



info@aepromo.org

www.aepromo.org



info@isco3.org

www.isco3.org

Diplomado Ozonoterapia y Factores de Crecimiento Ozonizados.

Doc: Ozonoterapia en el cáncer

Versión: Castellano

OZONOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO COMPLEMENTARIO DEL CÁNCER **Revisión temática para Revista Electrónica Aepromo.**

Dr. Froylán Alvarado Güémez

Presidente de la Asociación Mexicana de Ozonoterapia A.C.

Director Médico de Ozonoterapia México S.A. de C.V.

Profesor Titular del Programa de Entrenamiento en Ozonoterapia. Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Sinaloa.

Dra. Vivian Borroto Rodríguez

Especialista en Medicina Familiar

Máster en Medicina Bioenergética y Natural

Luisa B. Lima Hernández*

Lic. Bioquímico

Especialista en Nutrición Humana

Máster en Medicina Bioenergética y Natural

Investigadora Titular y Profesora

La palabra cáncer deriva del latín, y como la derivada del griego *karkinos*, significa 'cangrejo'. Se dice que las formas corrientes de cáncer avanzado adoptan una forma abigarrada, con ramificaciones, que se adhiere a todo lo que agarra, con la obstinación y forma similar a la de un cangrejo marino, y de ahí deriva su nombre.⁽¹⁾

Cáncer es un término muy amplio que abarca más de 200 tipos de tumores malignos. Cada uno de ellos posee unas características particulares, que en algunos casos son completamente diferentes al resto de los otros cánceres, pudiendo considerarse enfermedades independientes, con sus causas, su evolución y su tratamiento específico¹.

El cáncer es una condición común y es un problema grave de salud. Se estima que 7,6 millones de personas en el mundo murieron de cáncer en 2007. Una de cada cuatro personas muere de cáncer. Puede afectar a personas de todas las edades, incluso los fetos, pero el riesgo para la mayoría de las variedades aumenta con la edad. El cáncer causa cerca del 13% del total de defunciones. Según la Sociedad Americana del Cáncer, 7,6 millones de personas murieron de cáncer en el mundo durante 2007 ^{1,4}.

La evolución de cada cáncer está sujeta a múltiples factores que van a interactuar entre sí. Estos factores varían dependiendo tanto del tumor como del paciente. Entre estos últimos destacan factores hereditarios, obesidad y sedentarismo.^{1,4}

EPIDEMIOLOGÍA:

El cáncer es la segunda causa principal de muerte, detrás de las enfermedades cardíacas. Sin embargo, las muertes por enfermedades cardiovasculares están disminuyendo, mientras que las muertes por cáncer están aumentando. Se estima que a lo largo del siglo XXI, el cáncer será la principal causa de muerte en los países desarrollados¹.

CARCINOGENÉISIS:

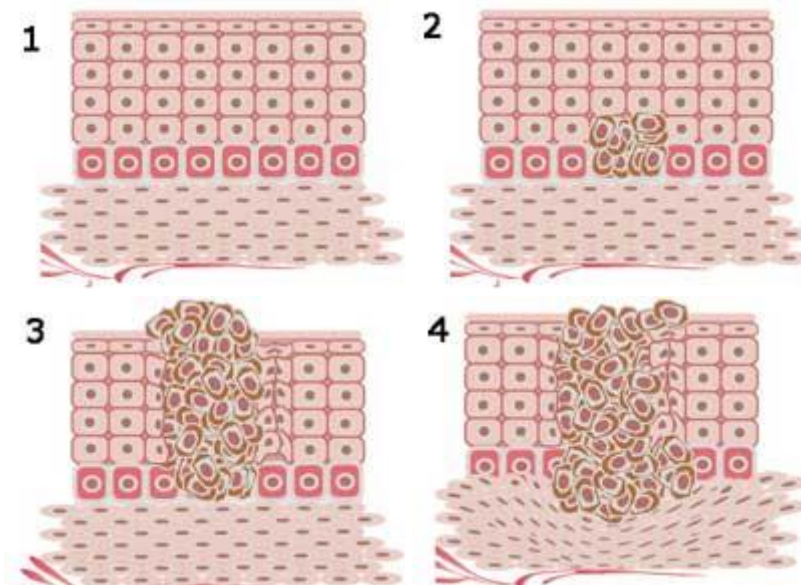
Es un proceso que se desarrolla durante largos años desencadenado por sustancias responsables de producir esta transformación se llaman **agentes carcinógenos**.

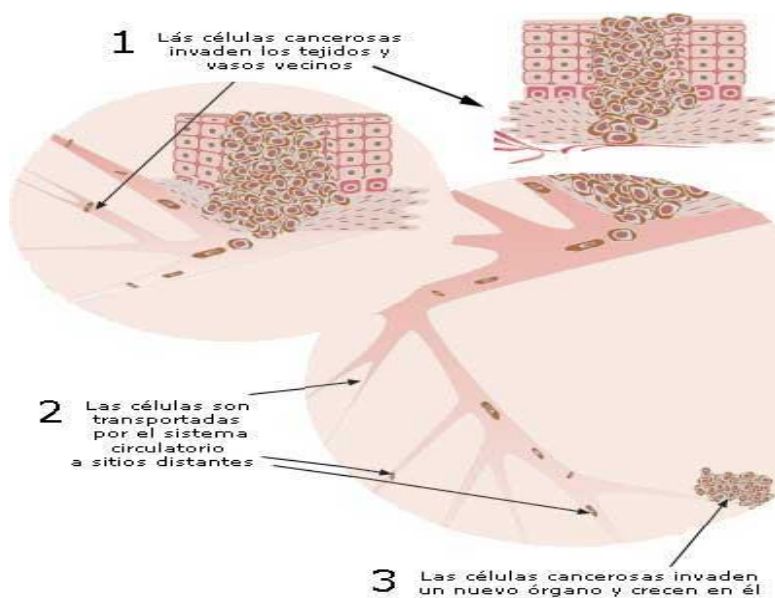
Básicamente consta de 3 estadios: Iniciación, Promoción y Progresión.

1. **Iniciación:** ocurren mutaciones del ADN, que inician el proceso, pero insuficientes para producir un cáncer. Solamente existen cambios reversibles a nivel molecular, permaneciendo los tejidos normales.
2. **Promoción:** Si sobre las células iniciadas actúan de nuevo y de forma **repetida**, los agentes carcinógenos, la multiplicación celular comienza a ser más rápida y la probabilidad de que se produzcan nuevas mutaciones aumenta. A esto se le llama **fase de promoción** y las células involucradas en esta fase se denominan **células promocionadas**. Actualmente conocemos muchos factores que actúan sobre esta fase, como el tabaco, la alimentación inadecuada, el alcohol, etc...

Las células iniciadas y promocionadas sufren nuevas mutaciones. Cada vez se hacen más anómalas en su crecimiento y comportamiento. Adquieren la capacidad de invasión, tanto a nivel local infiltrando los tejidos de alrededor, como a distancia, originando las metástasis.

3. **Progresión:** En esta fase, las células iniciadas y promocionadas sufren nuevas mutaciones. Cada vez se hacen más anómalas en su crecimiento y comportamiento. Adquieren la capacidad de invasión, tanto a nivel local infiltrando los tejidos de alrededor, como a distancia, originando las metástasis 4.





Para que se produzca un cáncer es necesario que de forma acumulativa y continuada se produzcan alteraciones celulares durante un largo periodo de tiempo, generalmente años.

Como resultado las células están aumentadas en su número, presentan alteraciones de forma, tamaño y función y poseen la capacidad de invadir otras partes del organismo²

AGENTES CANCERÍGENOS:

La carcinogénesis consiste en la transformación de las células normales en células malignas. Un carcinógeno es una sustancia que puede producir alteraciones en la **estructura** y función de una célula que den lugar a un cáncer.

La **potencia** y la dosis del carcinógeno desempeñan un papel importante en el **desarrollo** de la neoplasia maligna. Aunque la controversia es grande, la mayoría de los autores coinciden en que la carcinogénesis es un **proceso** complejo que afecta a muchos estadios provisionales a medida que la célula va sufriendo la transformación. Los factores ambientales y la forma de vida pueden estar relacionados con la mayoría de las neoplasias malignas. Además, hay otros muchos factores del huésped que afectan a la sensibilidad que tienen la célula hacia los cambios carcinogénicos³.

Entre los carcinógenos más conocidos destacan; humo del cigarro, amianto, estrógenos, grasa alimentaria, bebidas alcohólicas, ingesta calórica desequilibrada y agentes ambientales como hidrocarburos halogenados y asbestos.⁴

Otras causas conocidas de cáncer son la exposición a radiaciones, enfermedades infecciosas entre las que destacan infecciones bacterianas como en el caso del helicobacter pilori y más comúnmente diversas enfermedades virales asociadas con el Virus de Epstein Barr (EVB), el

virus de las hepatitis B y C (HBV y HCV), el herpes-virus humano 8 HHV8, el virus del papiloma humano (HPV), el virus simiano 40 (SV 40) y el virus humano T linfotrópico (HTLV-1).⁴

ONCOGENES Y CÁNCER:

El cáncer es conocido por afectar a dos genes conocidos como:

- * Oncogén
- * Gen supresor tumoral

El oncogén se encarga de alentar el crecimiento celular. El cáncer parece ser la causa de que el oncogén entre en 'suspensión' de modo que las células crecen y se multiplican a un ritmo más rápido. El cáncer también desactiva el gen supresor tumoral. Este gen está diseñado para regular el crecimiento celular y asegura que las células se reproduzcan sólo cuando es necesario.

La combinación del oncogén hiperactivo, y el gen supresor de tumores desactivado significan que el cáncer puede crecer rápidamente y extenderse a otras partes del cuerpo, generalmente a través del sistema linfático.⁴

ESTRÉS OXIDATIVO Y CÁNCER^{5, 6}

Se define estrés oxidativo como el desbalance entre la producción de Especies Reactivas de Oxígeno superando la capacidad antioxidante celular, provocando daño oxidativo, relacionado directamente tanto agudo como crónico, incluyendo incremento en la proliferación celular. Este estímulo puede resultar en la formación de células preneoplásicas y/o, daño irreparable al ácido desoxirribonucleico (ADN), mutaciones y neoformaciones celulares con expansión clonal⁵

El cáncer es un fenómeno de etapas y funciones múltiples, en el cual se han delineado 3 estados para el desarrollo de la patología, que son inicio, promoción y progresión, y en todas ellas los radicales libres y Especies Reactivas del Oxígeno juegan un papel muy importante⁶.

Inicio del proceso neoplásico

Actualmente es bien conocido que la evolución celular a la neoplasia comprende la alteración secuencial de oncogenes y/o genes supresores de tumores, cuyos productos proteínicos participan críticamente en las vías de transducción de señales y en la regulación de la expresión génica, sobre todo de las proteínas encargadas del mantenimiento celular, reparación del ADN y regulación de la apoptosis, entre otras.

Una de las consecuencias del daño oxidativo a los nucleótidos es la generación de una mutación o bien, la alteración en la expresión de un gen; por esta razón, la célula tiene sistemas que le permiten por un lado prevenir que el daño ocurra, y por otro, una reparación

rápida y eficaz. Sin embargo, una frecuencia elevada en el daño oxidativo de los nucleótidos libres o en el ADN hace que los sistemas de protección fallen⁶.

Estos daños ocasionan mutaciones, y estas activan los oncogenes, y producen la inactivación de genes supresores de tumores, y en consecuencia, el inicio de la neoplasia o el tumor. La etapa de inicio es resultado tanto de una lesión persistente en el ADN como de una remoción deficiente de estas lesiones por los sistemas de reparación, antes del inicio de la síntesis del material genético en la etapa S (síntesis) del ciclo celular, lo que genera la introducción de las alteraciones mutagénicas en el ADN de las células recién generadas. Así, el proceso carcinógeno surge de la omisión en la reparación de las bases dañadas o como consecuencia de una serie de eventos genéticos de eliminaciones o translocaciones asociadas con rupturas de cadenas del material genético que no fueron reparadas. Las translocaciones están asociadas al inicio de varias neoplasias en humanos a través de la activación de oncogenes. Uno de los ejemplos más estudiados es el linfoma de Burkitt, donde el oncogén *myc* es activado por una translocación entre el cromosoma 2 y 8. Otros ejemplos de oncogenes asociados al inicio de neoplasias por translocación o eliminación son *N-ras*, *Ha-ras*, *myb*, *sis*, *abl*, implicados en patologías como neuroblastoma, cáncer mamario y varios tipos de leucemias.

Las especies altamente reactivas como el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$), causan oxidación en el ADN, mientras que el Peroxinitrito (ONOO^-) causan tanto oxidación como nitración de las bases nitrogenadas. La vida media del radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) es muy corta, por lo que todavía es un enigma el mecanismo exacto por el cual este radical llega hasta el ADN. Necesariamente tendría que generarse cerca del ácido nucleico para lograr oxidarlo, mientras que el Peroxinitrito (ONOO^-) difunde con facilidad en las membranas, por lo que resulta más comprensible su efecto sobre las bases nitrogenadas, esto aunado a que es una de las principales especies reactivas generadas en procesos inflamatorios.

Uno de los principales estudios que demostraron que los radicales libres dañan al ADN proviene de la observación de que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en presencia de sulfato de hierro, induce fragmentación de los cromosomas, desde entonces se ha estudiado la interacción de los radicales libres no sólo con el ADN, sino también con las proteínas, los lípidos y el ácido ribonucleico (ARN), entre otras biomoléculas. Básicamente, la modificación oxidativa de estas moléculas genera la desregulación de la homeostasis celular, lo que deriva en carcinogénesis; de hecho, la presencia de aductos del ADN como la 8-dehidro-2'-desoxiguanosina (8OHdG), están considerados como biomarcadores de daño oxidativo y de carcinogénesis debido a su alta mutagenicidad en células humanas. Se han reportado modificaciones oxidativas en prácticamente todos los nucleótidos, tanto polimerizados en ácidos nucleicos, como en sus formas monoméricas libres. Se ha visto que la transversión $\text{GC} \rightarrow \text{TA}$ se relaciona con la presencia de 8-dehidro-2'-desoxiguanosina (8OHdG) en la presencia de oncogenes como *ras* y en genes supresores de tumores como p53 tanto en cáncer hepático como de pulmón. Algunos autores han propuesto que la simple presencia de 8OHdG en el ADN es suficiente para propiciar la formación de tumores⁶.

Promoción de tumores⁶

Una vez que se ha iniciado la modificación oxidativa del ADN, los radicales libres toman mayor relevancia, como moduladores de la promoción de los tumores.

Básicamente la promoción consiste en la activación de las vías de señalización que controlan la proliferación, ciclo celular, apoptosis o la síntesis de proteínas de protección, como las proteínas antioxidantes, o las proteínas de choque térmico. Varios agentes promotores de tumores regulan estas vías, entre ellos están las especies reactivas de oxígeno, como los productos de la lipoperoxidación como el malondialdehído (MDA) o el 4-hidroxinonenal (4-HNE), entre otros metabolitos.

El mecanismo molecular por el cual los radicales libres inducen la promoción de tumores no se conoce con exactitud. Se han postulados mecanismos tanto genéticos, como epigenéticos. La inducción de un estado celular prooxidante permite la expresión alterada de genes o la deficiente actividad de varias proteínas de señalización debido a una modificación oxidativa en sus grupos sulfhidrilos, los cuales se ubican principalmente en los centros catalíticos, todo esto conduce a un fenotipo celular alterado⁶.

Como ejemplo de lo anterior, se puede mencionar a la proteína c cinasa (PKC), la cual media la activación de varias vías involucradas en la proliferación, diferenciación y transformación oncogénica. La proteína c cinasa (PKC) puede ser regulada por la oxidación directa de las cisteínas en su centro catalítico; de hecho, este efecto ocasiona que la cinasa sea activada sin el requerimiento fisiológico de calcio (Ca^{2+}) o de fosfolípidos. Por otro lado, se ha reportado que el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) induce la redistribución de proteína c cinasa (PKC), lo que modifica sustancialmente su función normal. Otras proteínas que reciben modificación directa de las especies reactivas de oxígeno y que influyen en la progresión de tumores son *c-jun* y *c-fos*, ambas componentes del factor de transcripción AP-1, el cual regula la expresión de genes relacionados en la proliferación celular. De hecho, el AP-1 ha sido considerado como uno de los factores de transcripción seriamente modificados en varios tipos de cáncer⁴.

Otro factor de transcripción regulado por las especies reactivas de oxígeno y con gran repercusión en el cáncer es el factor nuclear KB (NF- KB), el cual regula la expresión de varias proteínas involucradas en las vías de supervivencia y muerte. Se ha observado en varios tipos de cáncer una actividad incrementada del factor nuclear KB (NF- KB), generando un aumento de la síntesis de proteínas antiapoptóticas, como son Bc1-2 y FLIP, entre otras. Es bien sabido que la activación de este factor de transcripción es el responsable de la resistencia a terapias anticáncer en varios tipos de tumores, lo que ha puesto al NF- KB como uno de los principales blancos para el control molecular del cáncer.

En gran medida, la promoción y progresión de tumores por las especies reactivas de oxígeno depende de la activación de los sistemas endógenos de generación de estas especies reactivas, como la NADPH oxidasa, óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS), Xantina oxidasa, y la cadena respiratoria mitocondrial. Existe suficiente evidencia experimental de la participación de estas enzimas en los procesos cancerígenos.

La mayoría de los sistemas enzimáticos productores de radicales libres están regulados por las vías de señalización que los activan o los inhiben según los requerimientos fisiológicos⁶.

Además de los sistemas antes mencionados existen otras vías endógenas que también pueden generar especies reactivas de oxígeno. El sistema de las ciclooxigenasa (COX) está formado por 3 enzimas que catalizan la transformación del ácido Araquidónico en prostaglandina H₂, la cual es al mismo tiempo la molécula precursora de otras prostaglandinas, lo que pone a las COX como enzimas fundamentales en los procesos inflamatorios, sobre todo la isoforma inducible COX-2. En estudios recientes se ha corroborado la participación de la COX en la carcinogénesis, por ejemplo, la inhibición de la COX-2 suprimió la poliposis intestinal, que permite el desarrollo de cáncer de colon. Otro estudio llevado a cabo, en ratones genéticamente modificados deficientes de COX-1 y COX-2 mostró una reducción en la diferenciación epidérmica y en la promoción de tumores de piel⁷.

Por otra parte, la iNOS produce cantidades micromolares de óxido nítrico (NO^{*}) y se ha demostrado que es una enzima involucrada también en procesos carcinógenos mediados por inflamación crónica. En la actualidad existe cierta controversia sobre el papel que juega el óxido nítrico (NO^{*}) en los procesos carcinógenos, esto debido a que los efectos del óxido nítrico (NO^{*}) dependen de su concentración, de la interacción con otros radicales libres, metales y proteínas, así como del tipo celular, y de los blancos genéticos que suele afectar. Si bien para muchos investigadores está claro el papel del NO^{*} en procesos angiogénicos, los cuales son fundamentales para la progresión de tumores, este radical libre también puede dañar directamente al ADN por un lado, y al mismo tiempo presentar protección contra citotoxicidad, inhibir o promover la proliferación celular, y puede ser proapoptótico o antiapoptótico. Esto hace que los resultados experimentales de la función del NO^{*} en carcinógenos se evalúen con extremo cuidado debido a la ambigüedad de las funciones que despliega⁶.

Aún así la evidencia experimental obtenida en ratones deficientes de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) muestra una clara correlación positiva en la promoción y progresión de tumores. Estos ratones presentaron mayor resistencia al daño en colon inducido por triclorobenceno y una menor letalidad, reduciendo la modificación postraduccional de proteínas como la formación de nitrotirosinas, así como la formación de malonaldehído (MDA) y otros productos de la lipoperoxidación. Al someter a estos ratones animales a una dieta con dextran sulfato de sodio, lo cual genera inflamación en colon y cáncer, se encontró que mostraron menos signos y síntomas de colitis comparados con el grupo control. Por otro lado la inoculación con células de melanoma B16-F1 desarrolló menos tumores que el grupo control, lo que dejó claro la participación de óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) en la progresión de tumores⁶.

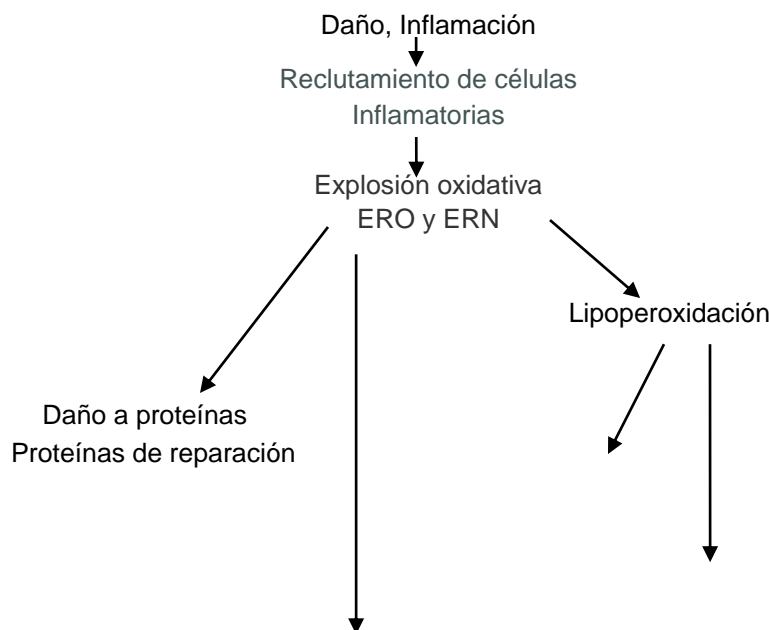
Progresión de tumores

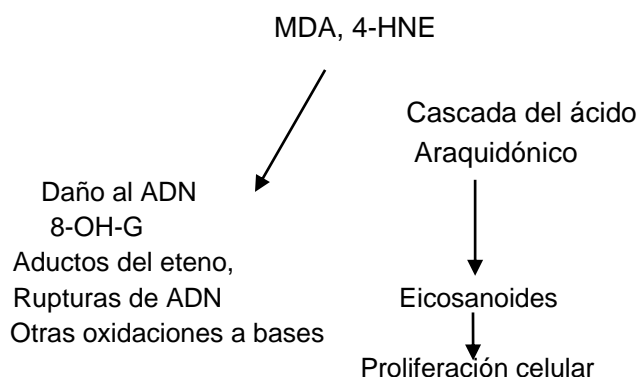
Durante el evento de progresión siguen presentes varios de los eventos que se presentaron en la etapa de promoción, pero de manera exacerbada. Las especies reactivas de oxígeno ahora tienen un efecto a nivel del genoma, induciendo el rearrreglo de los oncogenes que fueron inicialmente mutados, lo que permite la progresión del tumor. Se ha observado que el tratamiento con antioxidantes como glutatión (GSH) o disulfiram inhiben la progresión maligna de papilomas a carcinoma escamoso invasivo, en modelos murinos de cáncer de piel. Por otro lado, el tratamiento con un inhibidor de la síntesis de glutatión (GSH) como el dietilmalato, incrementa significativamente la progresión del tumor, lo que deja claro la participación de los radicales libres en la progresión de tumores.⁴

Inflamación, radicales libres y carcinogénesis⁶

El daño crónico generado tanto por agentes infecciosos como por bacterias o virus, así como por irritaciones, inicia una respuesta inflamatoria caracterizada por la infiltración a la zona de daño de células inmunológicas. Una medida de defensa para eliminar al agente agresor y a las células dañadas es la **explosión oxidativa** en la que dichas células generan radicales libre de oxígeno y nitrógeno. Sin embargo, el efecto no es totalmente focalizado, y sus secuelas van más allá de la zona afectada, ocasionando daño en las células epiteliales y del estroma de la vecindad.

Una vez iniciado el fenómeno de estrés oxidativo, el daño molecular es inminente, presentándose prácticamente todas las moléculas como en ADN, proteínas y lípidos, los cuales de una u otra forma influyen en el proceso carcinógeno, como se ilustra en el siguiente esquema:





Esquema 1. Mecanismos de daño molecular en procesos de inicio de tumores en inflamación crónica. MDA, malonaldehído; 4 HNE, 4 hidroxinonenal

Se ha comprobado que la sobrecarga oxidativa en diversas patologías es la causa principal de la generación de tumores malignos, como por ejemplo se pueden mencionar la hemocromatosis, la hepatitis viral B y C en hígado, enfermedad de Crhon y colitis ulcerosa en colon, infección por virus de papiloma humano en cervix, y la infección por helicobacter pylori en el estomago por sólo citar algunas (cuadro 1). Se ha demostrado que la inflamación crónica contribuye en 25% en los casos totales de cáncer.

Cuadro 1. Cánceres atribuidos a infecciones

Agente infeccioso	Cáncer
Virus del Papiloma Humano	Cervicouterino



info@aepromo.org

www.aepromo.org



info@isco3.org

www.isco3.org

Diplomado Ozonoterapia y Factores de Crecimiento Ozonizados.

Doc: Ozonoterapia en el cáncer

Versión: Castellano

Virus de hepatitis B o C
Virus de Epstein Barr

Hepático
Linfoma de Burkitt,
enf. de Hodkin,
cáncer
nasofaríngeo

Virus de inmunodeficiencia humana

Sarcoma de Kaposi

Virus del herpes

Sarcoma de Kaposi

Helicobacter pylori

Carcinoma y
linfoma gástrico

Schistosoma hematobium
Scustosoma japonicum

Cáncer de vejiga
Cáncer de colon

El cáncer de colon puede ser un buen ejemplo de la carcinogénesis inducida por inflamación crónica. Este cáncer es 30 veces más frecuente que el cáncer de intestino delgado debido a que, en contraste con este último el colon presenta por un lado niveles muy elevados de bacterias fecales y por otro una infiltración de células inmunológicas ocasionada por las primeras.

La actividad respiratoria de las bacterias es una fuente muy importante de peróxidos y radical superóxido (O_2^{\bullet}) que en presencia de hierro genera radical hidroxilo ($\bullet OH$), esto se agrava si se toma en cuenta que el hierro derivado de la dieta no se absorbe del todo y se concentra en las heces fecales en niveles 10 veces superiores que en la mayor parte de los tejidos. Los pigmentos biliares como la bilirrubina y la Biliverdina, pueden unir el hierro en una forma que es capaz de dirigir la reacción de Fenton⁶.

P53 Y LAS PROTEÍNAS SUPRESORAS DE TUMORES⁶

Varias de las proteínas que controlan la apoptosis, también regulan el ciclo celular. Una de ellas es la p53. Su sobreexpresión conduce a la célula a entrar en apoptosis, lo que explica que en los procesos tumorales la actividad de p53 está prácticamente inhibida. Esto permite a las células transformadas tener mayor resistencia a la apoptosis y en consecuencia, ser invulnerables a las terapias anticáncer que justamente elimina a las células malignas por medio de la apoptosis. La proteína p53 es un factor de transcripción que regula la expresión de varios genes cuyos productos resultantes se encargan del mantenimiento de la integridad del genoma. Como es sabido, la translocación de p53 al núcleo es fundamental para la expresión de los genes que controla.

En estudios *in vitro* se ha observado que p53 se transloca al núcleo tras un tratamiento con radiaciones UV en tiempos cortos (1 a 2 h), abandonando el núcleo para localizarse una vez más en él a las 12 h. El pretratamiento con antioxidantes bloquea la localización nuclear temprana, lo cual sugiere fuertemente que p53 es requerido bajo condiciones de estrés oxidativo para una eventual reparación del ADN tras el daño por radicales libres. Por otro lado, estos estudios mostraron que el tratamiento con agentes carcinógenos que no generan estrés oxidativo no indujeron la translocación nuclear temprana de p53, sino hasta 12 horas después del tratamiento.

Como se mencionó antes, los radicales libres pueden modificar postraduccionalmente la actividad de p53, pero también se ha reportado que el gen que codifica para p53 es un blanco común de mutaciones inducidas por radicales libres, lo que conduce a una deficiente o nula producción de la proteína⁶.

CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS DE LAS CÉLULAS CANCEROSAS⁹

Las células cancerosas para sobrevivir requieren forzosamente cambiar sus características bioquímicas, entre las que destacan:

- 1) Disminución de la enzima superóxido dismutasa manganeso dependiente (Mn-SOD), dejando a la superóxido Dismutasa, cobre zinc dependiente (Cu-Zn SOD) como el único agente destructor del anión superóxido($O_2^{\bullet-}$)
- 2) Tiene niveles de catalasa y SOD muy reducidos
- 3) Forman cantidades elevadas de anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$)
- 4) Inactivación de la enzima Cu-Zn SOD remanente
- 5) La acumulación de grandes cantidades de $O_2^{\bullet-}$ incrementa la inhibición de la Catalasa, que podría depletarse, aumentando los niveles de H_2O_2
- 6) Elevados niveles de oxidación del ADN con elevación de la 8.OHdG
- 7) Alta tasa de lipoperoxidación (evidenciada por elevación del 4 hidroxí nonenal (4HNE))
- 8) Ruptura de ADN
- 9) Inhibición de la apoptosis

MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS INVOLUCRADOS EN EL CÁNCER

La desdiferenciación de células normales hacia el cáncer ocurre cuando experimentan privación del 60% ó más del oxígeno, durante un extenso periodo de tiempo. Para sobrevivir cambian su patrón metabólico energético de la vía aeróbica por la fermentación anaeróbica de la glucosa, obteniendo 20 veces menos energía en forma de ATP (150kJ contra 2,870 kJ)^{10, 11,36,}

La fermentación de la glucosa deja como residuos finales CO_2 y ácido láctico, generando un área de acidez importante. Macrófagos y células T interpretan la señal de acidez como daño puntual que requiere ser reparado. Se liberan entonces factores de crecimiento que estimulan

las células a replicarse³⁷. A mayor cantidad de células cancerosas, mayor acidez, más factores de crecimiento, más células cancerosas, en un círculo vicioso que llevará hasta la muerte.

PAPEL DE LA HIPOXIA EN EL CÁNCER

El factor inducible por hipoxia (*hipoxia inducible factor*) [**HIF**] es un factor de transcripción que regula la respuesta celular a la hipoxia y actúa como regulador de la homeostasis del oxígeno¹²⁻¹⁴. La identificación del sistema de transcripción HIF por Wang y Semenza¹⁵ es crucial para entender la fisiología del O₂; sabemos actualmente que el HIF y la hipoxia son los mayores determinantes en la angiogénesis y que, por ejemplo, regulan los procesos de invasión y metastización determinantes de la agresividad tumoral.

Este factor de transcripción activa genes que codifican las proteínas que aumentan la disponibilidad del oxígeno y permiten la adaptación metabólica en ausencia del mismo, controlando la expresión de decenas de productos implicados en la angiogénesis, la eritropoyesis, la glucólisis, la invasión, la apoptosis, el tono vascular, la regulación del pH, la homeostasis epitelial y la resistencia a los fármacos.

El gen HIF 1A que codifica el HIF-1 α es un heterodímero compuesto por cadenas alfa (reguladas por el O₂) y beta dispuestas en doble hélice. Pertenece a una familia de factores de transcripción que consta de 3 subunidades alfa (HIF-1 α , HIF-2 α , HIF-3 α)

Además, estas adaptaciones a la hipoxia vuelven a los tumores más difíciles de tratar y con mayor resistencia a las terapias. Una parte importante de este proceso consiste en la adaptación de los productos de los genes en respuesta a la hipoxia y muchos de estos genes reguladores de hipoxia son mediados por el HIF1A²²; se estima que alrededor del 1% del genoma es regulado por la hipoxia.

La hipoxia tumoral por sí sola es un importante factor epigenético de la regulación de la proteína HIF-1 α . Además de inhibir al HIF-1 α , la hipoxia genera radicales libres de oxígeno, que son capaces de estabilizar la proteína HIF-1 α y de inducir los genes *HIF* (factor inducible por hipoxia) y *VEGF*(*factor de crecimiento vascular endotelial*)^{23,24}.

Cuando se establece la hipoxia, hay una respuesta celular para evitar la apoptosis²⁵ y se activa el factor de transcripción HIF-1 α , que genera un heterodímero con el HIF-1 β (ARNT) en el elemento de la respuesta a la hipoxia (HRE), lo que lleva a una respuesta celular múltiple con activación de los oncogenes²⁴, aumento de la vascularización con producción de factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), aumento del transporte de glucosa (GLUT1) y de la actividad de la anhidrasa carbónica (CA9) y aún a la inducción de varios genes apoptóticos²⁵⁻²⁷. Se sabe que el HIF actúa sobre los genes codificadores de la eritropoyetina, transferrina, endotelina-1, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), hemooxigenasa 1, factor de crecimiento insulínico-2 (IGF-2), proteína de unión 1, 2 y 3, al factor de

crecimiento insulínico (IGFBP 1, 2, 3), transportadores de glucosa (GLUT) y enzimas glucolíticas^{28,29,30} promoviendo la adaptación metabólica a la hipoxia, y es también regulado por la presión de O₂, dependiendo de la expresión de la subunidad HIF-1 α ³¹. La capacidad de adaptación de la hipoxia por las células malignas es fundamental para el crecimiento tumoral.

PAPEL DE LA OZONOTERAPIA EN EL CÁNCER

El Ozono (O₃) es una forma alotrópica del oxígeno con 3 átomos y 2 electrones desapareados, que tiene un poder oxidante mayor que el oxígeno. Las aplicaciones médicas requieren de medidas seguras que eviten exponer las vías aéreas a este gas por sus conocidos efectos tóxicos a este nivel. La autohemotransfusión o Autohemoterapia mayor, así como la insuflación rectal de ozono cumplen totalmente con este requerimiento. En concentraciones apropiadas, esta técnica conduce a un estrés oxidativo transitorio que puede estimular y regular los sistemas antioxidantes de la sangre. Este mecanismo ha sido relacionado a la protección que la Ozonoterapia ejerce contra el daño por radicales libres del corazón y en la prevención de trastornos renales y hepáticos³³.

Dos procesos vitales que favorecen el desarrollo tumoral son la inducción de la angiogénesis y la inhibición de la apoptosis. Ambos presentan la característica común de ser dependientes de la generación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO). La angiogénesis o neovascularización es un proceso que se considera regulado por algunos factores de crecimiento como serían el factor de crecimiento endotelial (EGF); el factor transformante del crecimiento alfa (TGF α); el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). Estos factores angiogénicos son inducidos por varios tipos de estrés, entre ellos, el oxidativo.³⁴

Las células tumorales producen ERO, incluyendo peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y anión superóxido (O₂^{•-}) que se ha demostrado están involucrados en el proceso de neovascularización tumoral, así como en la apoptosis, inducida esta última por translocación del p53 y activación de NF- κ B y AP-1³⁴.

Las células cancerosas para poder crecer y tener espacio en el tejido secretan diversas enzimas con diversas funciones para su sobrevivencia, entre las que destacan:

1. Hialuronidasa: rompe las cadenas poliméricas del cemento intercelular con objeto de poder expandirse.
2. Colagenasa: disuelve fibrillas del colágeno intercelular.
3. Enzima angiogénica: favorece el crecimiento de vasos sanguíneos para aportar más sangre y azúcar al tumor para la fermentación anaeróbica.

4. Enzima telomerasa: asegura que durante la replicación los telómeros de las cadenas de ADN se mantengan intactos, permitiéndoles replicarse miles de veces.
5. También bloquean los sitios receptores de linfocitos T, provocando fallos en el sistema inmune.
6. El fallo del metabolismo del oxígeno conduce a una producción deficiente de enzimas antioxidantes, dando lugar al establecimiento de estrés oxidativo permanente en el tejido tumoral.

Algunos estudios preclínicos in vitro e in vivo evidencian la efectividad del ozono sobre células tumorales, citotoxicidad selectiva sobre células tumorales y potenciador de la efectividad de la quimioterapia con 5 fluoracilo.³⁴

Sweet F. Kao reportó en Science 1980;209;931-3, como el Ozono inhibe selectivamente de células cancerosas humanas. Más recientemente, en 2004, Bernardino Clavo y cols. Publicaron un estudio realizado en pacientes con tumores avanzados de cabeza y cuello en el cual sugieren que la aplicación conjunta de Ozonoterapia con radioterapia pudiera tener algunos efectos benéficos, postulando que dichos efectos podrían ser debidos a incremento de la oxigenación en las regiones tumorales³³.

A continuación muestro un interesante estudio cubano que correlacionan efectos benéficos del ozono en paciente con cáncer:

Se realizó en Cuba un ensayo clínico en 70 pacientes con adenocarcinoma prostático en estadios A y B de la enfermedad (encapsulados), según la clasificación de Whitemore Jewet. Se dividió la muestra en 2 grupos. Grupo 1, cobalto más ozonoterapia (Co+O₃), el cual 35 pacientes recibieron ozono por vía rectal a una dosis de 10 mg (50 mg/L y 200 ml de gas), con una secuencia de 6 veces por semana, durante las 6 semanas que duró el tratamiento con cobalto. Grupo 2, también formado por 35 pacientes que recibieron exclusivamente cobalto (Co). Los resultados finales evidenciaron menor ocurrencia de reacciones adversas en el grupo ozono, incrementándose el número de pacientes en este grupo que no interrumpió el tratamiento. En este mismo grupo se constató que no hubo complicaciones las primeras 2 semanas de tratamiento, las cuales aparecieron en las últimas 2 semanas, no interrumpiendo el mismo un 49% de los pacientes. En contraparte en el grupo de cobalto, ya desde las primeras semanas aparecieron complicaciones y sólo el 14% de los pacientes no interrumpió el tratamiento, con diferencias significativas entre ambos grupos ($p < 0,05$). La radiodermatitis fue la complicación que más estuvo presente. Se reporta que tuvieron una sobrevivencia de 10 años entre el 90 y 100% de los pacientes tratados con cobaltoterapia más ozono para el estadio A y entre un 50 y 60% para el estadio B.

Al final del tratamiento se encontró que las concentraciones de antígeno prostático (PSA), fueron menores o iguales a 10 ng/mL, en el 92% de los casos del grupo

Co+O₃, mientras que el que recibió Co, sólo fue un 52%, con diferencias significativas en ambos grupos. El número de pacientes que disminuyó el antígeno prostático (PSA) por debajo de 4ng/mL fue de 60% y 20% para el grupo Co + O₃, y Co respectivamente, con diferencias significativas en ambos grupos. Se alcanzaron concentraciones de PSA superiores a 10 ng/mL (intervalo normal) entre 8.5 y 48.5% para los grupos Co+O₃ y Co respectivamente ($p < 0,05$).

La evolución clínica de los pacientes a los 6 meses de terminado el tratamiento demostró que existía un control clínico de la enfermedad en ambos grupos ascendente en un 88 y 80% de los casos, en los grupos Co+O₃ y Co, respectivamente. Todo esto hace pensar que el tratamiento combinado de cobaltoterapia y ozono puede presentar una opción terapéutica para lograr un tratamiento con menor número de complicaciones, que libera a los enfermos de las secuelas (impotencia y aproximadamente el 10 al 15% presenta cierto grado de incontinencia urinaria) propias de la cirugía radical prostática.³⁴

Se ha postulado que la ozonoterapia sistémica aplicada, ya sea por Autohemoterapia mayor o mediante insuflación rectal, a concentraciones adecuadas produce ciertas cantidades de ERO y particularmente de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) que actúa como molécula de señalización crucial para producir respuestas bioquímicas e inmunológicas.^{33,39}

Este estímulo oxidativo mediado por el ozono conduce a un estrés oxidativo transitorio que finalmente induce a la regularización del sistema enzimático de defensas antioxidantes sin efectos adversos, estimulando el incremento de las enzimas antioxidantes celulares superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px) capaces de inhibir el estrés oxidativo crónico.^{33,35}

Se han asimismo postulado varios mecanismos para explicar la mejoría del flujo sanguíneo y oxigenación mediados por ozonoterapia. Destacan la disociación de la curva de oxihemoglobina hacia la derecha, que conduce a una mayor liberación de oxígeno a los tejidos, secundario a una disminución del pH en los eritrocitos, con un aumento en la producción de 2,3 Difosfo Glicerato, una mejoría de flexibilidad de los eritrocitos que conduce a una reducción de la viscosidad sanguínea y reducción de la resistencia vascular por liberación de óxido nítrico y sustancias vasoactivas³³. Si además de lo anterior, las aplicaciones continuas de ozono durante varios meses son capaces de inducir nuevas generaciones de "eritrocitos superdotados" con incremento en el contenido de 2,3-DPG, de las enzimas antioxidantes, así como una elevación de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), esto puede posibilitar una profunda modificación de las actividades funcionales conduciendo a los tejidos tumorales de un estado hipóxico a normóxico. **Si esto pasa, cambiará dramáticamente el microambiente tumoral llevando a las células neoplásicas a un estado inactivo o muy vulnerable**³⁵.

Sobre el sistema inmunológico el ozono actúa como un moderado inductor de citoquinas debido a que la generación de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) cruza

libremente la membrana y activa en el citoplasma el NFKB que llevará a la transcripción de ácido ribonucleico mensajero (ARN m) de varias citoquinas. Debido a que la producción de varias interleucinas (ILs), factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e interferones (INFs), es muy pequeña y transitoria, es probable que la inducción ocurra vía estimulación de una membrana lectina. De hecho, bajo las mismas condiciones experimentales, el uso de un mitógeno como fitohemaglutinina (PHA) que persistentemente activa una cascada de proteína cinasa, permite la síntesis de citoquinas en cantidades 1,000 veces mayores que cuando se administra ozono. De la misma manera, el índice de proliferación de células sanguíneas mononucleares (BMC) escasamente se incrementa después de exposición sanguínea al ozono.

Ha llevado años de investigaciones entender como trabaja el ozono, y como una pequeña activación de células sanguíneas mononucleares (BMC) puede resultar útil en pacientes inmunodeprimidos. Una vez que regresa a su microambiente esta células activada puede estimular células vecinas, llevando poco a poco a la regulación del sistema inmune, de manera semejante a como se producen los eritrocitos "superdotados". Un aspecto interesante de resaltar es la posibilidad que durante la exposición de la sangre del paciente al ozono ex vivo, las células neoplásicas circulantes (de mama, próstata, estomago y colon) sean oxidadas y se transformen potencialmente en una vacuna.³⁵

Es interesante hacer notar que es bastante común en la mayoría de los pacientes durante el tratamiento de ozonoterapia por hepatitis crónica o enfermedades vasculares, reporten una sensación placentera de euforia y bienestar. **Este efecto debe tomarse en cuenta, ya que la mayoría de los pacientes con cáncer están depletados de energía.** A la pregunta si esto pudiera suceder en los pacientes con cáncer, Bocci refiere que no es difícil considerar que un cambio en el balance homeostático está ligado a una respuesta multi-orgánica que podría positivamente influenciar el estado fisiológico general del paciente y por lo tanto su respuesta inmune. El efecto placebo no se ha determinado aún, debido a que un pequeño incremento del cortisol puede mejorar el estado anímico del paciente y levantar y propiciar una respuesta psico-neuro-inmune cuyo significado no debe subestimarse³⁵.

Muy importante también es subrayar que la reducción quirúrgica de la masa tumoral es esencial, ya que grandes masas tumorales o extensas metástasis perpetúan el estado anérgico y disminuyen las posibilidades de curación. Los tumores deben ser extirpados en su totalidad o ser removidos quirúrgicamente al máximo. Si hay metástasis presentes el asunto se vuelve más complejo. En estos casos se utiliza ampliamente quimioterapia cuyos resultados mixtos, aunado a que sus efectos secundarios deterioran de manera importante la calidad de vida de los pacientes. La ozonoterapia no es un procedimiento capaz de curar neoplasias, pero sí un medio para estabilizar su progresión, particularmente en pacientes ancianos, quienes son muy susceptibles a los terribles efectos secundarios de la quimioterapia.



info@aepromo.org

www.aepromo.org



info@isco3.org

www.isco3.org

Diplomado Ozonoterapia y Factores de Crecimiento Ozonizados.

Doc: Ozonoterapia en el cáncer

Versión: Castellano

Las modificaciones moleculares e inmunológicas de eritrocitos y leucocitos, aunado a la adaptación al estrés oxidativo crónico nos hacen ver que la ozonoterapia puede modificar profundamente la bioquímica y funcionalidad de eritrocitos y leucocitos para formar un ambiente hostil al desarrollo de células cancerosas, haciendo notar que una mejoría de los parámetros inmunológicos no necesariamente es paralela a una respuesta clínica completa y a una sobrevida prolongada³⁵.

Comentarios del autor

Hoy en día a pesar del rápido avance de la quimioterapia antineoplásica, con la aparición de nuevas y más efectivos fármacos con novedosos mecanismos de acción y posibilidades terapéuticas prometedoras, persisten múltiples mecanismos del huésped sin entender, que llevan a que los tumores más comunes en los adultos sean resistentes a la mayoría de los agentes antineoplásicos disponibles, volviendo por tanto muy complejo el tratamiento de este grupo de enfermedades.

Por tanto se puede considerar que ante los pobres resultados clínicos que se obtienen con los tratamientos convencionales, sobre todo en pacientes mayores de 50 años, con cáncer en etapas avanzadas, aunado a los severos estragos que ocasionan los efectos secundarios de la quimio y radioterapia, que como bien sabemos conducen a un importante deterioro de la calidad de vida de estos enfermos, que la estrategia terapéutica debe incluir enfoques terapéuticos multifactoriales modernos que refuercen al sistema inmunológico que permitió la aparición de estas patologías y ataquen simultáneamente varias de las vías metabólicas que han sido modificadas en las células cancerosas sin lesionar las células normales. Precisamente es a este nivel, que la Ozonoterapia puede ser de gran utilidad como un importante tratamiento complementario dado que sus propiedades biológicas y farmacológicas actúan precisamente mejorando la oxigenación en tejidos tumorales, el metabolismo celular, además de modular la inmunosupresión que presentan y regular el desbalance hormonal, pudiendo estas modificaciones fisiológicas conducir a los pacientes con cáncer no una curación de esta enfermedad tan compleja, pero sí a reducir la progresión de la enfermedad y en el mejor de los casos a inactivación de la misma.

Mi experiencia clínica en Ozonoterapia data del año 2000 a la fecha. En estos años he atendido 70 pacientes con diversos tipos de tumores cancerosos que acuden a mi consulta privada a sabiendas que no soy oncólogo, desesperados solicitando ayuda, por el deterioro producido por la enfermedad y por las complicaciones de los tratamientos oncológicos convencionales que están siguiendo. Aunque los resultados clínicos se van dando poco a poco, según se va restableciendo el metabolismo del oxígeno, el sistema Redox y el sistema inmunológico, es muy gratificante profesionalmente constatar que la mayoría de los pacientes ven disminuir o desaparecer los molestos síntomas que los aquejan como: náuseas, vómitos, evacuaciones diarreicas, falta de energía, insomnio, neuroparesias y dolor, entre otros síntomas comunes en este tipo de pacientes, al tiempo que se revierte la

caquexia, se desinflan y restablecen las funciones digestivas, ganan peso, restablecen sus niveles de energía y sus patrones de sueño.

En pacientes con dolor severo por el proceso tumoral o sus metástasis, el dolor poco a poco se reduce considerablemente por lo que se hace más fácil manejarlos farmacológicamente, mejoran su calidad de vida, permitiéndoles, en la mayoría de los casos, llevar una vida prácticamente normal y se alarga la sobrevivida más allá de los pronósticos habituales.

Es importante también resaltar que algunas veces los pacientes que acuden buscando ayuda en etapas terminales, la Ozonoterapia tiene muy poco que ofrecerles, lo mismo que a los pacientes impacientes que buscan en la Ozonoterapia un resultado mágico instantáneo.

Se puede concluir que la ozonoterapia puede ser una terapia coadyuvante de gran utilidad para el manejo de los pacientes con cáncer que debería ser correctamente evaluada por la oncología clásica en base a estudios científicos, casi imposibles de llevar a cabo por los médicos que a nivel privado ejercen la Ozonoterapia.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1.-<http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A1ncer> (medicina) Consultado el 2/05/2010
2. Asociación Española Contra el Cáncer.
<http://www.todocancer.com/ESP/Informacion+Cancer/El+cáncer/Que+es+el+cancer.htm>, consultado el 2/05/2010.
3. <http://www.monografias.com/trabajos65/cancer2s.html>, consultado el 2/05/2010
4. <http://www.doctorweb.org-cancer> , consultado el 2/05/2010.
5. <http://ehp.niehs.nih.gov/members/1998/Suppl-1/289-295klaunig/full.html> consultado el 4 de mayo de 2010.
6. Konigsberg F.M., Radicales Libres y Estrés Oxidativo. 2008., Ed. El Manual Moderno p.347-357
7. Copeland ES: Free radicals in promotion-a chemical pathology study section workshop. Cancer Res. 1983; 43:5631-5637
8. Slaga TJ, Di Giovanni J, Wingberg LD et AL: Skin carcinogenesis: characteristics, mechanisms and prevention. Prog Clin Biol Res 1995; 391:1-20
9. - Oberley T.D. Oxidative Damage and Cancer. Am.J.of Pathol. 2002; 160:403-408

10. On the Origin of Cancer Cells. Warburg O. *Science* 24 February 1956: Vol. 123. no. 3191, pp. 309 – 314
11. Laguna j., Piña E. Bioquímica de Laguna. 6ª Edición. Pag. 404, Ed. Manual Moderno
12. Semenza GL. HIF-1 and human disease: One highly involved factor. *Genes Dev.* 2000;14:1983-91.
13. Semenza GL. Targeting HIF-1 for cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:721-32.
14. Kaelin WG Jr. Molecular basis of the VHL hereditary cancer syndrome. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:673-82.
15. Wang GL, Semenza GL. Purification and characterization of hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem.* 1995;270:1230-7.
16. Stroka DM, Burkhardt T, Desbaillets I, Wenger RH, Neil DA, Bauer C, et al. HIF-1 is expressed in normoxic tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia. *FASEB J.* 2001;15:2445-53
17. Yong-HS, Wei GF. Hypoxia-inducible factor-1 in tumor angiogenesis. *World J Gastroenterol.* 2004;10:1082-7.
18. Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Res.* 1989;49:6449-65.
19. Kimura H, Braun RD, Ong ET, Hsu R, Secomb TW, Papahadjopoulos D, et al. Fluctuations in red cell flux in tumor microvessels can lead to transient hypoxia and reoxygenation in tumor parenchyma. *Cancer Res.* 1996;56:5522-8.
20. Brown JM, Giaccia AJ. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. *Cancer Res.* 1998;58:1408-16.
21. Dewhirst MW. Concepts of oxygen transport at the microcirculatory level. *Semin Radiat Oncol.* 1998;8:143-50.
22. Kimbro KS, Simons JW. Hypoxia-inducible factor in human breast and prostate cancer. *Endocrine Related Cancer.* 2006;13:739-49.
23. Kaelin WG. ROS: really involved in oxygen sensing. *Cell Metabolism.* 2005;1:357-8.

24. Muzandu K, Shaban Z, Ishizuka M, Kasusaka A, Fujita S. Nitric Oxide enhances catechol estrogen induced oxidative stress in LNCaP cells. *Free Radical Research*. 2005;39:389-98.
25. Semenza GL. Regulation of mammalian O₂ homeostasis by hypoxia inducible factor 1. *Annu Ver Cell Dev Biol*. 1999;15:551-78.
26. Airley R, Loncaster J, Davidson S, Bromley M, Roberts S, Patterson A, et al. Glucose transporter glut 1 expression correlates with tumor hypoxia and predicts metastasis free survival in advanced carcinoma of the cervix. *Clin Cancer Res*. 2001;7:928-34.
27. Bristow RG, Richard P. Hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Hill in Nature Reviews*. 2008;8:180-92.
28. Prince BD, Calderwood SK. GADD45 and GADD153 messenger RNA levels are increased during hypoxia and after exposure of cells to agents which elevate the levels of the glucose regulated proteins. *Cancer Res*. 1992;52:3814-7.
29. Jiang BH, Rue E, Wang GL, Roe R, Semenza GL. Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxiainducible factor 1. *J Biol Chem*. 1996;271:17771-8.
30. Semenza GL, Jiang BH, Leung SW, Passantino R, Concordet JP, Maire P, et al. Hypoxia response elements in the aldolase A, enolase 1, and lactate dehydrogenase A gene promoters contain essential binding sites for hypoxia-inducible factor 1. *J Biol Chem*. 1996;271:32529-37.
31. Semenza GL. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annu Rev Med*. 2003;54:17-28.
32. Dachs GU, Tozer GM. Hypoxia modulated gene expression: angiogenesis, metastasis and therapeutic exploitation. *Eur J Cancer*. 2000;36:1649-60.
33. Clavo B. et al. Ozonotherapy for Tumor Oxygenation: a Pilot Study, consultado el día 5/05/2010 en:
http://www.ossigenoozono.it/English/Scientific%20Publications/ozone_therapy_for_tumor.htm
34. Ozono. Aspectos Básicos y Aplicaciones Clínicas. Edit. CENIC 2008, P.188-195
35. Bocci V. Oxygen Ozonotherapy. A Critical Evaluation. Kluwer Acad. Press 2002; p.306-314
36. Maxwell PH, Pugh CW, Ratcliff PJ. Activation of the HIF pathway in cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11(3):293-9



info@aepromo.org

www.aepromo.org



info@isco3.org

www.isco3.org

Diplomado Ozonoterapia y Factores de Crecimiento Ozonizados.
Doc: Ozonoterapia en el cáncer
Versión: Castellano

37. Jass JR, Talbot IC. Molecular and cellular biology of pre-malignancy in the gastrointestinal tract. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2001;15(2);175-89

38. Schulz S. et al. **Ozone therapy in a cancer model (VX2 carcinoma: head and abdomen) in rabbits. A pilot study.** 4^{to} Simposio Internacional de Aplicaciones del Ozono. Abril 6-9 2004, Ciudad de La Habana, Cuba

39. Bocci V. Ozonotherapy as a Possible Biological Response Modifier in Cancer *Forsch Komplementärmed* 1998;5:54-60