

HOSPITAL GENERAL DOCENTE
"CAPITÁN ROBERTO RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ"
MORÓN



Efecto inmunomodulador de la ozonoterapia en niños con deficiencia en la inmunidad mediada por fagocitos.

Immunomodulator effect of ozone therapy in children with deficiency in immunity mediated by phagocytes.

Jacqueline Díaz Luis (1), Gisela Sardiñas Padrón (2), Silvia Menéndez Cepero (3), Consuelo Macías Abraham (4).

RESUMEN

Se realizó un estudio pre-experimental antes después, con la finalidad de evaluar el efecto inmunomodulador de la ozonoterapia en niños con inmunodeficiencia por defectos en la inmunidad mediada por fagocitos. El universo estuvo constituido por un total de 18 niños con deficiencias en la fagocitosis, asistidos en la consulta de Inmunología en el periodo desde septiembre de 2009 hasta junio de 2010, que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión. El ozono se aplicó en dosis escalonadas por insuflación rectal hasta una concentración de 40 μ g/mL, durante tres meses. Las variables fueron evaluadas 1 mes después del tratamiento. Se determinó si existen diferencias significativas entre las determinaciones antes y después de la ozonoterapia, mediante la prueba T de comparación de medias para muestras dependientes, con un nivel de significación $\alpha=0.05$. Hubo aumentos significativos del conteo absoluto de neutrófilos en el 100% de los casos y en el 94% mejoró significativamente la función fagocítica leucocitaria después de recibir la ozonoterapia. El estado clínico, cualitativamente evaluado, fue satisfactorio en los niños tratados con Ozono y no se reportaron reacciones adversas durante el tratamiento. Se sugiere este proceder terapéutico como alternativa terapéutica inmunoestimulante en la deficiencia fagocítica.

Palabras clave: INMUNODEFICIENCIA/terapia, OZONOTERAPIA/uso terapéutico.

1. Especialista de 2do Grado en Inmunología. Máster en Enfermedades Infecciosas. Investigador Agregado.
2. Licenciada en Enfermería.
3. Dra. en Ciencias Químicas y Especialista en ozonoterapia. Investigador Titular
4. Especialista de 2do Grado en Inmunología. Dra. en Ciencias médicas. Investigador Titular.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones en la función fagocítica de los leucocitos se presenta como un defecto inmunológico que ocasiona infecciones crónicas y por consiguiente un ambiente celular poco oxigenado. Las células blancas de la sangre actúan como organismos unicelulares independientes y son el segundo brazo del sistema inmune innato (1). Los leucocitos innatos incluyen fagocitos (macrófagos, neutrófilos y células dendríticas), mastocitos, eosinófilos, basófilos y células asesinas naturales. Estas células identifican y eliminan patógenos, bien sea atacando a los más grandes a través del contacto o englobando a otros para así matarlos. Las células innatas también son importantes mediadores en la activación del sistema inmune adaptativo (2). Los neutrófilos y macrófagos son fagocitos que viajan a través del cuerpo en busca de patógenos invasores. Los neutrófilos son encontrados normalmente en la sangre y es el tipo más común de fagocitos, que normalmente representan el 50 o 60% del total de leucocitos que circulan en el cuerpo. Durante la fase aguda de la inflamación, particularmente en el caso de las infecciones bacterianas, los neutrófilos migran hacia el lugar de la inflamación en un proceso llamado quimiotaxis, y son las primeras células en llegar a la escena de la infección. La fagocitosis es una característica

importante de la inmunidad innata celular, llevada a cabo por los fagocitos, que engloban o comen, patógenos y partículas, rodeándolos exteriormente con su membrana hasta hacerlos pasar al interior de su citoplasma. Los fagocitos generalmente patrullan en búsqueda de patógenos, pero pueden ser atraídos a ubicaciones específicas por las citocinas (3). Las deficiencias en la fagocitosis pueden presentarse como un trastorno por inmunodeficiencia primaria o congénita, estos defectos son infrecuentes; y ocasionan infecciones severas por bacterias piógenas y gérmenes oportunistas en diferentes partes del organismo, un ejemplo de estos síndromes es la Enfermedad Granulomatosa crónica, o pueden presentarse como un trastorno transitorio, secundario a procesos infecciosos crónicos, deficiencias nutricionales, medicamentos o asociarse a otros defectos inmunológicos que deprimen la función de las células inmunes fagocíticas (4). En Cuba estos trastornos en la fagocitosis se presentan con una frecuencia relativamente alta, sobre todo en la edad pediátrica, en ocasiones resultando difícil la caracterización inmunofenotípica del defecto genético, si existiera. El método de laboratorio para diagnosticar esta deficiencia es el índice fagocítico, con el se evalúa la función de las células fagocíticas y los pacientes así caracterizados son tratados con inmunomoduladores (3-4). No obstante el estrés oxidativo crónico que presenta este tipo de enfermo, causado por los procesos infecciosos recurrentes ha llevado a considerar la terapia con ozono una forma de tratamiento para la enfermedad.

La terapia con ozono es una modalidad terapéutica natural, segura y factible que ayuda a reforzar el sistema inmunológico, ya que al penetrar al organismo sobreoxigena las células de todo el cuerpo, la oxigenación de las células hace que mejore su función, le "inyecta energía" lo que fortalece al sistema inmune (5- 6). Es considerado un modificador de la respuesta biológica, ya que es un inductor de citoquinas, es atóxico, no antigénico y produce una respuesta inmune positiva sin efectos adversos, acción considerada como moduladora, siendo la base de su utilización como terapéutica en deficiencias inmunológicas (7).

Existe una frecuencia alta de niños en el área norte de la provincia que presentan procesos infecciosos recurrentes bacterianos, que incluyen: Enfermedades infecciosas cutáneas, respiratorias, bucales y periodontales; difíciles de curar con antibióticos locales y sistémicos, asistidos y diagnosticados en Inmunología como defectos en la fagocitosis. Si se tiene en cuenta que las infecciones que padecen estos pacientes son ocasionadas por bacterias piógenas, las que producen complicaciones como abscesos profundos, infecciones estafilococicas sistémicas y que en ocasiones no es posible aplicarle inmunoestimulación, se propone la utilización de alternativas terapéuticas inmunoestimulantes seguras y factibles (8-9).

Con el objetivo de evaluar el efecto inmunomodulador de la ozonoterapia, se realizó un estudio pre-experimental antes después en niños con deficiencias en la inmunidad mediada por fagocitos, en el periodo comprendido desde septiembre de 2009 hasta junio de 2010 en el hospital "Roberto Rodríguez Fernández". El universo estuvo constituido por un total de 18 niños con deficiencias en la fagocitosis, asistidos en la consulta de inmunología en el periodo evaluado. Se administraron 42 sesiones de ozono por insuflación rectal (10), previa evacuación del intestino, la dosis inicial fue de 15 µg/ml y se incrementó semanalmente hasta 40 µg /ml. El volumen entre 30 y 80 mL en dependencia del peso del niño. Técnicas de Laboratorio. A todos los niños incluidos, se les realizó, al inicio y un mes después de recibir la ozonoterapia, los siguientes estudios: Hemograma con diferencial por el método tradicional (11) e Índice fagocítico por el método de látex (12-13). Las diferencias estadísticas se evaluaron por la prueba de medias para muestras dependientes y la desviación estándar. Se tuvo en consideración los principios bioéticos de respeto a las personas, la beneficencia, la no maleficencia, justicia y autonomía. Se solicitó el consentimiento informado (14).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se describe el comportamiento de algunas variables del estudio, relacionadas con esta evaluación, por constituir factores agravantes en las diversas formas clínicas de presentación de la enfermedad, las que se deben tener en cuenta en todo paciente inmunodeficiente. Las características de la muestra en cuanto a edad y sexo se muestran en la Tabla No. 1.

Se distribuyeron los pacientes según grupos de edades y sexo, donde se pudo constatar que el 33% correspondieron al sexo femenino y el 67 % al masculino (Tabla No. 1). La edad de los pacientes es un dato importante a tener en cuenta, ya que el sistema inmune del niño no es un

sistema del adulto en miniatura, sino que tiene sus particularidades, las deficiencias fagocíticas congénitas, similar a los defectos de inmunoglobulinas, se ponen de manifiesto en el niño después de los 6 u 8 meses, no siendo así los déficit de células T y B. los déficit transitorios o secundarios pueden aparecer a cualquier edad (2). En el estudio se presentaron un mayor número de niños menores de 5 años (61%), lo que se corresponde con el desarrollo inmunológico incompleto en los primeros años de vida (15).

En la Tabla No. 2 se muestra que las piodermitis (66%), las enfermedades alérgicas (50%), la estomatitis aftosa recurrente (44%) y la malnutrición (44%) se presentaron con mayor frecuencia en los niños estudiados, lo que está en relación con el trastorno fagocítico presente, ya que la fagocitosis representa un mecanismo efector inmune, esencial para la eliminación de bacterias extracelulares e intracelulares, además el neutrófilo, por constituir una célula inflamatoria circulante, responde muy rápido al estímulo quimiotáctico, siendo la primera línea de defensa, contra el *Estafilococo aureus*, causante de estos tipos de infecciones cutáneas (4). Existen otros estudios que evidencian manifestaciones clínicas similares, donde predominan las infecciones estafilococicas cutáneas (16-17) que incluyen piodermitis, forunculosis y abscesos cutáneos, estas secreciones contienen una mezcla de millones de fagocitos y bacterias (18).

La inmunodeficiencia secundaria presente en los niños pudiera estar en relación con la malnutrición detectada en el 44%. Como se describe en la literatura la desnutrición es causa de depresión de la inmunidad celular, la actividad del complemento, el funcionamiento de los fagocitos, las concentraciones de anticuerpos IgA y la producción de citocinas (19). La deficiencia de nutrientes concretos como hierro, cobre, zinc, selenio, vitaminas A, C, E y B6, y ácido fólico (vitamina B9) también reducen la respuesta inmunitaria.

Otras manifestaciones clínicas presentes incluyen las alergias, presentes en 9 niños (50%), procesos que ocasionan alteración en la respuesta inmune celular, desviando la misma hacia un patrón T auxiliador 2 (Th2), alterando el equilibrio Th1-Th2, con predominio del patrón Th2 que es establecido en la infancia, deprimiendo la respuesta Th1 y por lo tanto la inmunidad mediada por células (2). Existen otros estudios donde se demuestra la asociación de las enfermedades alérgicas y las inmunodeficiencias (19).

El 22% de los pacientes presentó neutropenia moderada, con cifras de células entre 1000/mm³ y 2000/mm³, lo que constituye un factor agravante y de riesgo en los procesos sépticos. Se pudo constatar que después de la ozonoterapia el 100% de los pacientes recuperaron las cifras normales de neutrófilos en sangre periférica (Tabla No. 3). Elemento a tener en cuenta en este tipo de terapia, ya que el ozono estimula la producción de leucocitos, células fundamentales en la defensa contra infecciones (20).

Se ha descrito en la literatura consultada, que el ozono al activar linfocitos y monocitos en los órganos linfoideos secundarios, aumenta la liberación de citoquinas que estimulan las células cercanas, las cuales retornan a la circulación y activan otros sectores distantes del sistema inmune, con amplificación de la respuesta (21-22).

El diferencial de leucocitos en sangre periférica, fue normal en el 100% de los pacientes estudiados, con incrementos no significativos en el 30% de ellos, 1 mes después de la ozonoterapia.

En la Tabla No. 4 se observa que antes del tratamiento con ozono la actividad fagocítica de los leucocitos estaba disminuida en el 100 % de los pacientes. La depresión del sistema inmune en estos casos se produce de forma secundaria. Después del tratamiento la función fagocítica tuvo cambios significativos en el 94% de los pacientes (tabla 4), produciéndose un aumento en el número de células con capacidad fagocítica normal. Resultados similares se han obtenido en diferentes estudios in vitro (20) e in vivo (23-25), donde se estipula que el ozono es un modulador de la respuesta biológica, que induce los niveles de homeostasis del sistema inmune, normalizando aquellos parámetros que están incrementados o aumentando los que se encuentran deficientes.

Las infecciones recurrentes y crónicas que presentan los pacientes inmunodeprimidos, suponen un medio ambiente celular mal oxigenado y por tanto una condición que conduce a un mal funcionamiento de la actividad defensiva leucocitaria, fallando en la eliminación de gérmenes y pudiendo provocar el ataque a células sanas (reacciones alérgicas). El ozono al aumentar significativamente los niveles de oxígeno en la sangre, no sólo durante su administración sino

durante largos períodos de tiempo, facilita las condiciones para que la actividad defensiva leucocitaria cumpla su función, modulando además su respuesta y evitando alergias (26). Cuando el ozono entra al organismo, sobreoxigena las células de todo el cuerpo. La célula necesita este elemento para vivir, pues es el que le da energía.

Se han descrito efectos de los peróxidos producidos por el ozono en la fagocitosis, durante las infecciones crónicas, los procesos defensivos normales ya no son capaces de destruir las bacterias, por insuficiente formación de peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Los mecanismos inmunitarios del organismo son dependientes del oxígeno y actúan en defensa contra los agentes infectivos y tumorales (18). Es a este nivel donde se aprecia la positiva influencia de los peróxidos formados durante el tratamiento con Ozono, desde hace mucho tiempo, existen estudios de la influencia inmunológica del Ozono como un perfecto inductor de las citoquinas, sustancias fundamentales de la actividad del sistema inmunitario (27-29).

El 94% de los pacientes tuvo mejoría clínica, dado por la reducción en el número de infecciones, aumento del apetito y la eliminación del estado de astenia referido (Tabla No. 5). Estudios en humanos (10) han demostrado la capacidad de la ozonoterapia de revitalizar y oxigenar las células de todo el organismo, con lo que se aportan efectos oxigenantes, antioxidantes y energizantes mejorando el metabolismo y la homeostasis del sistema inmune. El ozono mejora el sistema inmunológico de las personas, lo que hace es que, al combinarse con la sangre, se activan sustancias que causan efectos determinados a nivel celular, es decir, que se consigue que todas las células del sistema que no están funcionando correctamente pasen a recuperar su actividad adecuada. Se han realizado estudios con niños inmunodeprimidos y gracias al ozono su sistema inmunitario se ha puesto en marcha, recuperando casi la total normalidad (23). No se reportaron reacciones colaterales durante el tratamiento por lo que se recomienda su aplicación en las deficiencias inmunológicas como alternativa terapéutica o terapia complementaria.

ABSTRACT

A pre-experimental study was conducted before then, in order to assess the effect of immunomodulator of ozone therapy in children with immunodeficiency defects of phagocyte-mediated immunity. The universe was made up by a total of 18 children with deficiencies in phagocytosis, assisted in the Immunology consultation from September 2009 until June 2010 that met the inclusion and exclusion criteria. Ozone was applied in doses by rectal insufflation stepped up a 40 μ g/mL concentration, for three months. The variables were assessed 1 month after treatment. It was determined if there are significant differences between determinations before and after of ozone therapy, through T of means comparison test for dependent samples, with a significance level $\alpha = 0.05$. There were significant increases in the absolute neutrophil count in 100% of cases and the Leukocyte Phagocytic function significantly improved in a 94% after receiving ozone therapy. The clinical state, qualitatively evaluated, was satisfactory in children treated with ozone and no adverse reactions were reported during treatment. It is suggested this therapeutic approach as immunostimulant therapeutic alternative in the phagocytic deficiency.

Key words: IMMUNODEFICIENCY/ Therapy, OZONOTHERAPY/ therapeutic use.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pancer Z, Cooper MD. The evolution of adaptive immunity. *Ann Rev Immunol.* 2006; 24: 497–518.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular. 6ta ed. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España; 2011.
3. Fisher A. Human primary immunodeficiency disease: a perspective. *Nat Immunol.* 2004; 5(1): 23-30.
4. Daniel P, Stites, Abba I, Terr T, Parslow G. Inmunología básica y clínica. 9na ed. México: El Manual Moderno; 1998.
5. Schonbein C. The discoverer of Ozone. *Annual Report of the Board of Regents of the Smithsonian Institute.* 2000; 1: 185-92.
6. Babior BM, Takeuchi C. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. *Proc Nat Acad Sci U S A.* 2003; 100(6): 3031-3034.

7. Bocci V, Aldinucci C, Borrelli E, Corradeschi F, Diodori A, Fanetti G, et al. Ozone in Medicine. *Ozone Sci Engin.* 2001; 23:207-17.
8. Bocci V. Biological and clinical effects of Ozone. Has Ozone therapy a future in medicine? *Br J Biomed Sci.* 2006; 56(4): 270-279.
9. Arencibia Jorge R, Leyva Rodríguez Y, Collymore Rodríguez A, Araújo Ruiz JA. Producción científica sobre aplicaciones terapéuticas del Ozono en el "web of science". ACIMED [Internet]. 2006 [citado 3 Ene 2011]; 14(1): Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-94352006000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
10. MMenéndez S, González R, Ledea OE, Hernández F, León OS, Díaz M. Ozono: aspectos básicos y aplicaciones clínicas. 1ra ed. La Habana: CENIC; 2008.
11. Hoffman R. Hematology basic: principles y practice. 2nd ed. Edinburgh: Churhill Livingstone; 1995.
12. Ronald JH, Giclas PC. Diagnostic immunology laboratory manual. 1 ed. New York: Raven Press; 1991.
13. Balows AEH, Hasler WJ, Truant JP. Manual de Microbiología Clínica. 4ta ed. La Habana: Editorial Científico Técnica; 1985.
14. Reyes González S, Reyes González E. Terapéutica con Ozono y consentimiento informado [Internet]. 2002 [citado 3 Ene 2011] [aprox. 3 pantallas]. Disponible en: <http://www.Institutobiológico.com/publicaciones/indexmed-journal/edition3.2002>.
15. Bainton DF, Ulloa JL, Frrguhar MG. The development of neutrophilic polymorphonuclear leukocytes in human bone marrow. *J Exp Med.* 2007; 907-939.
16. Dale DC, Boxer L, Liles WC. The phagocytes: neutrophils and monocytes. *Blood.* 2004; 112(4): 935-45. se consulta en: <http://www.bloodjournal.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=18684880>
17. Lanza F. Clinical manifestation of myeloperoxidase deficiency. *J Mol Med.* 1998; 76:676-81.
18. Cos Padrón Y, Torres Leyva I, Marsán Suárez V, Macías Abraham C. Defectos en la fagocitosis: aspectos clínicos, moleculares y terapéuticos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [Internet]. 2004 [citado 3 Ene 2011]; 20(1): [aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es
19. Wilson DR. Allergy. *J Clin Immunol.* 2006; 1(13):1025-34.
20. Porcellporcellini A, Dall'Aglio R, Ubaldi A. Effect of hypoxia and Ozone treatment on normal hemopoietic stem cells and clonogenic tumor cells. In vitro cleansing intended for autologous bone marrow transplantation. *Hematol Cremona.* 2004; 29: 6-8.
21. B Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Di Stefano A. Studies on the biological effects of Ozone 3: an attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphok Cytok Res.* 1993; 12(2): 121-126.
22. Paulesu L, Luzzi E, Bocci V. Studies on the biological effects of Ozone: induction of tumor necrosis factor on human leucocytes. *Lymphok Cytok Res.* 2006; 10:5.
23. Biosalud. La ozonoterapia [Internet]. 2009 [citado 21 Ene 2011] [aprox. 4 pantallas]. Disponible en: <http://medicablogs.Diariomedico.com/institubosalud/2009/04/15/la-medicina-funcional-2/respond>
24. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of Ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica.* 2006; 75: 510-155.
25. L'ossigeno ozono terapia: una guida pratica [Internet]. 2009 [citado 21 Ene 2011] [aprox. 4 pantallas]. Disponible en: <http://medicinapolispecistica.wordpress.com/2009/12/12usodelOzono-en-terapiamédica>
26. Regeneración celular utilización celular del Ozono para uso medicinal [Internet]. 2007 [citado 21 Ene 2011] [aprox. 4 pantallas]. Disponible en: <http://www.olx.cl>
27. Riva Sanseverino E. Aspetti immunologici dell'ozonoterapia. *Riv Italiana Omotossicol.* 2009; 3:19-24.
28. Cardile V, Jiang X, Russo A, Casella F, Renis M, Bindoni M. Effects of Ozone on some biological activities of cells in vitro. *Cell Biol Toxicol.* 2005; 11: 11-21.

29. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Silvestri S. Studies of the biological effects of Ozone. Production of transforming growth factor B1 by human blood after Ozone treatment. *J Biol Regulat Homeost Agent.* 2000; 8: 108-112.

ANEXOS

Tabla No. 1. Grupo de edad y sexo de los niños con deficiencia en la función fagocítica

Grupo de Edad	Sexo					
	N=18					
	Fem		Masc		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
1 - 5	4	22	7	39	11	61
6-10	2	11	5	28	7	39
Total	6	33	12	67	18	100

Fuente (de todas las tablas): Historias clínicas

Tabla No. 2. Enfermedades presentes en los niños con deficiencia en la fagocitosis

Enfermedades presentes	No.	%
Adenoamigdalitis Crónica	5	27
Piodermitis	12	66
Abscesos cutáneos	2	11
Estomatitis aftosa recurrente	8	44
Malnutrición	8	44
Enfermedades alérgicas	9	50

Tabla No. 3. Conteo Absoluto de Neutrófilos en niños con deficiencia en la fagocitosis antes y después de aplicar ozonoterapia.

CAN	Antes		Después	
	No.	%	No.	%
Normal \geq 2000/mm ³	14	78	18	100
Disminuido < 2000/mm ³	4	22	0	-
Total	18	100	18	100
Media	$\mu=1990.0$		$\mu = 3060.0$	

$\alpha=0.022$

Tabla No. 4. Función fagocítica antes y después del tratamiento con ozono

Función Fagocítica	Antes		Después	
	No.	%	No.	%
Normal 28 – 54%	0	0	17	94
Disminuido < 28%	18	100	1	6
Total	18	100	18	100
Media	$X=22.7$		$X = 34.4$	
Desviación Estándar	DS= 10.44		DS= 7.92	

$\alpha=0.04$

Tabla No. 5. Estado clínico del paciente antes y después del tratamiento con ozono

Estado Clínico	Antes de la OT		Después de la T	
	No.	%	No.	%
Satisfactorio	-	-	17	94
Insatisfactorio	18	100	1	6
Total	18	100	18	100

OT: Ozonoterapia