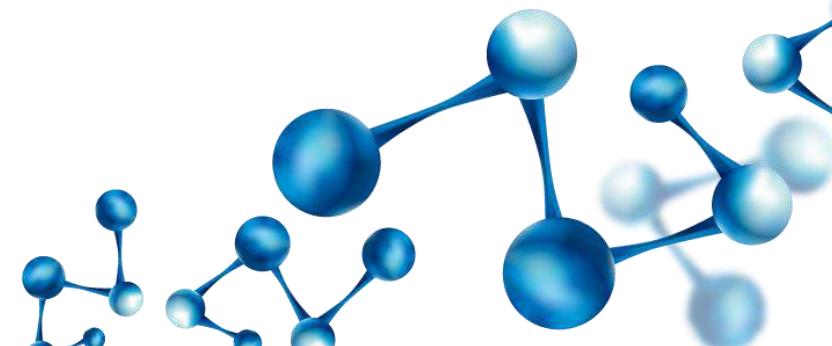




Ozonoterapia para COVID19

JORGE HUMBERTO MEJÍA ALFARO MD UN
EPIDEMIÓLOGO U DE A.

GRUPO DE OZONOTERAPIA MEDELLÍN
EN COLABORACIÓN CON GRUPO OZONO
NACIONAL-CONSTRUCCIÓN COLECTIVA-





Situación actual en Bogotá/Medellín. Propósito colectivo de “despresurizar” las UCI



Puente:

Camas ocupadas y camas asignadas: Red privada: Información reportada por 56 IPS (que concentran el 86.2% de UCI habilitadas en Bogotá).

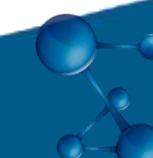
Camas ocupadas y camas asignadas: Red pública: 11 prestadores los cuales cuentan con servicio de UCI habilitado.

Gráfico 4. Comparativo de mortalidad por COVID-19. Departamento de Antioquia (Mzo. 16 Vs Julio 30 de 2020)

Departamento	Habs Total	Muertes al dia 71	TMG Covid 19 al dia 71	Incremento % del riesgo de morir en Población general en semana 10 a 16 de mayo
Antioquia	6.782.584	6	0,88	0,00
Atlántico	2.771.139	45	16,24	18,42
Bogotá	7.834.167	167	21,32	21,01
Bolívar	2.213.061	68	30,73	54,55
Boyacá	1.251.575	3	2,40	0,00

Reporte al: 09-07-2020
Número de casos nuevos: 1.842
Total casos acumulados: 30.685
Mujeres: 15.872 Hombres: 17.112
Total casos activos: 11.505
Fallecidos: 476 Recuperados: 18.700
Pruebas negativas en Antioquia: 135.451

Fuente: datos oficiales INS, y <https://www.dsa.gov.co/index.php/situacion-actual-coronavirus-en-antioquia>



Ozonoterapia
para COVID19



Días críticos en algunos países seleccionados

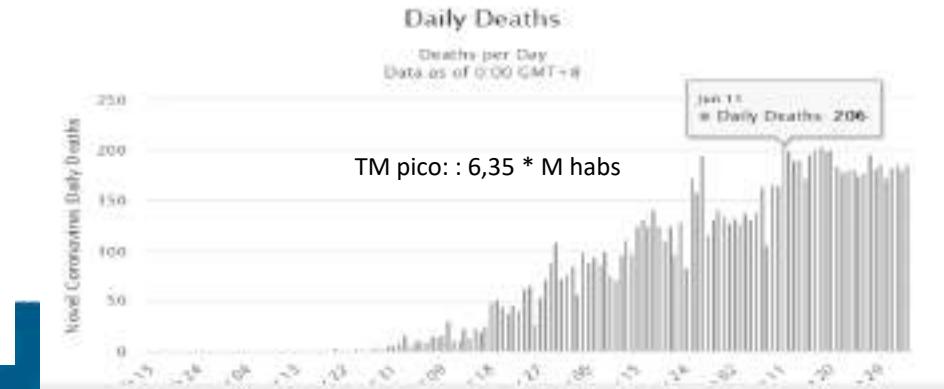
Nuevas muertes diarias en los Estados Unidos



Nuevas muertes diarias en Chile



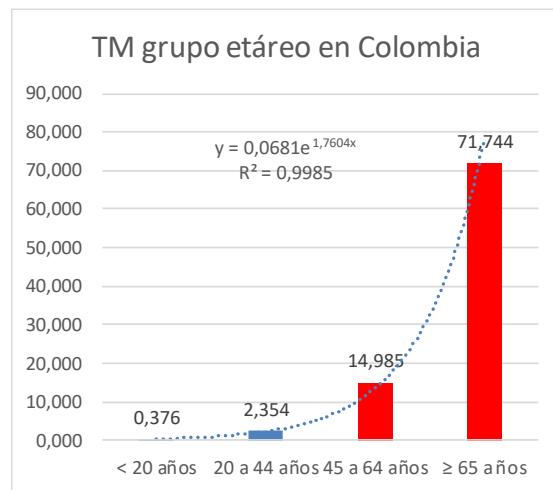
Nuevas muertes diarias en Perú



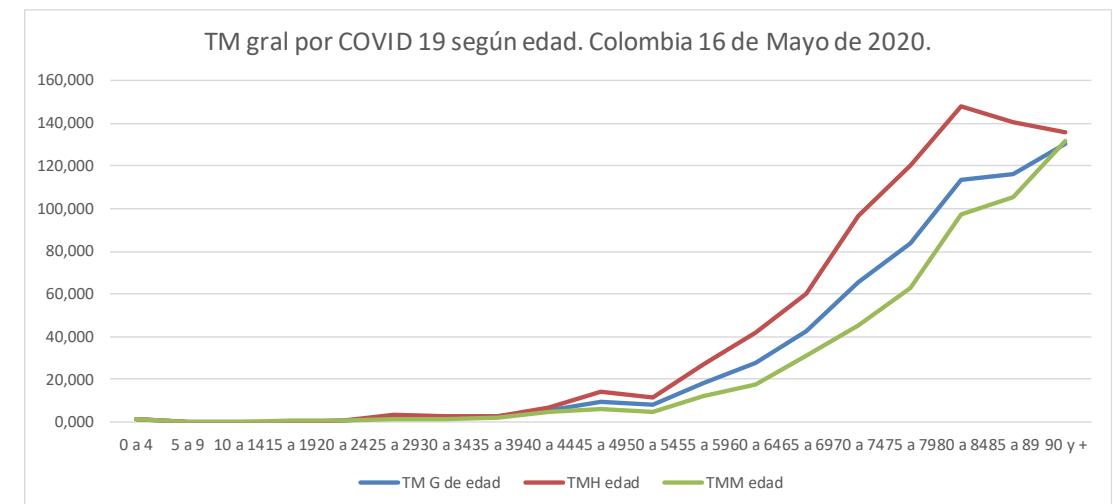


En día 100 post caso índice (16 de mayo)

Mortalidad asociada a la edad

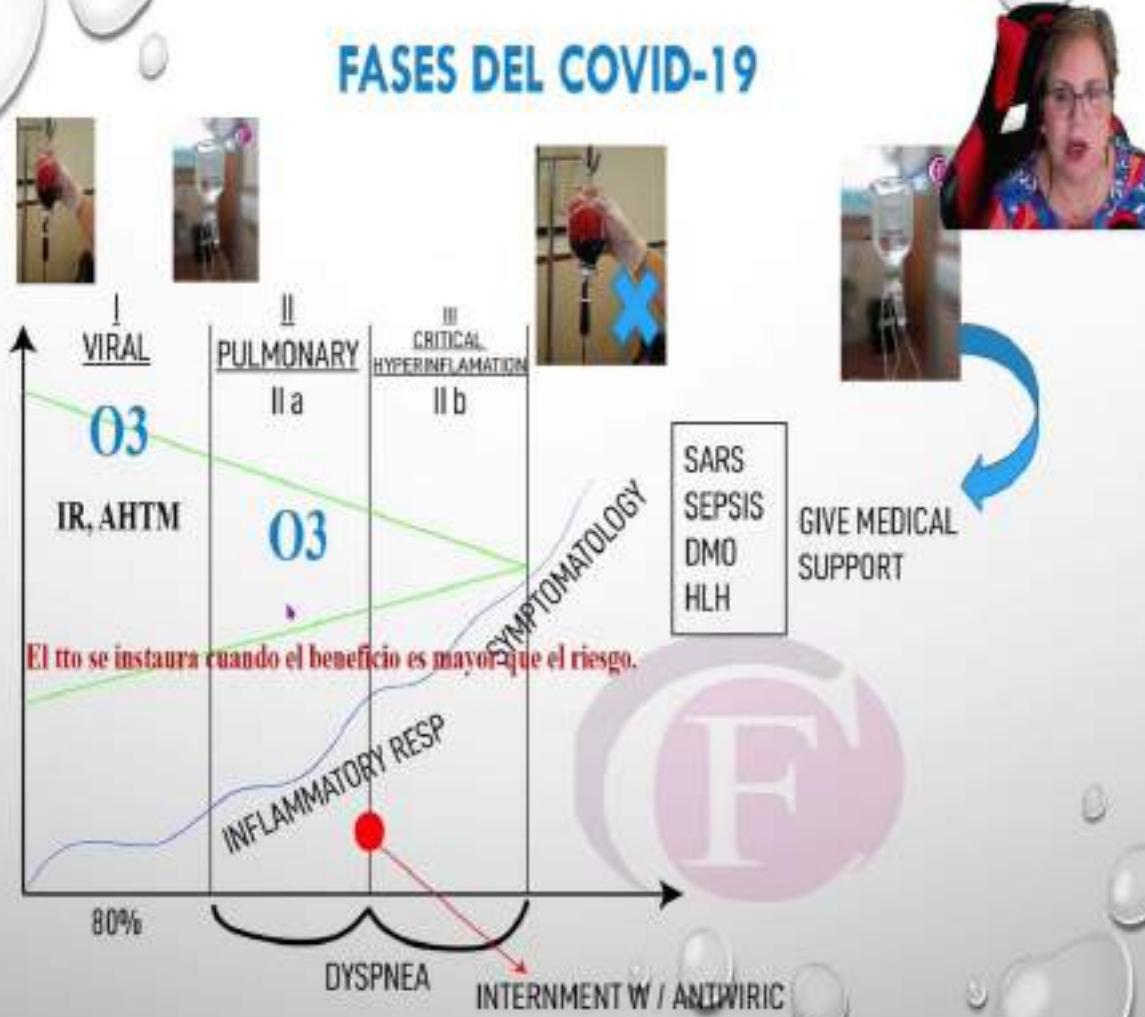


Heterogénea según sexo





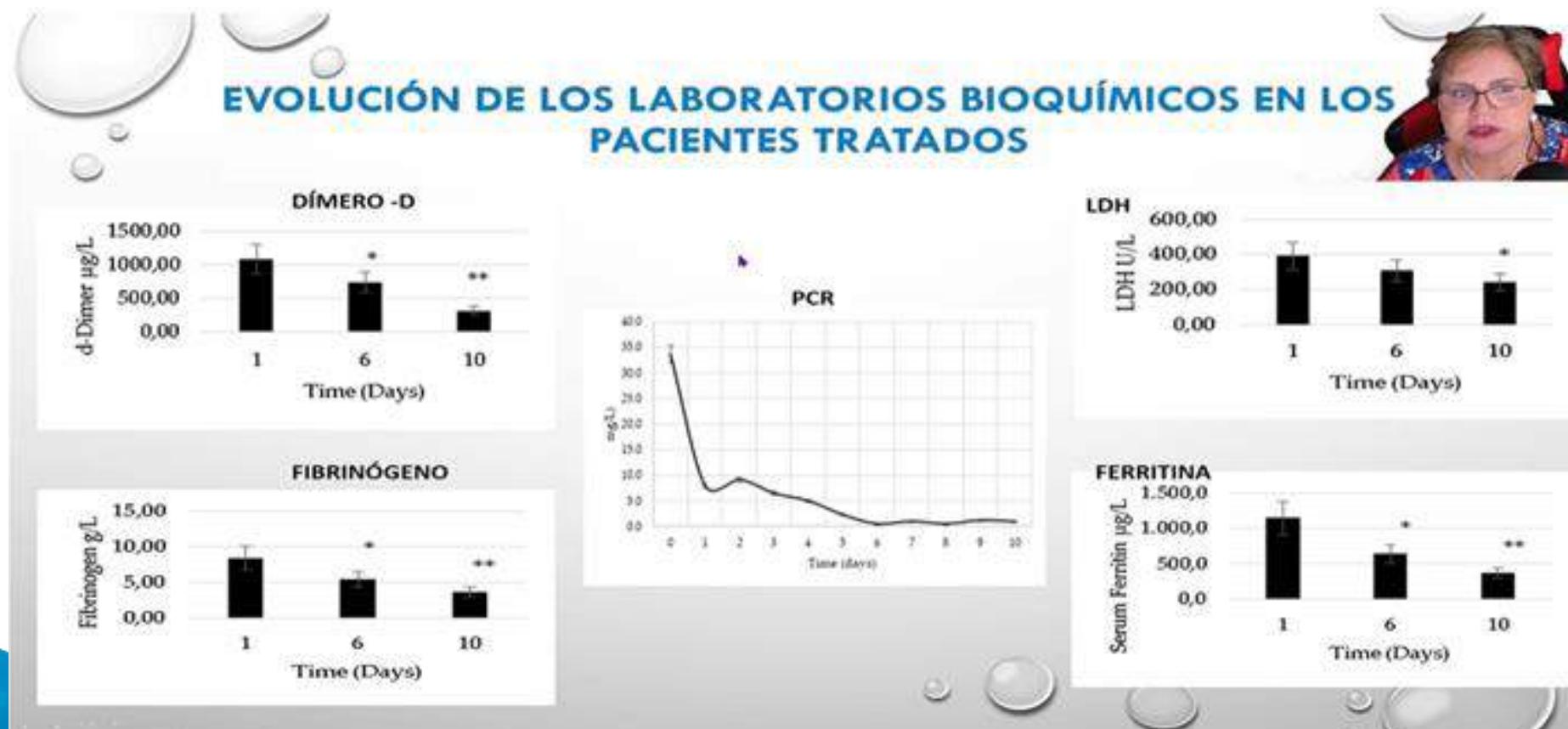
Constructo teórico Senescencia inmunológica y estados inflamatorios crónicos en > 45 años





Constructo teórico Modula el equilibrio NfkB Vs Nrf2

La experiencia de España



Ozonoterapia
para COVID19



Constructo teórico Modula el estrés oxidativo vía H₂O₂ (eustress)

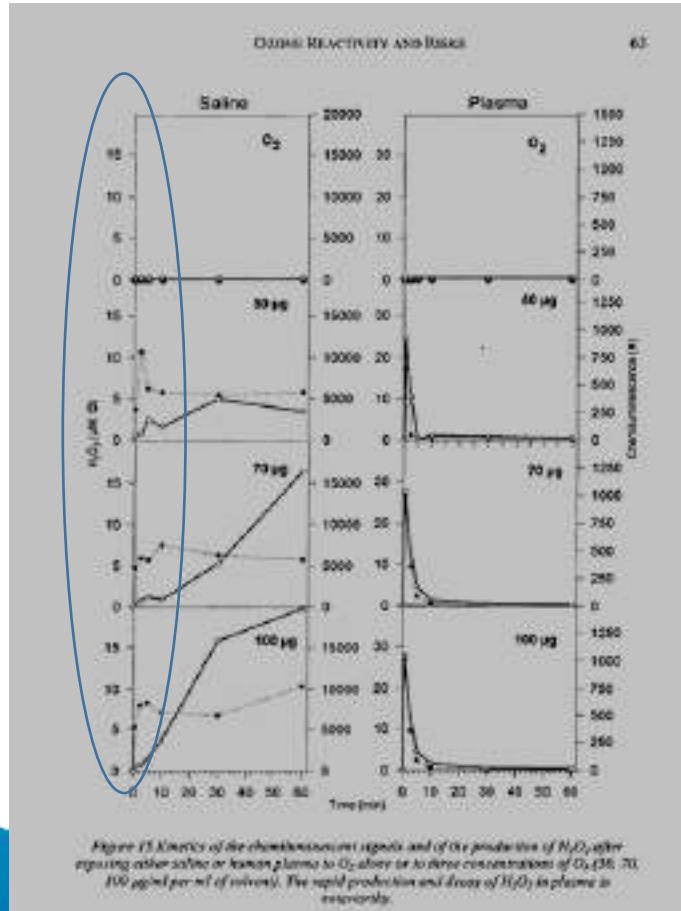


Figure 15 | Kinetics of the chemiluminescent signal and of the production of H₂O₂ after exposing either saline or human plasma to O₂ above or to three concentrations of O₂ (30, 70, 100 µM) per ml of solvent. The rapid production and decay of H₂O₂ in plasma is reversible.

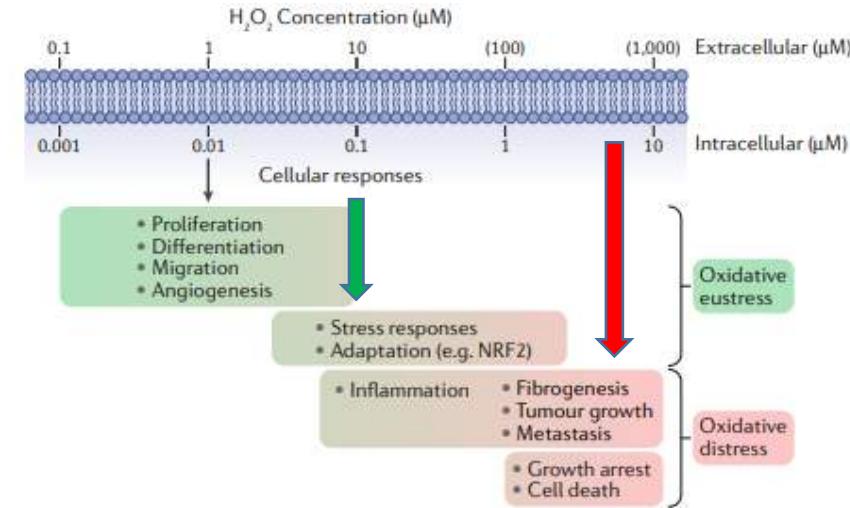


Fig. 1 | Estimated ranges of H₂O₂ concentration with regard to cellular responses: oxidative eustress and oxidative distress. The physiological intracellular range spans up to approximately 100 nM. Stress responses and adaptation occur at higher concentrations. Even higher exposure leads to inflammatory response, growth arrest and cell death by various mechanisms. Green and red colouring denotes predominantly beneficial (eustress) or deleterious responses (distress), respectively. An estimated 100-fold concentration gradient from extracellular to intracellular is given for rough orientation; it would be 500-fold if one considers 5 µM H₂O₂ concentration in blood plasma⁶⁸. Experimental high extracellular H₂O₂ exposure is given in parentheses. The gradient will vary with the cell type, location inside the cells and activity of enzymatic sinks (see the main text). For further detailed coverage, see REF.²². Adapted from REF.²³, CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



Constructo teórico Modula el estrés oxidativo vía H2O2

REVIEWS

Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents

Helmut Sies^{1,2,3} and Dean P. Jones^{4,5}

Abstract | Reactive oxygen species (ROS) is an umbrella term for an array of derivatives of molecular oxygen that occur as a normal attribute of aerobic life. Elevated formation of the different ROS leads to molecular damage, denoted as 'oxidative distress'. Here we focus on ROS at physiological levels and their central role in redox signalling via different post-translational modifications, denoted as 'oxidative stressors'. Two species, hydrogen peroxide (H_2O_2) and the superoxide anion radical (O_2^-), are key redox signalling agents generated under the control of growth factors and cytokines by more than 40 enzymes, predominantly including NADPH oxidases and the mitochondrial electron transport chain. At the low physiological levels in the nanomolar range, H_2O_2 is the major agent signalling through specific protein targets, which engage in metabolic regulation and stress responses to support cellular adaptation to a changing environment and stress. In addition, several other reactive species are involved in redox signalling, for instance nitric oxide, hydrogen sulfide and oxidized lipids. Recent methodological advances permit the assessment of molecular interactions of specific ROS molecules with specific targets in redox signalling pathways. Accordingly, major advances have occurred in understanding the role of these oxidants in physiology and disease, including the nervous, cardiovascular and immune systems, skeletal muscle and metabolic regulation as well as ageing and cancer. In the past, unspecific elimination of ROS by use of low-molecular-mass antioxidant compounds was not successful in countering disease initiation and progression in clinical trials. However, controlling specific ROS-mediated signalling pathways by selective targeting offers a perspective for a future of more refined redox medicine. This includes enzymatic defence systems such as those controlled by the stress-response transcription factors NRF2 and nuclear factor- κ B, the role of trace elements such as selenium, the use of redox drugs and the modulation of environmental factors collectively known as the exposome (for example, nutrition, lifestyle and irradiation).

¹Institute for Biochemistry and Molecular Medicine, Medical Research Institute, Austrian Academy of Sciences, Vienna, Austria; ²Department of Biochemistry, University of Vienna, Vienna, Austria; ³Leibniz Research Institute for Molecular Medicine, Berlin, Germany; ⁴Department of Biochemistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada; ⁵Department of Biochemistry, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

Received 10 July 2018; revised 10 October 2018; accepted 10 October 2018; published 12 December 2018

© 2018 The Authors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* published by Springer Nature on behalf of Macmillan Publishers Limited, part of Springer Nature. All rights reserved.

In biology and medicine, several types of 'reactive species' have attracted interest. They are named according to the nature of the reactive atoms, that is, oxygen, nitrogen or sulfur; reactive oxygen species (ROS), reactive nitrogen species and reactive sulfur species. ROS encompass a group of molecules derived from molecular oxygen, which are formed by reduction-oxidation (redox) reactions or by electronic excitation (ROX). The chemical reactivity of the various ROS molecules is vastly different, spanning up to 11 orders of magnitude in their respective second-order rate constants with specific targets^{1,2}. Obviously, 'ROS' is a term, not a molecule, and speaking of ROS therefore is not chemically precise, however, because of difficulties in discerning between individual ROS compounds, common practice

hydrogen peroxide (H_2O_2) is recognized as the major ROS in redox regulation of biological activities^{3,4}. Like calcium (Ca^{2+}), H_2O_2 is a versatile

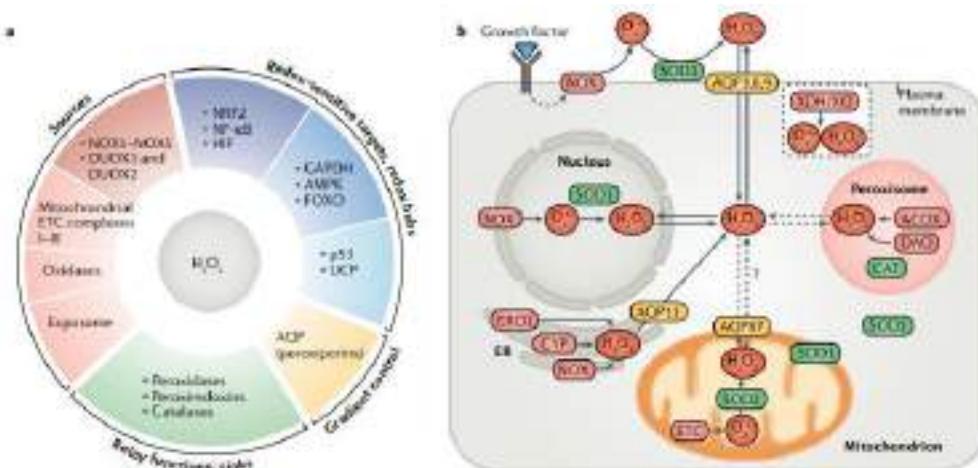


Fig. 2 | Key modulators and targets of H_2O_2 . **a**, Shown are H_2O_2 sources (red), redox-sensitive targets and hubs (blue), aquaporin (AQP) (yellow) and urate (green). H_2O_2 sources can include oxidases (ITARE, 1) and exposure (environmental sources). In addition to NADPH oxidase (NOX) and mitochondria, Redox-sensitive targets serve as hubs to support biological functions (see Fig. 1). **b**, Shown are i) include redox relay (electron transfer) reactions in transfer of signalling oxidant. Superoxide dismutase (SOD) (not shown) also serve as both source for H_2O_2 and a sink for the superoxide anion radical (O_2^- , 1–1). The major reactive oxygen species, O_2^- and H_2O_2 , and their subcellular sites of generation. For lists of individual enzymes, see Table 1. Key redox systems generating O_2^- and H_2O_2 at various subcellular sites are provided in the text. Diffusion across membranes is limited, and so O_2^- and H_2O_2 exist at different concentrations in different

subcellular compartments. Xanthine dehydrogenase/oxidase (XOD) is a liver enzyme that is also found in blood and can have xanthine oxidase (XO) activity, producing both H_2O_2 and O_2^- . The substrates hypoxanthine and xanthine are produced from ATP breakdown during ischaemia, with resulting increases in O_2^- and H_2O_2 levels following reperfusion of the heart and other organs. NOX, NADPH oxidase; AMPK, AMP-activated protein kinase; CAT, catalase; CYP, cytochrome P450-dependent monooxygenases; DMO, α -mannosidase; DUOX, dual oxidase; ER, endoplasmic reticulum; ERO1, endoplasmic reticulum oxidoreductase 1; ETC, electron transport chain; FOXO3, forkhead box protein 3; GAPDH, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; HIF, hypoxia-inducible factor; NRF2, nuclear factor erythroid 2-related factor 2; NF- κ B, nuclear factor- κ B; UCP, uncoupling protein.

NATURE REVIEWS | MOLECULAR CELL BIOLOGY

Ozonoterapia
para COVID19



Constructo teórico

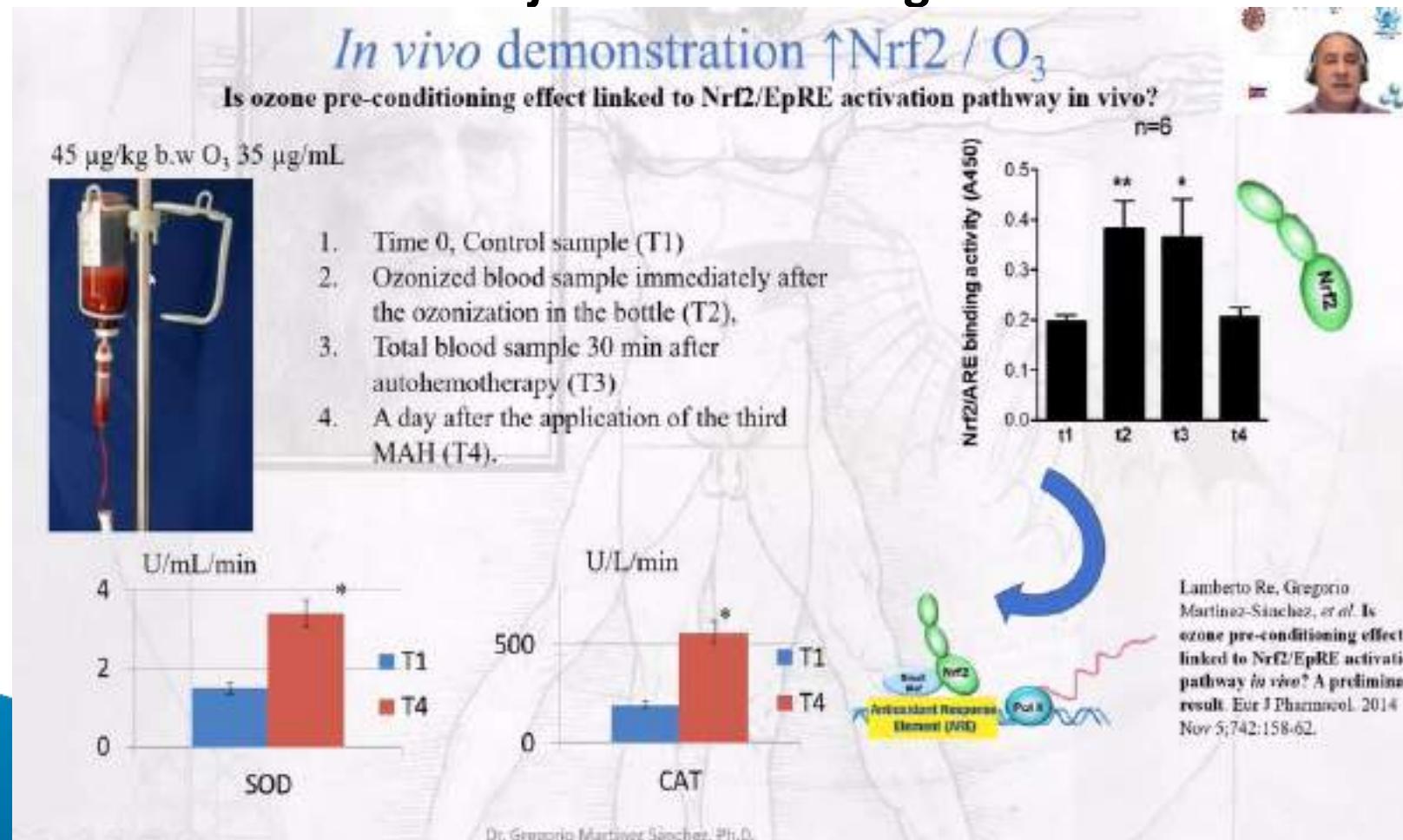
Modula el estrés oxidativo vía H2O2

REVIEWS

Ozonoterapia para COVID19



Constructo teórico Modula el equilibrio NfkB Vs Nrf2 Objetivo farmacológico.



Ozonoterapia
para COVID19



Constructo teórico Modula el equilibrio NfkB Vs Nrf2

- Objetivo farmacológico.

Se incrementa de manera sustantiva la acción de enzimas reconocidamente con alto poder antioxidante, como era de esperar a partir del aumento de los niveles de Nrf2

Contents lists available at ScienceDirect
European Journal of Pharmacology
journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejphar

Full length article

Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway *in vivo*? A preliminary result

Lamberto Re ^{a,*}, Gregorio Martínez-Sánchez ^b, Marica Bordicchia ^c, Giuseppe Malcangi ^a, Antonella Pocognoli ^c, Miguel Angel Morales-Segura ^d, John Rothchild ^e, Armando Rojas ^f

^a Clinical Pharmacology & Toxicology Department, Mykiss SA, Via Fossati 22, 60021 Cittanova, Ancona, Italy
^b Medical Center Busto Arsizio - Via Busto 40, 20100 Monza, MI, Italy
^c Department of Internal Medicine, University of Ancona, Policlinico delle Marche, 60131 Ancona, Italy
^d Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Chile, Santiago de Chile, Chile
^e Holistic Dentist Clinic, 475 Mercado Street, Suite 705, Durango, CO 81301, USA
^f Biostatistical Research Laboratories, Medicine Faculty, Catholic University of Chile, Chile

ARTICLE INFO

Article history:
Received: 26 June 2014
Received in revised form: 17 August 2014
Accepted: 18 August 2014

Keywords:
Ozone
Cancer therapy
Nrf2
Nuclear factor erythroid 2
Antioxidant
EpRE
Electrophile responsive element

ABSTRACT

The present preliminary study has been focused on verifying whether ozone preconditioning may be linked to Nrf2/EpRE (nuclear factor erythroid 2/electrophile-responsive element) activation pathway *in vivo*. Healthy volunteers received a total of three $100\text{ }\mu\text{g}/\text{m}^3$ ozonotherapy (MzH) treatments, with treatments administered on the second day. The amount of blood used for ozone test was standardized to the value obtained multiplying the subject's body weight by 1.3 in order to ensure the same ozone concentrations for each subject. A parallel group ($n=20$) age and gender matched was used as reference for the experimental variables related to the oxidative stress parameters. Levels of Nrf2 and oxidative stress index were measured throughout the study. Levels of Nrf2 ($P<0.01$) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were found to increase immediately after ozone/oxygen exposure (35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ prior to reilation). This effect was still detected ($P<0.05$) in total circulating PBMC when measured 30 min following reilation. After a series of 3 MzH, Nrf2 returned back to the basal level. At the end of the experiment the activities of superoxide dismutase and catalase were increased ($P<0.05$). These data demonstrate for the first time *in vivo* the activation of the Nrf2 pathway by a low dose of ozone and the promotion of the feedback mechanism that induces the synthesis of proteins which in turn protects cells from oxidative damage.

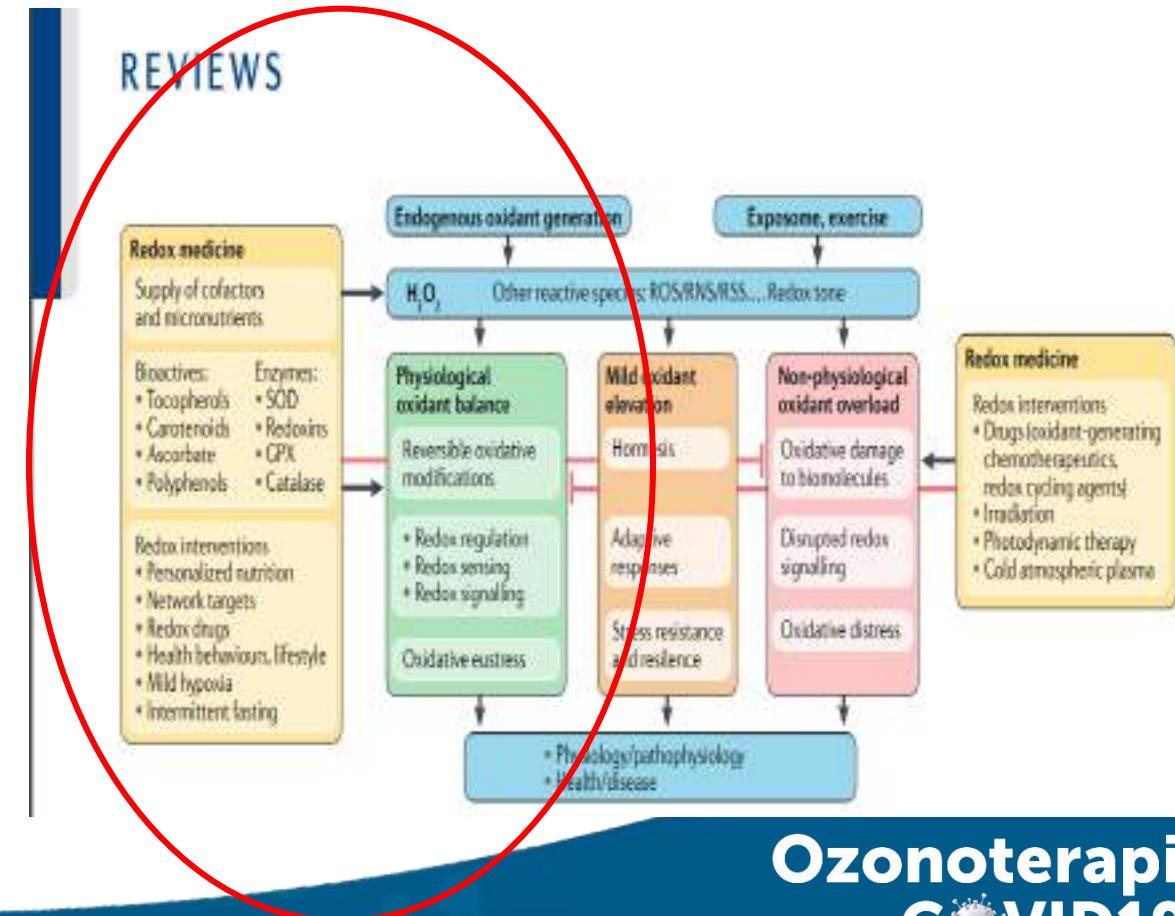


Constructo teórico

La ruta bioquímica

- Objetivo farmacológico.

La ozonoterapia a las dosis propuestas, logra estimular entre otras enzimas antioxidantes la SOD, enzima involucrada en el estímulo controlado de H₂O₂, quien a su vez modula la producción de factores de transcripción NFκB y NFr2, estos a su vez son moduladores genómicos encargados de estimular la producción en cascada de el grupo completo de enzimas antioxidantes que se encargarán de controlar estadios clínicos que cursan con alto estrés oxidativo –es decir las tormenta inflamatoria por COVID 19 en un contexto de comorbilidades y senescencia inmunológica-





“Ensayo clínico para evaluar la eficacia de la ozonoterapia en el tratamiento de la infección por corononavirus Sars-Cov2 (Covid 19) en pacientes de la ciudad de Medellín, 2020 (ECEOPTC19)”

Pregunta de investigación:

¿La Ozonoterapia es una opción terapéutica efectiva para el tratamiento de la infección por Sars-Cov-2 (Covid 19)?

Objetivo:

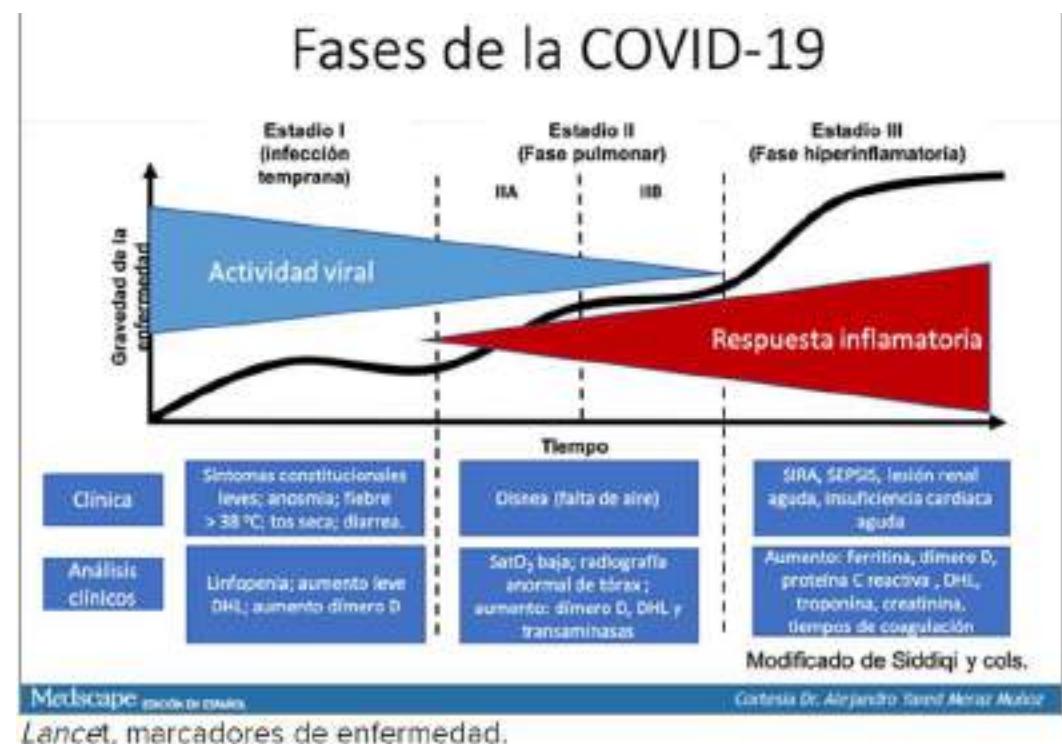
Evaluar la eficacia terapéutica de la ozonoterapia (auto-hemoterapia mayor) en pacientes hospitalizados en fases II de SARS Cov 2 (COVID 19) -gráfico -, mediante el seguimiento de algunos signos y síntomas cuantificables (saturación de O2 y dificultad respiratoria), la observación de factores pronósticos de interés en la evolución de la enfermedad; tiempos de estancia hospitalaria y el desenlace resolutivo de la infección.

Cuantificar la variación de los requerimientos mínimos de UCI a consecuencia de la utilización de ozonoterapia, para contribuir a despresurizar la necesidad de este servicio.

Escala de TAUSSIG .

Se escogen de conformidad a las fases de la enfermedad los siguientes: saturación de O2, DHL, PCR, dímero D, ferritininas transaminasas

Recuperación, traslado a UCI, o muerte.





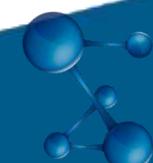
Población objetivo: Pacientes infectados SARS CoV 2, mayores de 45 años y hospitalizados en fase II.

Unidad experimental: Pacientes sujetos de intervención (igual en este caso a la unidad muestral).

Mediciones:

1. Desenlace resolutivo: Se entiende como el desenlace final de cada sujeto observado, certificado por grupo médico tratante, así:
 - a. Muerte o traslado a UCI.
 - b. Mejoría –orden de salida del centro asistencial-.
2. Tiempo de estancia hospitalaria: Se entiende como el tiempo transcurrido (medido en horas) entre el ingreso al centro asistencial y el desenlace resolutivo (empeoramiento –muerte o traslado a UCI-, o la orden de salida firmada por el médico tratante).
3. Proteína C reactiva (mg/dL): Trazador inespecífico de inflamación, también usado como factor pronóstico de enfermedad grave, remisión a UCI y mortalidad en COVID-19. Se deberá medir diariamente en ambos grupos de pacientes.
4. Lactato deshidrogenasa (UI/L): Bio-marcador pronóstico de gravedad de neumonía. también usado como factor pronóstico de enfermedad grave, remisión a UCI y mortalidad en COVID-19. Se deberá medir diariamente en ambos grupos de pacientes.
5. Saturación de oxígeno (%). Medida en porcentaje. Señala la saturación de hemoglobina arterial. Se medirá diariamente en ambos grupos pacientes.

Factores clínicos pronósticos de enfermedad grave y mortalidad en pacientes con COVID-19. Universidad de Antioquia. Abril de 2020. P 6.





Fuentes de variación

1. Tratamientos.
 - a. Nivel 0: Sin autohemoterapia mayor.
 - b. Nivel 1: Con autohemoterapia mayor
2. Control de la variación del NO tratamiento
 - a. Covariables:
 - i. Edad. Variable continua medida en años cumplidos.
 - b. Factores de bloque:
 - i. Sexo al nacer
 1. Nivel 0: Femenino.
 2. Nivel 1: Masculino
 - ii. Comorbilidades:
 1. Nivel 0: Sin comorbilidad.
 2. Nivel 1. Comorbilidad leve/moderada: Que no compromete el estado vital previo al ingreso.
 3. Nivel 2: Comorbilidad grave.





Aleatorización:

Se hará un MAS (muestreo aleatorio simple) sin reemplazo, para seleccionar a la mitad de los pacientes en el grupo de tratamiento, con un tamaño de muestra definido (47 por cada grupo) –alternativamente por disponibilidad. (propuesta alternativa 30 pacientes por grupo).

Hipótesis nula:

- No hay diferencia entre los tiempos de estancia para cada uno de los grupos.
- No hay diferencia en las probabilidades de mejora de los pacientes en cada uno de los grupos.
- No hay diferencia en los trazadores de inflamación y gravedad seleccionados.

Hipótesis alternativa:

- Existe diferencia entre los tiempos de estancia para cada uno de los grupos.
- Existe diferencia en las probabilidades de mejora de los pacientes en cada uno de los grupos.
- Existe diferencia en los trazadores de inflamación y gravedad seleccionados.





Análisis de datos:

- a. Las mediciones y resultados de PCR, LDH y saturación de oxígeno, serán tratadas descriptivamente. Análisis bivariados donde sea pertinente
- b. Con el fin de testear estadísticamente las hipótesis, se propone estimar un análisis de supervivencia multivariado (modelo de riesgos competitivos), pues se presume alta probabilidad de censura derecha, es decir no se termina de observar el evento resolutivo por diversas razones. (finalización del estudio, abandono del paciente antes de completar la terapia).





Una intervención por seleccionar

Autohemoterapia mayor



Solución salina ozonizada



**Ozonoterapia
para COVID19**



Una intervención por seleccionar

Autohemoterapia mayor

- Concentración: 25-30 µg/ml con un volumen total de 100-200 ml de Ozono y un mismo volumen de Ozono de acuerdo al peso del paciente.
- Cálculo: 2,5 ml de sangre/kg de peso, máximo hasta 200ml. El volumen de sangre es igual al volumen de Ozono empleado (relación 1:1).
- Acceso venoso periférico preferiblemente, también puede hacerse vía central.
- Dosis inicial: 25 µg/mL de Ozono por mL de sangre, Incrementar después de la quinta sesión a 30 µg/ml.

Solución salina ozonizada

- Consiste en la aplicación de 200 ml de solución salina fisiológica (0.9 % NaCl), previamente saturada –durante 15 minutos- con una mezcla de oxígeno medicinal y ozono a bajas concentraciones, 3 o 5 µg/mL, y posteriormente su aplicación IV al paciente, conservando el burbujeo hasta que falten 50 mL de infusión, momento en el cual se suspenderá el burbujeo para eliminar cualquier posibilidad de insuflar gas en el torrente sanguíneo. Debe aclararse que el gas de O₂/O₃ no disuelto en la mezcla es eliminado mediante conexión cerrada al destructor de ozono con que cuenta el equipo con registro INVIMA. Se inicia aplicando 60 µg de ozono por sesión y luego si el paciente mejora de conformidad a parámetros clínicos y de laboratorio, aumentar en la 5ta sesión 100 µg de ozono. El tiempo de saturación previo a la aplicación es de 15 minutos, y el goteo de infusión IV se calcula de 130 gotas/min. (aproximadamente 30 minutos)



Recursos:

- 2 Auxiliares de enfermería con experiencia procedural en AHTM
 - 2 Médicos presenciales en las instalaciones del centro asistencial.
 - 1 Médico coordinador con experiencia en ozonoterapia
 - 2 Médicos epidemiología (diseño metodológico, control de sesgos, análisis de datos)
 - 1 Médico supervisor con experiencia en ozonoterapia;: Auditaje del proceso.
 - 10 Médicos de apoyo con experiencia en ozonoterapia. Apoyo a médicos asistenciales.
 - 1 Matemático – estadístico: Análisis de datos. Modelos de supervivencia multivariados
- AVAL: Grupo de ozonoterapia Medellín, Asociación Colombiana de Ozonoterapia





Ozonoterapia
para COVID19