cicatrización de estas heridas, con énfasis en la capacidad regenerativa para estimular la actividad de citoquinas y la angiogénesis. (Berlanga *et al*,

2013; Fernández *et al*, 2009). En Cuba, desde hace ya 20 años se dispone del Hebermin, formulación farmacéutica semisólida basada en **factor de crecimiento epidérmico**, útil para estimular la cicatrización de lesiones cutáneas agudas. (Berlanga, 2010).

Otro de los tratamientos ampliamente utilizados en la actualidad, para la cicatrización de heridas tanto del pie diabético, heridas quirúrgicas y otras que cierran por segunda intención, es la ozonoterapia, tanto en forma gaseosa como Mezcla Ozono/Oxígeno (MOO), como en aceites ozonizados (AO) de diferentes orígenes.

### Uso de la mezcla ozono/oxígeno en la cicatrización de heridas

La ozonoterapia se ha utilizado como tratamiento adyuvante en heridas de la piel, especialmente en pacientes diabéticos (Zhang *et al*, 2014) debido a su actividad antimicrobiana y antioxidante (Valacchi *et al*, 2005). El ozono ha sido empleado en la clínica como agente terapéutico en enfermedades inflamatorias agudas y crónicas, así como en quemaduras y úlceras diabéticas. A pesar de sus beneficios, pocos estudios se han centrado en la comprensión de su mecanismo de acción (Elvis & Ekta, 2011), sin embargo, dicho producto se ha utilizado empíricamente durante décadas. Diversos estudios han demostrado que la ozonoterapia incrementa la expresión de varios factores de crecimiento, incluyendo FCEV, TGF- $\beta$  y PDGF (Zhang *et al*, 2014). Además, se ha demostrado que la ozonoterapia favorece la oxigenación y el metabolismo de los tejidos, interfiriendo en el equilibrio oxidante / antioxidante (Travagli *et al*, 2010; Viebahn *et al*, 2012).

Basado en este mecanismo, el ozono es capaz de regular los niveles de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediante la estimulación del sistema antioxidante, lo cual genera un escenario favorable a la recuperación del tejido dañado (Viebahn *et al*, 2012).

Por otro lado, la mezcla ozono/**oxígeno** (MOO) ha sido ampliamente reconocida como uno de los mejores agentes, bactericidas, antiviral y antifúngico (Valacchi *et al*, 2005), por lo que ha sido ampliamente utilizado como agente terapéutico en heridas crónicas, úlceras isquémicas y lesiones en pacientes diabéticos (Martínez *et al*, 2005; Bocci *et al*, 2005). Hasta entonces, se conocía que el efecto beneficioso de la MOO sobre la cicatrización de heridas era debido a la reducción de la infección bacteriana o por el incremento de la oxigenación del tejido del área dañada (Lim *et al*, 2006; Gajen draredd y *et al*, 2005). Sin embargo, es conocido que las exposiciones a la MOO se encuentran asociadas a la activación del factor de transcripción NF- $\kappa$ B; este es un importante regulador de la respuesta inflamatoria y eventualmente de todo el proceso de cicatrización de las heridas (Valacchi *et al*, 2002; Valacchi *et al*, 2005; Janic *et al*, 2005). Se demostró que, grandes cantidades del ~~factor de crecimiento derivado de plaqueta (FCDP)~~ y el FGF- $\beta$ , fueron liberados de las plaquetas del plasma heparinizado de pacientes con miembros isquémicos, después del tratamiento con la MOO (Valacchi & Bocci., 1999). Posteriormente, en otros estudios realizado por Sen *et al*, 2002, se demostró que el peróxido de **hidrogeno** (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) **potencialmente indujo** la expresión del FCEV en queratinocitos humanos, los cuales pueden estimular la cicatrización de heridas.

La acción cicatrizante del ozono fue demostrada en un modelo experimental de heridas punzante en ratas, en el cual se administró dicho producto por vía subcutánea. En este caso se afirmó que a los 7 días de tratamiento hubo formación del tejido de granulación con un número reducido de células inflamatorias, un incremento de fibroblastos y células endoteliales y deposición de colágeno. A su vez se obtuvo que el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF2) se **sobre expresó** en macrófagos y miofibroblastos, lo que podría indicar

una mejora en la cicatrización de heridas mediante la neocolagénesis y reepitelización del tejido. Dicho resultado indica un posible mecanismo de acción, por el cual el ozono podría aumentar la proliferación miofibroblástica, mejorando el proceso de curación de heridas (Soares *et al*, 2019).

Mediante un estudio *in vitro*, se evaluó la citotoxicidad del ozono en líneas celulares fibroblastos (L929) y keratinocitos (HaCat), e igualmente se evaluó su efecto sobre la migración y su actividad antimicrobial. Los cultivos celulares fueron tratados con salina buffer fosfato (PBS) y tratado con ozono a las concentraciones de 8, 4, 2, 1, 0,5 y 0,25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . El Ozono, no fue citotóxico a ninguna de las concentraciones evaluadas, sin embargo, se demostró un incremento significativo de la migración de fibroblastos a la concentración de 8  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de ozono, actividad importante dentro del proceso de cicatrización (Borges *et al*, 2017).

La migración de células es un evento fundamental dentro del proceso de cicatrización, y la migración de fibroblastos es específicamente esencial durante la segunda fase de la cicatrización, cuando el tejido de granulación es formado, y los fibroblastos son reclutados mediante los factores de crecimientos producidos por los macrófagos (Zielins *et al*, 2014). Zhang *et al* 2014, estudiaron la expresión de factores de crecimiento en la biopsia de tejido de paciente con úlceras de pie diabético tratadas con ozonoterapia y detectaron un aumento significativo en la expresión de factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF-  $\beta$ ), FCEV y factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), con respecto al grupo control, así como ~~el acrecentamiento en~~ la reducción del tamaño de la úlcera. Por tanto, un incremento en la migración de fibroblastos, justificada mediante la sobreexpresión de los factores de crecimiento, puede explicar en parte el efecto aditivo de la ozonoterapia en la cicatrización de heridas, los cuales han sido descritos en estudio tanto clínicos como experimentales (Patel *et al* 2011; Zhang *et al*, 2014; Buyuk *et al*, 2015).

### **Aceites ozonizados, evidencias de su acción cicatrizante**

Otros productos naturales transformados químicamente, utilizados como cicatrizantes de heridas, son los aceites ozonizados (AOs), actividad cicatrizante que ha sido demostrado tanto clínica como experimentalmente. La estimulación del proceso de cicatrización por parte de los AOs, se basa fundamentalmente en la activación local de la expresión de factores de crecimiento, la reducción de la infiltración de neutrófilos en el tejido y la estimulación entonces de la formación del tejido de granulación. (Pai *et al*, 2014)

El aceite de girasol ozonizado (AGO) registrado con el nombre comercial (OLEOZON<sup>®</sup>tópico) constituye una mezcla de principios activos (hidroperóxidos, peróxidos, aldehídos, ozónidos) obtenidos a partir de la ozonización parcial del aceite de girasol (Díaz M *et al*, 2001; 2005; 2008; Ledea 2004; 2005). Dicho producto ha mostrado su acción germicida como efecto farmacológico principal mediante diversos estudios (Sechi *et al*, 2001, Curtiellas *et al*, 2005; 2008) y como acciones pleiotrópicas presenta actividad antiinflamatoria tanto en modelo agudo (Zamora *et al*, 2006) como crónico (Zamora *et al*, 2018).

La acción cicatrizante del AGO fue demostrada en la herida punzante en el pabellón de la oreja de ratones como modelo experimental, mediante la reducción de los indicadores morfométricos (diámetro y área de la herida), acompañado de una mayor intensidad en la

migración de células inflamatorias hacia el sitio de la lesión (Sánchez *et al*, 1997; Barroetabeña *et al*, 2002). De esta forma se confirmó que el AGO, en una fase inicial de la cicatrización caracterizada por la migración células inflamatorias (respuesta inflamatoria inicial), favoreció dicha fase. En este caso, se puede inferir que el AGO, tiene una acción pro-inflamatoria, tal como demostró Hiromi *et al*, 2009, al aplicar el aceite de oliva ozonizado (AOO) en la piel de ratones, acción reversible que favorece la fase inicial inflamatoria de la cicatrización, lo cual contribuye al proceso de reparación y regeneración tisular.

Otro de los aceites ozonizados ampliamente estudiado en cuanto a su acción cicatrizante, ha sido el AOO. Las aplicaciones de AOO en un modelo de úlceras en piel de ratones inducidas por presión, inhibió la purulencia y la hemorragia, pero no suprimió la reacción inflamatoria por completo y de esta forma promovió la infiltración de células e indujo la formación del tejido de granulación (Sakazaki *et al*, 2007). Adicionalmente, otra de las acciones descritas para el AOO, fue que redujo la fase supurativa de la herida, sin afectar las fases de la cicatrización.

Otro aspecto importante, del mecanismo de acción mediante el cual los aceites ozonizados reducen el tiempo de cicatrización, es mediante el incremento de la síntesis de colágenos unido a la actividad de la superóxido dismutasa (SOD) (Pai *et al*, 2014). Si se considera en este caso, que durante la etapa inflamatorio del proceso de cicatrización se favorece el estrés oxidativo, por la generación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (quien se encuentra vinculado con la inducción potencial de FCEV en los keratinocitos) (Sen *et al*, 2002), a partir de los tejidos dañados isquémicos y la infiltración de neutrófilos; el incremento de la actividad de la SOD, favorece de forma indirecta la restauración del tejido dañado. Si bien, el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, actúa como un inductor fisiológico de la expresión de factores de crecimiento, en este caso, se describe que el mecanismo de acción cicatrizante del aceite de sésamo ozonizado (ASO), se encontró asociado al incremento de la expresión del FCEV, los niveles del antígeno nuclear de la proliferación celular (ANPC), el factor de transcripción nuclear NF-κB y el 4 hidroxinonenal (4-HNE) como marcador de estrés oxidativo (Valacchi *et al*, 2011).

A su vez, se demostró en un modelo experimental de heridas punzante en ratones diabéticos, que el aceite de semilla de uva ozonizado contribuye a la cicatrización de heridas a través de la inhibición de los mecanismos inflamatorios mediados por el incremento en la actividad antioxidante de las enzimas glutatión y tioredoxina. De esta forma se confirmó que la hipótesis del mecanismo de acción de los AOs basada en la activación del NFκB como marcador de estrés oxidativo, estimula el efecto antiinflamatorio durante la cicatrización de heridas. Dicha fase antiinflamatoria primaria da lugar a la formación de la matriz extracelular mediante la activación y proliferación de fibroblastos y queratinocitos (Valacchi *et al*. 2011; Guerra *et al*, 2017)

Tal como se ha evidenciado, también sustancias ozonizadas como la formulación de crema a base de teobroma ozonizado, incrementó la actividad antioxidante endógeno en la piel de ratas dañada por radiaciones UV (Sánchez *et al*, 2011).

Estudios clínicos realizados en diferentes especies de animales, han demostrado la acción cicatrizante del AGO, tal es el caso de heridas causadas por la castración de crías porcinas (Camps *et al*, 2006a) y en caballos de tiro con lesiones causadas por fricción (Camps *et al*, 2006b).

Por otra parte, la acción cicatrizante del AGO también se acreditó en heridas realizadas de forma experimental en aves domésticas, aseverando la efectividad del producto, incluso en dicha especie (Camps *et al*, 2007)

Otro estudio realizado demostró la efectividad del aceite de andiroba ozonizado (AOA) como cicatrizante de heridas inducidas experimentalmente en piel de caballos. Macroscópicamente se evidenció que el 69,84 % de la lesión fue recuperada con el tratamiento con el AOA. La evaluación histopatológica reveló que el uso del AOA tuvo una avanzada repitelización del tejido lesionado, como consecuencia de la proliferación de fibroblastos, la deposición de colágeno, moderada proliferación vascular y la presencia de infiltrado de células polimorfonucleares (PMN) y discreta presencia de mononucleares (MN) (Araujo *et al*, 2017).

Otro estudio experimental sobre la acción cicatrizante del aceite de camelia ozonizado (ACO), demostró que la aplicación de ACO redujo el diámetro de la herida, mediante el incremento de la expresión de colágeno tipo I,  $\alpha$ -actina del músculo liso ( $\alpha$  SMA), factor de crecimiento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), RNAm, los niveles de proteínas y la migración de fibroblastos. Por otra parte, el ACO incrementó el proceso de transición mesenquimal-epitelial (TME) en los fibroblastos por vía del acrecentamiento de la fibrinectina, v imectin N cadherin, metalopeptidasa de matriz (MMP)-2, MMP-9, insulina como proteína de unión con el factor de crecimiento y decremento de la proteína E-cadherin y la expresión del marcador celular de senescencia p16. El mecanismo molecular, reveló que el ACO, incrementó la fosforilación de fosfatidilinositol 3-quinasa (P13K), proteína quinasa B (Akt) y la diana rapamicina en células de mamífero (mTOR) para regular el proceso de transición epitelial-mesenquimal (TME). Por último, el ACO indicó una reducción significativa de la respuesta de fibroblastos activados con lipopolizacárido (LPS), mediante la reducción de la expresión de factor de necrosis tumoral (FNT) e interleucina 6 (IL6). Resultados que sugieren la acción cicatrizante del AO, mediante el incremento de la migración de fibroblastos y el proceso de TME mediante la vía de señalización P13K/Akt/mTOR *in vivo* e *in vitro* (Xiao *et al*, 2017).

Otras formulaciones a base de AOs, como los geles, han evidenciado también su acción cicatrizante de hueso mandibular después de la extracción de diente en conejos con diabetes mellitus inducido por aloxano. Histológicamente, se evidenció que el grupo tratado con el producto (gel de ozono) incrementó la nueva formación de trabéculas del hueso y la vascularización (Aya *et al*, 2019).

## CONCLUSIONES

El tratamiento con la mezcla Ozono/Oxígeno y las formulaciones de los aceites ozonizados demostraron efectividad para la cicatrización de las heridas de la piel, a través de diferentes mecanismos moleculares, basados en la inhibición de la respuesta inflamatoria, incremento de angiogénesis y activación del sistema antioxidante que contribuye con la restauración de la piel dañada.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aarabi, S., Longaker, M.T., & Gurtner, G.C. (2007). Hypertrophic scar formation following burns and trauma: new approaches to treatment. *PLoS Med*, 4, e234.
- Araujo, L.A., Teixeira, F.A., Lacerda, T.F., Flecher, M.C., Souza, R.V. & Coelho, C.S. (2017). Effects of topical applications of pure and ozonized andiroba oil on experimental induced wounds in horses. *Braz J. Vet Res Anim. Sci. SP*, 54 (1), 66-74
- Armstrong, D.G., & Lipsky, B.A. Diabetic foot infections: stepwise medical and surgical management. *Int Wound J*. 2004 Jun;1 (2):123-32.
- Aya, S.A., Gehan, M. E. & K hadiga, Y.K. (2019). Evaluation of topical ozone therapy on socket healing in rabbits with induced diabetes mellitus. *Alexandria Dental Journal* 44, 20-24.
- Barroetabeña, A. R., Sánchez, A. A. , & Guerra, J. M. (2002). Acción del aceite ozonizado sobre el proceso inflamatorio en heridas de piel de animales de experimentación. *Correo Científico Médico de Holguín*, 6 (2).
- Berlanga, A.J (2010). Heberprot-P: antecedentes experimentales y bases farmacológicas. *Bioteología Aplicada*, 2010;27:81-87
- Berlanga, A.J., Valdéz, P.C , Gutiérrez, S.W., Mendoza, M. Y, Pérez N.A., Vargas-Machiran, E., Poll-Marrón N *et al.* (2010). Particularidades celulares y moleculares del mecanismo de cicatrización en la diabetes. *Biotechnolapl*, 27 (4)255-261. issn 1027
- Berlanga, A. J., Fernández J I, López E, López P A., del Río A, Valenzuela C, et al. (2013). Heberprot-P: un nuevo producto para el tratamiento de las úlceras complejas del pie diabético. *MEDICC Review. Selecciones* 2013.
- Borges, GA., Elias, S.T., da Silva, SM., de Oliveira, MP., Macedo, B.S., Ribeiro, DA,P. & Guerra ENS (2017). In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy, *Journal of Cranio-Maxillofacial Sugery* doi:10.1016/j.jcms.2017.01.005
- Bocci, V., Monte A. & Van der Zee H (2005). Ozone: a new medical drug. Dordrecht: Major ozonated autohemotherapy in chronic limb ischemia with ulcerations. *J Altern Complement Med*. vol. 11, p.363-367.
- Buyuck, SK., Ramoglu, S.I & Sonmez, M.F (2015). The effects of different concentrations of topical ozone administration on bone formation in orthopedically expanded suture in rats. *Eur J Orthod* 2015, doi 10.1093/ejo/cjv045.
- Camps, A.M.R., Fernández, E.C.B., Denis, R. & Labrada, A (2006). El Oleozón, una nueva perspectiva de tratamiento en la Medicina veterinaria. *Revista Electrónica de Veterinaria*. vol. VII, N° 10. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101006.html> a.
- Camps, A.R., Claro, G.J., Cuesta, G.A. (2006). Aplicación tópica del Oleozón como alternativa de tratamiento en lesiones causadas por fricción en caballos de tiro, considerando algunos indicadores hematológicos. *REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria*, vol. VII, no. 12: 1695-7504. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101206.html> b.
- Camps, A.M., Navil, J., Benítez, H.R., Fernandez, E.C.B (2007). Determinación del efecto cicatrizante del oleozón en aves domésticas considerando algunos indicadores hematológicos. Monografías. com.
- Chávez, I.G., Casanova M.C., Socarrás, L.C., Sánche, S.M & Gómez, G.B. (2018). Costos de la atención en un Centro de Atención al Diabético de Pinar del Río. *Rev Ciencias Médicas*; 22(4): 64-74. [http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-31942018000400009&lng=es](http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942018000400009&lng=es)
- Chirife, J., Herrszage, L., Joseph, A & Kohn, E. (1983). In vitro study of bacterial growth inhibition in concentrated sugar solutions: microbiológica l basis for use of sugar in treating infected wounds. *Antimicrob Agents Chemother.*; 23:766-73.

- Curtiellas, V., Gómez, M., Ledea, O., Fernández, I., Sánchez, E (2005) . Actividad antimicrobiana del Oleozón® sobre Staphylococcus aureus y Pseudomonasa eruginosas. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*.36 (2).
- Curtiellas, V., Ledea, O., Rodríguez, S., Ancheta, O., Echevarría, M., Sánchez E., Fernández, I (2008). El Oleozón ® sobre la viabilidad, la permeabilidad celular y la ultra estructura de Staphylococcus aureus. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*,39( 2) p. 128-131.
- De la Torre, J. & Sholar, A. (2006). Wound healing: Chronic wounds. Emedicine.com.
- Díaz, M., Lezcano, I., Molerio. J.& Hernández, F (2001). Spectroscopic characterization of ozonides with biological activity. *Ozone-SciEng*; 23(1):35-40.
- Díaz, M., Gavín, J., Ledea, O., Hernández, F., Alaiz, M.&Garcés R (2005). Spectroscopic Characterization of Ozonated Sunflower Oil. *Ozone Science and Engineering*; 27 (3): 247-253.
- Díaz, M. (2008). Structural characterization by Nuclear Magnetic Resonance of ozonized triolein. *Grasas y Aceites*59 (3).
- Elvis, A.M., & Ekta, J.S. (2011). “Ozone Therapy: A Clinical Review.” *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine* 2 (1): 66–70.
- Eming, S.A., Martin, P. & Tomic-Canic, M (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Sci. Transl. Med.* 6,265sr6.
- Experts Review in Molecular Medicine (2003). The phases of cutaneous wound healing. 5:1. *Cambridge University Press*. Accessed January 20, 2008.
- Fernández, J., Berlanga, J., López, P.A., López, E., Herrera, L.S., Yera, I.B., et al (2009). Infiltración del Heberprot-P. Un tratamiento eficaz para la úlcera del pie diabético. La Habana: *Elfos Scientiae*; 2009:1-106.
- Gajendrareddy, P.K., Sen, C.K., Horan, M.P. & Marucha, P.T (2005). Hyperbaric oxygen therapy ameliorates stress-impaired dermal wound healing. *Brain Behav Immun*, vol. 19, p. 217-22.
- Guerra, B. P. ,Poznyak, T., Pérez, A.,. Gómez, M.Y., Gómez, M. E., Bautista, R.&Chairez, I. (2017). Ozonation Degree of Vegetable Oils as the Factor of Their Anti-Inflammatory and Wound-Healing Effectiveness. VOL. 39, NO. 5, 374–384. <https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1335185>.
- Gurtner, Geoffrey C., Werner, Sabine., Barrandon, Y.&Longaker M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*453, 314–321.
- Gregor, S., Maegle, M., Sauerland, S., Krahn, J.F., & Peinemann F, Lange, S. Negative pressure wound therapy: a vacuum of evidence? *Arch Surg*. 2008 Feb;143 (2):189–96.
- Hiroimi, K., Masanori, S., Humitoshi, H., Nakamuro, K., Tadashi, Y., Seiichi, H., Keiko, T., et al (2009). Proinflammatory Event of Ozonized Olive Oil in Mice. *Ozone: Science & Engineering* , 31: 238–246.
- International Diabetes Federation (IDF) (2015). Atlas IDF. The global pictures. The IDF Diabetes Atlas. 7th. ed. *Brussels*: IDF; p. 50-1.
- Janic, B., Umstead, T.M., Phelps, D.S. & Floros, J. (2005). Modulatory effects of ozone on THP-1 cells in response to SP-A stimulation. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, vol.288, p. L317-25.
- Kalay, Z & Coskun, C.S. (2012) Oxidant and antioxidant events during epidermal growth factor therapy to cutaneous wound healing in rats. *Int Wound J* 9(4):362–371.
- Ledea, O.E (2004). Estudio de la composición química del aceite de girasol ozonizado OLEOZON®. *Revista CENIC Ciencias Químicas*; 35 (1): 33-34.
- Ledea, OE., González, M., Hernández, C., López, A., Moleiro, J. & Rosado, A. (2005). Validación de un método espectrofotométrico para la determinación del contenido de aldehídos en el aceite de girasol ozonizado (OLEOZON®). *Revista CENIC Ciencias Químicas*; 36 (3):149-155.

- Lim, Y., Phung, A.D., Corbacho, A.M., Aung, H.H., Maioli, E., Reznick, J. (2006). Modulation of cutaneous wound healing by ozone: differences between young and aged mice. *ToxicolLett*, vol. 160, p.127-34.
- Lovvorn, III, Cheung. D T., NimniM E., PerelmanN., EstesJ M. & Adzick N S (1999). Relative distribution and crosslinking of collagen distinguish fetal from adult sheep wound repair. *J. Pediatr. Surg.* 34,218–223.
- Martin, P. & Leibovich, S.J. (2005) Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *TrendsCell Biol.* 15, 599–607
- Martin, P., D'Souza, Deana., Martin, J., Grose R., Cooper, L., Maki., R. & McKercher., S.R.(2003). Wound healing in the PU.1 null mouse—tissue repair not inflammatory cells. *Curr. Biol.* 13, 1122–1128
- Martínez, SG, Al-Dalain, S. M., Menéndez, S.C., Re, L., Giuliani, A., Candelario, J. E., (2005). Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol*, vol. 523, p.151-161.
- Midwood, K.S., Williams, L.V. & Schwarzbauer, J.E. (2004). Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36 (6): 1031-1037.
- Nayak, B.S., S. Sandiford, & Maxwell, A. (2009). Evaluation of the wound-healing activity of ethanolic extract of *Morinda citrifolia* L. leaf. Evidence-Based Complement. *Altern. Med.*, 6: 351-356
- Okamoto, K.H (2010). Estudio das atividades cicatrizante e antimicrobiana do extrato glicólico e do gel de *Psidium guajava* L. e estudo da estabilidade do gel. (Tesis inédita de maestría). Universidade de Sao Paulo, Brazil.
- Ornitz DM & Itoh Nobuyuki (2001). Fibroblast growth factors. *Genome Biology*. Vol 2 (3).
- Pai, S.A., Gagangras, S.A., Kulkarni, S.S., Majumdar A, S. (2014). Potential of ozonated sesame oil to augment wound healing in rats. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 76, no. 1, p. 87-92.
- Patel, PV., Kumar, V., Kumar, S., Gud, V. & Patel, A. (2011). Therapeutic effect of topical ozonated oil on the epithelial healing of palatal wound sites: a planimetric and cytological study, *J. Investg Clin Dent* 2011, 2, 248-258.
- Sakazaki Hisanori, Koichiro Niwa, Shigeyuki Echigo, Teiji Akai & Makoto Nakazawa (2007). Predictive factors for long-term prognosis in adults with cyanotic congenital heart disease Japanese multi-center study. *International Journal of Cardiology* 120 (2007) 72–78
- Sánchez, AA, Díaz PR, Rodríguez GG, Leyva ES, Díaz ES, Borrego LP. (1997) Acción del aceite ozonizado sobre la cicatrización de heridas de piel en animales de experimentación. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 29 (3):181-183.
- Sánchez, Y., Diaz, M.F., Hernández, F., Gil, D. & Garcia, G. (2011). Antioxidant effects of an ozonized theobroma oil formulation on damaged-inflammatory rat skin. *Grasas y aceites*; 62 (1), 105-110.
- Scales, B.S. & Huffnagle, G.B (2013) The microbiome in wound repair and tissue fibrosis. *J Pathol.* 229: 323–331.
- Schmidt, B.A. & Horsley, V. (2013) Intradermal adipocytes mediate fibroblast recruitment during skin wound healing. *Development* 140, 1517–1527.
- Sechi, L.A., Lezcano, I., Nunez, N., Espin, M., Dupre, I., Pinna, A. & Molicotti, P., (2001). Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozon). *J Appl Microbiol*, vol. 90, p.279-84.
- Sen, C. K., Khanna, S., Babior, B. M., Hunt, T. K., Ellison, E. C., Roy, S (2002). Oxidant-induced vascular endothelial growth factor expression in human keratinocytes and cutaneous wound healing. *J Biol Chem*, vol. 277, p. 33284-33290.

- Soares, C., D, Thayná, M.L. Morais, R.M., Araújo, G., Meyer. P.F, Eric, A.F. Oliveira, R.M. *et al* (2019). Effects of subcutaneous injection of ozone during wound healing in rats. *Growth factors*. <https://doi.org/10.1080/08977194.2019.1643339>
- Travagli, V., I. Zanardi, P. Bernini, S. Nepi, L. Tenori, and V. Bocci(2010). “Effects of Ozone Blood Treatment on the Metabolite Profile of Human Blood.” *International Journal of Toxicology* 29 (2): 165–174.
- Upadhyay, A., Chattopadhyay Pronobesh., Goyary Danswring., Mitra Mazumder P. & Veer Vijay (2014). *Ixoracoccinea* enhances cutaneous wound healing by upregulating the expression of collagen and basic fibroblast growth factor. *ISRN Pharmacol.* 2014, 751824
- Valacchi, G. & Bocci, V. (1999). *Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets. MediatInflamm*, vol.8, p.205-209.
- Valacchi, G., Van der, Vliet, A., Schock, B.C., Okamoto, T., Obermuller- Jevic, U., Cross, C.E. & Packer, L. (2002) .Ozone exposure activates oxidative stress responses in murine skin. *Toxicology.*, vol.179, p.163-170.
- Valacchi. G., Fortino, V. & Bocci, V. (2005). The dual action of ozone on the skin. *BrJ Dermatol*, vol.153, p.1096-1100.
- Valacchi, G., Y. Lim, G. Belmonte, C. Miracco, I. Zanardi, V. Bocci, & V. Travagli (2011). “Ozonated Sesame Oil. Enhances Cutaneous Wound Healing in SKH1 Mice.” *Wound Repair and Regeneration* 19 (1):107–15. doi:10.1111/j.1524-475X.2010.00649.x.
- Viebahn-Haensler, R., León Fernandez O. S., & Z. Fahmy (2012). “Ozone in Medicine: The Low-Dose Ozone Concept—Guidelines and Treatment Strategies.” *Ozone: Science&Engineering* 34 (6): 408–424.
- Villacrés, N. (2016). Análisis del financiamiento de la atención a enfermedades crónicas no transmisibles; 41(1): 185-194. [http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/CIENCIAS\\_MEDICAS/issue/view/45](http://revistadigital.uce.edu.ec/index.php/CIENCIAS_MEDICAS/issue/view/45)
- Vizcaíno, M.C., Alarcón, I.A., Sebazco, C.P. & Maceira, M.A. (2013). Importancia de la sacarosa para la cicatrización de heridas infectadas. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 42(1):49-55.
- Werner, S. & Grose, R (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol. Rev*, 83,835–870.
- Wieman, T.J., Smiell, J.M., & Su, Y. Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers. A phase III randomized placebo-controlled double-blind study. *Diabetes Care*. 1998 May;21 (5):822–7.
- Xiao, W., Tang, H., Wu, M., Liao, Y., Li, K., Li, L. & Xu, X. (2017). Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Bioscience Reports* 37BSR20170658. Doi.org/10.1042/BSR20170658.
- Zamora, Z., González, Y.C. & Ledón, N. (2006). Effect of Ozonized sunflower oil on Myeloperoxidase activity in the model of ear oedema in mouse. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*, Vol VII, No 12.
- Zamora, Z, Molina, V., Mena, L. & Ledea, O.L. (2018). Efecto del aceite de girasol ozonizado y su formulación en crema sobre la formación del granuloma. *.Rev. CENIC Cienc. Biol.*; 49(3): 1-12. e-ISSN: 1221-245.
- Zhang, J., Guan, M., Xie, C., Luo, Q., & Xue, Y. (2014). “Increased Growth Factors Play a Role in Wound Healing Promoted by Noninvasive Oxygen-Ozone Therapy in Diabetic Patients with Foot Ulcers.” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2014: 273475.
- Zheng, Z., Young Kang H., Lee Sunha, Wook Kang S., Goo Boncheol, Bin Cho S (2014). Up-regulation of fibroblast growth factor (FGF) 9 expression and FGF-WNT/beta-catenin signaling in laser-induced wound healing. *Wound Repair Regen.* 22, 660–665.

Zielins, E.R., Atashroo, D.A., Maan, Z.N., Duscher D., Walmsley, G.G., Hu, M., Senarath-YapaK. et al (2014). Wound Healing: an update. *Regen Med* 2014, 9:817-830.