MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS CARLOS J. FINLAY

CAMAGÜEY

HOSPITAL GENERAL DOCENTE

CAPITÁN ROBERTO RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ

DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA RECTAL EN PACIENTES SINTOMÁTICOS CON DEFICIENCIA DE INMUNOGLOBULINA A

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

Dra. Jacqueline Díaz Luis

Ciego de Ávila

2020

REPÚBLICA DE CUBA

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS CARLOS J. FINLAY

CAMAGÜEY

HOSPITAL GENERAL DOCENTE

CAPITÁN ROBERTO RODRÍGUEZ FERNÁNDEZ

DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA RECTAL EN PACIENTES SINTOMÁTICOS CON DEFICIENCIA DE INMUNOGLOBULINA A

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Médicas

Autor: Jacqueline Díaz Luis

Tutor: Dr. C. Consuelo Milagro Macías Abraham

Co-tutor: Dr. C. Silvia Menéndez Cepero

Ciego de Ávila

2020

AGRADECIMIENTOS

El primer agradecimiento quiero hacerlo llegar al impulsor de todos mis sueños, mi hijo

A mi esposo por su amor y apoyo incondicional

A mis padres por inculcarme el amor por la superación académica

A la Dr. C. María Julia por sus enseñanzas y sugerencias

A la Dr. C. Consuelo por su esfuerzo en la tutoría de esta tesis

A la Dr. C. Silvia por su apoyo y recomendaciones oportunas

Al Dr. Maikel por su cooperación en el procesamiento estadístico, por el tiempo dedicado y su apoyo incondicional

A los pacientes que participaron en el ensayo

A TODOS MUCHAS GRACIAS

DEDICATORIA

A Mi Hijo

Por ser la fuente de mi inspiración y la fuerza que me impulsa cada día.

A Mis Padres

Lo merecen y les debo toda mi formación

A Mi Esposo

Por su amor y comprensión

A Los Enfermos Con Inmunodeficiencias Primarias

Porque sufren y necesitan de nosotros

SÍNTESIS

Antecedentes: Al no existir tratamiento de reemplazo para la inmunoglobulina A cuando está deficiente o ausente, es necesario aplicar otras terapias.

Pacientes y métodos: Para evaluar la eficacia y seguridad terapéutica de la ozonoterapia se realizó un ensayo clínico (RPCEC 00000236), que fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación y los pacientes dieron el consentimiento informado para su inclusión. Fueron asignados aleatoriamente 60 pacientes a dos grupos, uno para recibir ozono por insuflación rectal (grupo estudio) y el segundo Hebertrans® (grupo control), por vía subcutánea. Las variables, evaluación clínica y respuesta terapéutica se midieron al mes y seis meses posteriores, además se identificaron los eventos adversos.

Resultados: En el grupo estudio se obtuvo aumento de las inmunoglobulinas G y M, disminución de los parámetros prooxidantes e incremento de antioxidantes endógenos y se reportaron eventos adversos leves.

Conclusiones: Con la ozonoterapia se logró efectos beneficiosos sobre el balance de oxidación reducción, los niveles de inmunoglobulinas G y M y la evolución clínica de los pacientes. La terapia con ozono medicinal puede ser una opción de tratamiento adicional, no invasivo, para los pacientes con deficiencia de inmunoglobulina A.

TABLA DE CONTENIDOS

	¨Pág.¨
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS SOBRE DEFICIENCIA DE IgA, ESTRÉS OXIDATIVO Y OZONOTERAPIA	12
1.1 Inmunodeficiencias primarias	12
1.2 Deficiencia de IgA	13
1.2.1 Epidemiología	15
1.2.2 Etiopatogenia	15
1.2.3 Manifestaciones clínicas	17
1.2.4 Diagnóstico	18
1.2.5 Complicaciones	20
1.2.6 Tratamiento	20
1.3 Estrés oxidativo, sistema inmune e inmunodeficiencias	22
1.3.1 Estrés oxidativo y sistema inmune	24
1.3.2 Estrés oxidativo en las inmunodeficiencias	25
1.4 Consideraciones teóricas de la ozonoterapia	26
1.4.1 Antecedentes históricos	26
1.4.2 Acciones farmacológicas de la ozonoterapia	28
1.4.3 Acciones sobre el sistema inmune	31
1.4.4 Acciones sobre el balance redox	35

1.4.5 Evidencias científicas sobre el uso de la ozonoterapia en medicina 36

1.4.6 Fundamentación de ozonoterapia por vía rectal en medicina 37

1.4.7 Efectos secundarios y contraindicaciones de la ozonoterapia 39

CAPÍTULO 2. DISEÑO METODOLÓGICO 41

2.1 Tipo de estudio 41

2.2 Universo y muestra 41

2.2.1 Criterios de selección 41

2.2.2 Determinación del tamaño muestral 42

2.3 Procedimientos de evaluación 44

2.4 Operacionalización de variables de control 45

2.5 Pruebas de Laboratorio 47

2.6 Distribución de los pacientes por grupo de tratamiento y enmascaramiento 53

2.7 Intervención terapéutica 54

2.8 Evaluación de eficacia 55

2.9 Evaluación de la seguridad 57

2.10 Recolección y manejo de datos 58

2.11 Análisis estadístico 58

2.13 Procedimientos éticos 59

CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA, CLÍNICA, INMUNOLÓGICA Y DEL ESTADO DEL BALANCE REDOX DE LOS PACIENTES CON DIgA 61

3.1 Características demográficas según edad y sexo 61

3.2 Evaluación clínica 63

3.3 Evaluación inmunológica 67

3.4 Evaluación del estado del balance redox 74

3.5 Conclusiones del capítulo 77

CAPÍTULO 4. EVALUACIÓN DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA 79

4.1 Análisis de eficacia 79

4.1.1 Evaluación clínica 79

4.1.2 Niveles de inmunoglobulinas séricas 82

4.1.3 Parámetros prooxidantes 85

4.1.4 Parámetros antioxidantes 87

4.1.5 Análisis integrado de la respuesta terapéutica 91

4.2 Análisis de seguridad 93

4.3 Validez de los resultados 96

4.4 Conclusiones del capítulo 96

5. CONCLUSIONES 97

6. RECOMENDACIONES 98

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8. ANEXOS

GLOSARIO

AEPROMO: Asociación española de profesionales médicos de ozonoterapia.

AP-1: Proteína activadora 1 (del inglés, *activator protein-1*).

APRIL: Ligando inductor de la proliferación A (del inglés, *A proliferation-inducing ligand).*

BAFF: Factor activador de la célula B (del inglés, *B-cell activating factor*).

CAT- Enzima catalasa.

CD: Molécula proteica de la superficie celular designada por un número o *grupo de diferenciación* (del inglés, *cluster of differentiation*).

CNGM: Centro Nacional de Genética Médica.

DIgA: Deficiencia de inmunoglobulina A.

EA: Evento adverso.

ELISA: Enzimoinmunoensayo de adsorción (del inglés, *Enzyme-linked immunosorbent assay).*

EO: Estrés oxidativo.

ERO: Especies reactivas del oxígeno.

ESID: Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (del inglés, *European Society for Immunodeficiencies*).

FRAP: Habilidad del plasma de reducir el hierro férrico (del inglés, *ferric reducing ability of plasma).*

GC: Grupo control.

GE: Grupo estudio.

GPx: Glutatión peroxidasa.

H_2O_2: Peróxido de hidrógeno.

IDP: Inmunodeficiencia primaria.

IFN-γ: Interferón gamma.

IgA: Inmunoglobulina A.

IgG: Inmunoglobulina G.

IgM: Inmunoglobulina M.

IHI: Instituto de Hematología e Inmunología.

IL: Interleucina

IPRA: Infección parasitaria recurrente aguda.

ISCO3: Comité Científico Internacional de Expertos en Ozonoterapia (del inglés, *International Scientific Committee of Ozone Therapy*).

KEAP: Proteína derivada de los eritrocitos parecida al Kelch (del inglés, *Kelch-like erythroid cell derived protein*).

LASID: Sociedad Latinoamericana de Inmunodeficiencias (del inglés, *Latin American Society for Immunodeficiencies).*

LES: Lupus eritematoso sistémico.

MDA: Malondialdehido.

NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato.

NFAT: factor nuclear de la célula T activada (del inglés, *Nuclear factor actived T cell*)

NF-κB: Factor nuclear kappa B (del ingles, *Nuclear factor kappa B).*

NK: Células asesinas naturales (del inglés, *natural killers*).

Nrf2: Factor nuclear eritroide 2 relacionado (del inglés, *nuclear erythroid 2-related factor).*

O^{-}_{2}: Anión radical superóxido.

O_3: Molécula de ozono.

O_3T: ozonoterapia.

ONOO˙: Peroxinitrito.

PAOP: Productos avanzados de oxidación de proteínas.

REDOX: Oxidación reducción.

RL: Radical libre.

SIDA: Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

SOD: Superóxido dismutasa.

TACI: Activador transmembrana e interactor del modulador de calcio y el ligando de ciclofilina (del inglés, *transmembrane activator and calcium-modulator and cyclophilin ligand [CAML] interactor).*

TD: Toxoide diftérico

TGF-β: Factor de crecimiento transformante beta (del inglés, *transforming growth factor-betta*).

Th1: Linfocitos T auxiliadores 1 (del inglés, *T helper1*).

TNF-α: Factor de necrosis tumoral-alfa (del inglés, *tumor necrosis factor alpha*).

Treg: Células T reguladoras.

TT: Toxoide tetánico.

WFOT: Federación Mundial de Ozonoterapia (del inglés *World Federation of Ozone Therapy*).

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la clasificación de inmunodeficiencias primarias (IDP) actualizada en 2013 por el Comité de Expertos de la Unión Internacional de Sociedades de Inmunología (IUIS), la deficiencia de IgA (DIgA) es una IDP que pertenece al grupo de trastornos con déficit predominante en la producción de anticuerpos.[1]

Las IDP se consideran enfermedades poco frecuentes, sin embargo, evidencias reportadas indican mayor frecuencia de la que se espera. Aproximadamente uno de cada 8 000 a 10 000 individuos tienen una IDP, lo que representa aproximadamente 10 millones de personas en el mundo.[2] Las cifras informadas son variables por países, debido a la heterogeneidad genética de su expresión, falta de diagnóstico preciso y escasos registros epidemiológicos.

Por otra parte, la DIgA es relativamente común y al igual que el resto de las IDP, la incidencia mundial varía dependiendo del origen étnico. En los Estados Unidos la frecuencia estimada es desde 1:223 hasta 1:1000 en la población general y es más baja en poblaciones de origen asiáticas (1:2 600-1:18 000).[2,3] Los informes del registro de IDP de la Sociedad Latinoamericana de inmunodeficiencias (LASID) muestran un total de 1 423 casos con deficiencia selectiva de IgA y 13 con déficit secundario de IgA en América Latina.[4] Los informes del Registro cubano de

IDP reportan 111 casos con DIgA, identificándose como la IDP más común.[5] En Cuba, al igual que el resto del mundo, existe un subregistro.

La DIgA es la IDP más frecuente en la provincia Ciego de Ávila. Del total de pacientes con sospecha clínica de inmunodeficiencias, asistidos en la consulta provincial de Inmunología durante 6 años, la DIgA presentó una frecuencia de 1 por cada 101 pacientes analizados, mientras que el resto de las inmunodeficiencias tuvieron una menor frecuencia (1 por cada 509 pacientes) (Registro del Servicio de Inmunología del Hospital General Docente ¨Capitán Roberto Rodríguez Fernández¨ de Morón).

Las IDP incluyen un amplio espectro de manifestaciones clínicas comunes. El diagnóstico presuntivo de estas enfermedades se fundamenta en los diez signos de alarma establecidos por la Fundación Jeffrey Modell [6] y el diagnóstico definitivo, se establece según los criterios definidos por la Sociedad Europea de Inmunodeficiencias (ESID), que clasifica a la DIgA de acuerdo a su presentación clínica en dos categorías: con déficit completo y parcial.[7]

Estas formas clínicas pueden presentarse: asociadas a una incapacidad en la formación de anticuerpos contra antígenos polisacáridos o deficiencia de IgG2, totalmente asintomáticas (70% de los afectados) o como formas clínicas “floridas” donde predominan infecciones, enfermedades alérgicas y autoinmunes.[8]Las infecciones bacterianas recurrentes del tracto respiratorio son el hallazgo más común. Algunos pacientes pueden desarrollar daño orgánico, infecciones

gastrointestinales parasitarias como la giardiasis y otros, trastornos alérgicos y autoinmunes.[8,9]

La atopia es frecuente en esta enfermedad, se reporta asociación entre el asma bronquial y la DIgA.[10] De igual forma, las enfermedades autoinmunes pueden ser la primera manifestación clínica de la DIgA. Estudios de cohorte evidencian la relación entre DIgA y lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y enfermedades autoinmunes localizadas en ciertos órganos o tejidos.[11]

La patogenia de la enfermedad es multifactorial, se describen defectos en la diferenciación terminal de la célula B hacia célula plasmática secretora de IgA que involucra factores tales como el defecto intrínseco del linfocito B, la disfunción de células T auxiliadoras y la deficiencia de citocinas en el curso de la respuesta a estímulos externos.[9]

Para corroborar el diagnóstico clínico en esta IDP se realizan pruebas de laboratorio, como la cuantificación de inmunoglobulinas séricas (IgG, IgA, IgM) y de anticuerpos específicos contra los antígenos proteicos y polisacáridos. Otras pruebas permiten confirmar el tipo de alergia y de enfermedad autoinmune presente.[12,13]

La DIgA no tiene tratamiento específico, ni existe tratamiento de reemplazo. Las infecciones se tratan con antimicrobianos según la sensibilidad del germen causal y algunos enfermos necesitan tratamiento profiláctico por tiempo prolongado, para evitar las complicaciones y el daño orgánico. Cuando aparecen juntas las enfermedades alérgicas y autoinmunes, se emplea el tratamiento específico según la forma de presentación de esas enfermedades.[14] Una alternativa de tratamiento

pudiera ser suplementar las superficies externas de IgA, no se recomiendan los productos sanguíneos que la contienen (preparados de inmunoglobulina humana) por el riesgo de reacciones anafilácticas en los pacientes con anticuerpos anti IgA.[14] Estas limitaciones en el tratamiento orientan a la búsqueda de otras opciones que no sean invasivas y resulten eficaces para incrementar la respuesta inmune, en particular contra las infecciones que se presentan en estos pacientes.

La respuesta inmunitaria involucra receptores celulares, señales coestimuladoras, varios tipos de citocinas y la regulación por procesos de oxidación reducción (redox).[15] Durante la respuesta inmune frente a las infecciones recurrentes, las alergias e inmunodeficiencias, hay un exceso en la producción de radicales libres (RL), que produce desbalance entre los prooxidantes y antioxidantes del metabolismo redox a favor de los primeros; lo que ocasiona perdida de la señalización, del control redox y daño a biomoléculas como proteínas, lípidos y ácido desoxirribonucleico.[16] Cuando se altera la homeostasis en el metabolismo redox celular, habitualmente las células y tejidos evolucionan a una situación de ¨daño oxidativo" que facilita la disfunción y eventual muerte celular. La reversión de los efectos de los RL y la regulación del estado redox es necesaria para mantener la función inmune normal lo que puede lograrse con el uso del ozono (O_3) medicinal.[16,17]

El O_3 medicinal comparte propiedades de un profármaco, causa efectos biológicos sobre el organismo con una curva bifásica de dosis respuesta (hormesis). La terapia

con O_3 medicinal se basa en revertir el estrés oxidativo (EO) crónico a nivel celular y ejercer efectos moduladores sobre las funciones del sistema inmune.[16,18]

Los resultados beneficiosos obtenidos en investigaciones y más de 60 años de la aplicación del O_3 medicinal en la práctica médica han permitido la aprobación de este proceder, así como la creación de Sociedades de Ozonoterapia (O_3T) en varios países.[19,20] La "Asociación Médica Alemana para el uso del Ozono en la Prevención y Terapia", estableció las indicaciones, frecuencia, concentración y dosis del O_3 medicinal.[21] Se reconoció que las concentraciones de O_3 entre 20 y 40 µg/mL son fisiológicamente efectivas y recomendadas para la aplicación sistémica.[19,21]

Los beneficios de la O_3T en diversas enfermedades a lo largo de más de 30 años de investigación, su seguridad y los mecanismos a través de los que ejerce sus acciones, permitió establecer en Cuba normas de buenas prácticas reconocidas internacionalmente [22] y regular esta terapia, respaldado en la Resolución Ministerial 261 del Ministerio de Salud Pública en el año 2009.

La aplicación del O_3 medicinal mediante la insuflación rectal tiene un efecto sistémico similar, en un 90 %, a la auto hemoterapia mayor y es considerada la vía de elección en niños, ancianos y pacientes que no puedan recibir terapias endovenosas.[21] Investigaciones preclínicas y clínicas evidencian el efecto sistémico[23,24] y la seguridad de la vía rectal.[25] Es la vía que recomienda el Comité Científico Internacional de Expertos en Ozonoterapia (ISCO3) como terapia sistémica en el asma, las enfermedades virales, autoinmunes y las inmunodeficiencias.[26]

En Cuba existen evidencias de los beneficios de la O_3T en el tratamiento de inmunodeficiencias secundarias humorales y celulares, en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, en las deficiencias fagocíticas y en enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoide, donde se demuestran los efectos inmunomoduladores, antioxidantes y antiinflamatorios de esta terapia.[27,28,29] Estos hechos, junto a la utilidad que demuestra la O_3T en el tratamiento de varias condiciones médicas, su seguridad, los conocimientos actuales sobre el mecanismo de acción, la aprobación recibida por organizaciones internacionales su uso en diferentes protocolos médicos y la experiencia de la autora en la práctica asistencial, motivaron la realización de esta investigación.

Planteamiento del problema y justificación del estudio

No existe un tratamiento específico capaz de restablecer de forma eficaz y segura las deficiencias de la síntesis de IgA, el uso frecuente o profiláctico de antimicrobianos en estos pacientes, favorece el desarrollo de resistencia bacteriana y la ocurrencia de reacciones adversas (destrucción de la microbiota y sobreinfecciones); no se recomienda la aplicación de hemoderivados que contengan IgA por el riesgo de reacción anafiláctica[30] y el Hebertrans®, con efectos clínicos beneficiosos en esta inmunodeficiencia,[31] constituye un tratamiento inespecífico que no es, en la totalidad de los casos, beneficioso desde el punto de vista clínico y no está disponible de forma estable en las farmacias, lo que dificulta su adquisición cuando se necesite. Por otra parte, existen evidencias científicas del efecto inmunomodulador y antioxidante de la O_3T y de su inocuidad en investigaciones preclínicas y clínicas,

que avalan su uso en diferentes protocolos médicos; [27-29] además de constituir un proceder terapéutico factible desde el punto de vista económico y social.[32]

La escasez de ensayos clínicos controlados y aprobados por los órganos reguladores, con el objetivo de evaluar la eficacia y seguridad de la O_3T rectal en diferentes enfermedades, incluyendo las del sistema inmune, hacen necesaria la realización de este estudio en pacientes con DIgA.

Problema científico

¿Resultaría eficaz y segura la aplicación de la O_3T por vía rectal en los pacientes con DIgA?

Objeto de estudio: el proceso de tratamiento con O_3T en la DIgA.

Objetivo general

Evaluar la eficacia y seguridad de la O_3T aplicada por vía rectal, en el tratamiento de los pacientes con DIgA.

Objetivos específicos

1. Determinar la homogeneidad entre dos grupos de tratamiento de pacientes con DIgA, según variables demográficas, clínicas, inmunológicas y del balance redox.
2. Evaluar la eficacia de la O_3T aplicada por vía rectal en los pacientes con DIgA.
3. Determinar la seguridad de la ozonoterapia aplicada por vía rectal en los pacientes con DIgA

Hipótesis de la investigación

La aplicación de la O_3T por insuflación rectal en pacientes con DIgA contribuye a reducir las infecciones, mejorar la respuesta de anticuerpos y el balance redox y constituirá un tratamiento no invasivo, que será bien tolerado por los pacientes.

Diseño metodológico general de la investigación

Se realizó un ensayo clínico controlado y aleatorizado, para lo cual se analizó la homogeneidad de dos grupos de pacientes con DIgA, se ejecutaron los procedimientos del ensayo clínico fase II, y se evaluó la intervención terapéutica al mes y a los 6 meses después de finalizado los tratamientos.

Estructura de la tesis

La tesis está estructurada en: introducción, 4 capítulos, conclusiones, recomendaciones, referencias bibliográficas y anexos. En el primer capítulo se fundamentan aspectos teóricos de la DIgA, el EO y de la O_3T; en el segundo capítulo se describe el diseño metodológico de la investigación, en el tercero se analiza el comportamiento de las variables demográficas, clínicas, inmunológicas y del balance redox, para demostrar la homogeneidad de los grupos de tratamiento y en el cuarto capítulo se analizan los resultados de la evaluación de la eficacia y seguridad de la O_3T.

Novedad Científica

La novedad de esta investigación radica en que es el primer ensayo clínico que se realiza sobre el uso de la O_3T rectal en el tratamiento de la DIgA.

Se propone como solución un esquema de dosis de O_3T rectal ajustado a la edad, que permite minimizar y controlar las infecciones en la DIgA, con efectos beneficiosos antioxidantes e inmunomoduladores; como terapéutica alternativa o complementaria, eficaz y segura, que no tiene antecedentes de uso para el tratamiento de la DIgA.

Contribución a la teoría

1- Es la primera vez que se aporta información teórica sobre el desbalance en el metabolismo redox en la DIgA. Por lo que constituye, un punto de partida de múltiples líneas de investigación en esta temática.

2- Aporta elementos a la teoría del O_3 medicinal, aplicado por vía rectal y con dosis ajustadas a la edad, como inmunomodulador y estabilizador del balance redox, al evidenciar el aumento de la inmunoglobulina G y M, la disminución de parámetros prooxidantes y el aumento de parámetros antioxidantes en la DIgA.

Aporte práctico

1- Se aporta el esquema de tratamiento de O_3T por la vía rectal, con dosis escalonadas y ajustadas a la edad, que ofreció efectos beneficiosos clínicos, inmunomoduladores y antioxidantes en los pacientes con DIgA, con un importante impacto social al lograr satisfacer las necesidades humanas de salud en estos pacientes.

2- Los resultados permiten el uso más extensivo de la medicina natural en el área de tratamiento de las IDP.

3- Posibilitó mejor aprovechamiento de los recursos humanos y las tecnologías instaladas en el hospital.

Límites del alcance de la investigación

Se trata de un estudio local y monocéntrico con el número de pacientes tratados en los años que duró la investigación, que permite la continuación de las siguientes fases del ensayo clínico.

CAPÍTULO 1

CONSIDERACIONES TEÓRICAS SOBRE DEFICIENCIA DE IgA, ESTRÉS OXIDATIVO Y OZONOTERAPIA

CAPÍTULO 1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS SOBRE DEFICIENCIA DE IgA, ESTRÉS OXIDATIVO Y OZONOTERAPIA

1.1 Inmunodeficiencias primarias

Las IDP son enfermedades que se caracterizan por déficit del sistema inmunológico como resultado de defectos genéticos, que alteran el desarrollo y la funcionabilidad del sistema inmune, con la consiguiente afectación cuantitativa o cualitativa de los mecanismos implicados en la inmunidad adaptativa e innata.[1,33] Se consideran "raras" o poco frecuentes a nivel mundial. Sin embargo, las evidencias reportadas indican una mayor frecuencia de la esperada [34] y la Organización Mundial de la Salud reconoce en la actualidad más de 250 tipos de IDP.[1,33] Aproximadamente, de 1:8 000 a 1:10 000 individuos tienen una IDP congénita que afecta su salud, lo que representa aproximadamente 10 millones de personas en el mundo.[2,33] Sin considerar, que entre el 70 y el 90% de los pacientes permanecen sin diagnóstico, constituyendo subregistro de la enfermedad en la mayoría de los países del mundo, [2,4,7,33] incluyendo a Cuba.[5]

Las inmunodeficiencias ocasionan alta susceptibilidad de enfermar con infecciones frecuentes y recurrentes, que no evolucionan de la manera habitual ya que se prolongan y como consecuencia se producen complicaciones graves.[8,9,34] En las IDP existe mayor prevalencia de enfermedades autoinmunes [35] y alergicas.[10]

La fundación Jeffrey Modell, estableció los 10 signos de sospecha de IDP, estos incluyen: ocho o más episodios de otitis media aguda en un año, dos o más infecciones graves de senos paranasales en un año, dos o más meses de tratamiento con antimicrobianos sin mejoría, dos o más neumonías en un año, falta de ganancia de peso y talla, infecciones recurrentes de piel y tejidos blandos, abscesos de órganos, muguet o candidiasis cutánea persistente después del año de edad, necesidad de antibióticos intravenosos para curar las infecciones, dos o más infecciones graves (sepsis, meningitis, osteomielitis) e historia familiar de inmunodeficiencia.[6,36] Las IDP se clasifican de acuerdo al componente del sistema inmune que está defectuoso.[1,37]

1.2 Deficiencia de IgA

El 30% de las inmunoglobulinas del suero son de tipo IgA, es la segunda en concentración y la más abundante en secreciones (80% del total). Existen dos isotipos en el ser humano, IgA1 e IgA2. La IgA1 monomérica es predominante (85%) en el suero. La IgA2 dimérica, muestra dos moléculas de IgA unidas covalentemente a través de la cadena J y un componente secretor, sintetizado en las células epiteliales que participa en el transporte transcelular de la IgA2 para su incorporación a las secreciones.

Se han identificado cinco tipos de receptores de IgA no relacionados estructuralmente, tres de ellos se consideran genuinos: el receptor de IgA polimérica, se involucra en el transporte de IgM e IgA a través de las mucosas. El segundo tipo (CD89) es el receptor específico de IgA que une IgA1 e IgA2. El tercer tipo une IgA e

IgM mientras que los dos restantes, alternativos, son el receptor de asialoglucoproteína y de transferrina. El receptor asialoglucoproteína se implica en el catabolismo de la IgA y el de transferrina se encarga de la deposición de IgA en los tejidos. La activación del receptor CD89 por inmunocomplejos o polímeros de IgA induce la activación de las células inmunes.[8,38]

La función de la IgA1 se basa en la opsonización y facilitación de la fagocitosis, neutralización de toxinas bacterianas y la activación del complemento por la vía alternativa. Saha y cols. demostraron la acción antiinflamatoria de la IgA1, al inhibir la diferenciación de las células Th17 y la síntesis de la IL-17, por lo que se le atribuye una función inmunoreguladora.[39] La IgA2 es predominante en secreciones mucosas (90%) y es activa frente a los antígenos de polisacáridos y lipopolisacáridos.[38,40] Esta inmunoglobulina desempeña una función importante en la exclusión inmune de microorganismos patógenos y en el mantenimiento de la homeostasis intestinal.[40] Esta función puede ser un mecanismo compensatorio que previene las manifestaciones clínicas de la enfermedad.[38] La mucosa intestinal está mayormente poblada de linfocitos B IgA positivos y células plasmáticas secretoras de IgA, como resultado de una prevalencia local de señales coestimuladoras y citocinas del micro entorno, que favorecen el cambio de isotipo a IgA y el direccionamiento selectivo de plasmoblastos IgA^+ hacia la mucosa.[40]

La DIgA fue descrita por primera vez en 1961 en pacientes con ataxia telangiectasia, es la más común entre las deficiencias de anticuerpos y se incluye en el grupo de defectos predominante de anticuerpos.[1,8]

1.2.1 Epidemiología

La incidencia de DIgA es variable y depende del origen étnico de la población, en los Estados Unidos la frecuencia estimada es desde 1:223 hasta 1:1000 en la población general. La incidencia promedio para la población caucásica es de aproximadamente 1: 500, mientras que en Japón es de 1:18 000 y es incluso menor en la India.[3,8]

Los informes del registro de IDP de LASID muestran, hasta el mes de julio de 2018, un total de 1 423 casos de deficiencia selectiva y 13 casos con deficiencia secundaria de IgA.[4] En Cuba, los reportes divulgados en el Registro Cubano sobre las IDP, evidencian un total de 337 casos, de estos 163 (49%) se caracterizan por deficiencias predominantes de anticuerpos, dentro de los que la DIgA con 111 casos (36,3%) fue la más común; el resto incluyen 38 inmunodeficiencia común variable, tres déficit de IgG, tres deficiencia de subclases de IgG, una deficiencia de IgM y siete agammaglobulinemia ligada a X.[5] En Cuba existe subregistro nacional y el Grupo Cubano de IDP desarrolla investigaciones para identificar de forma precoz estas enfermedades y profundizar en los criterios diagnósticos y los tratamientos.

1.2.2 Etiopatogenia

La patogenia exacta de la DIgA se desconoce, la enfermedad tiene una naturaleza heterogénea y se sugiere que pueden involucrarse diferentes etiologías. La DIgA se asocia fundamentalmente a un defecto intrínseco del linfocito B, anormalidades de la célula T y el deterioro en las redes de citocinas.[8]

El defecto intrínseco de la célula B se caracteriza por una dificultad en el cambio de isotipo o alteraciones en la maduración de los linfocitos B productores de IgA, ya sea

por errores estructurales a nivel genético o en el proceso de transcripción, defectos en los linfocitos TCD4+ o por la actividad excesiva de linfocitos T supresores.[9,41]

La producción defectuosa de la IgA puede ser por disminución de las células T reguladoras (Treg), cuanto mayor sea esta disminución mayor será la severidad de la sintomatología que manifiestan los casos.[41] Soheili H. y cols. reportaron alteraciones en las poblaciones de linfocitos T en casos con DIgA.[42]

Es posible detectar alteraciones en los estadios de desarrollo de las células B, como es la disminución de las células B de memoria posterior al cambio de isotipo ($CD27+IgD^{+}$) y de los plasmoblastos. Por otra parte, se determinó que pacientes con una deficiencia parcial de IgA tienen un número normal de células B $CD27+IgD^{+}$, lo que sugiere que el déficit parcial puede ocurrir por mecanismos, causas y vías diferentes al déficit absoluto de IgA.[43,44]

Existen evidencias que muestran un defecto en la síntesis de las citocinas necesarias para iniciar el cambio de isotipo de IgD a IgA e incluyen las interleucinas (IL) IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, factor de crecimiento transformante β (TGF-β) e interferón γ (IFN-γ) y más reciente se encontró deficiencia de la IL-21 en esta IDP.[8,45]

En la génesis de la DIgA pueden estar afectadas, otras citocinas sintetizadas por las células mielocíticas que favorecen el cambio de isotipo a IgA, estas incluyen los ligandos inductores de la proliferación A (APRIL) y el factor activador de la célula B (BAFF), que muestran afinidad para el activador transmembrana interactuador de la calmodulina (TACI), codificado por el gen TNFRSF13B.[8,46] La proteína transmembrana TACI se involucra en la regulación de la maduración y sobrevida de

los linfocitos. Evidencias experimentales muestran que la presencia de una mutación en los genes que codifican al TACI o la ausencia de los ligandos, ocasiona que no se produzca el cambio de isotipo a IgA por los linfocitos B. Se documenta en la literatura médica que algunos individuos con DIgA presentan mutaciones en la proteína transmembrana TACI.[47]

Otra hipótesis que se sugiere en la patogénesis de la DIgA se relaciona con mecanismos autoinmunes. Se plantea un error en la tolerancia inmune a través de auto anticuerpos que bloquean el cambio de isotipo de las células B o que selectivamente afectan la sobrevida de las células productoras de IgA. Aproximadamente, en el 20% de individuos deficientes de IgA se presentan auto anticuerpos.[35]

Los factores genéticos relacionados con el sistema de antígenos leucocitarios humanos aumentan la susceptibilidad. Se evidenció que el Haplotipo 8.1 se asocia con esta enfermedad y puede encontrarse en el 45% de los pacientes con DIgA, en comparación con su expresión en el 16% de la población en general.[48]

1.2.3 Manifestaciones clínicas

La DIgA se presentan como un síndrome heterogéneo y clínicamente variable, que se diagnostica de manera casual en un paciente asintomático o en pacientes con infecciones respiratorias recurrentes, enfermedades gastrointestinales, alérgicas, autoinmunes y malignidad.[49]

Las infecciones recurrentes del tracto respiratorio son de una severidad ligera a moderada, representan las enfermedades infecciosas más frecuentes en estos

casos, son generalmente de etiología viral y pueden evolucionar a lesiones pulmonares crónicas como bronquiectasia y neumonitis intersticial. Las infeccionas bacterianas se producen por microorganismos como el *Haemophilus influenzae* y el *Estreptoccocus pneumoniae*. La mayor incidencia entre otras infecciones parasitarias es la giardiasis, que conduce a procesos diarreicos crónicos y malabsorción intestinal.[50,51]

Las alergias son más comunes entre los individuos con DIgA que en la población general, los tipos de alergias pueden variar entre estos pacientes, no obstante, existe una relación más directa con el asma bronquial, se postula que el asma puede ser más grave y responder menos a la terapia si se asocia a esta IDP.[52] Otras enfermedades alérgicas pueden ser: dermatitis atópica, rinitis alérgica, urticaria y alergia a medicamentos y alimentos.[52,53]

Las enfermedades autoinmunes se presentan entre el 7 y 36% de los pacientes deficientes de IgA, la presencia de auto anticuerpos se detecta en más del 40%.[35,54] Se reporta que la prevalencia de una DIgA en el lupus eritematoso sistémico (LES) es de 1-4%, en la artritis reumatoide de 2-4% y en la enfermedad celiaca 2-6%.[51] La enfermedad autoinmune que aparece con mayor frecuencia asociada con la DIgA es la púrpura trombocitopénica idiopática, otros reportes incluyen a la anemia hemolítica, la artritis reumatoide juvenil y las tiroiditis autoinmunes.[11,55]

1.2.4 Diagnóstico

El diagnóstico de la DIgA se establece según los criterios definidos en el registro de Sociedad Europea de Inmunodeficiencias ESID[7] que en el caso de la DIgA, la

clasifican como, déficit completo y parcial. Según los aspectos que se relacionan a continuación.

DIgA completa: niveles de IgA menores 0,07g/L, niveles normales o altos de IgG e IgM, edad por encima de los 4 años, descartadas otras causas de inmunodeficiencias.

DIgA probable (parcial): niveles de IgA al menos 2 desviaciones estándar por debajo de los valores normales para la edad, niveles normales o altos de IgG e IgM, edad por encima de los 4 años y descartadas otras causas de inmunodeficiencias.

Otros criterios de la ESID: tener al menos uno de los elementos siguientes: incremento de la susceptibilidad a las infecciones, manifestaciones de autoinmunidad, algún miembro de la familia con IDP, anticuerpos contra antígenos específicos normales o disminuidos.

Los análisis de laboratorio incluyen la cuantificación de las clases de inmunoglobulinas,[56] la cuantificación de las subclases de IgG y la respuesta específica de anticuerpos contra antígenos proteicos como el toxoide tetánico (TT) y contra antígenos de polisacáridos como la vacuna polivalente contra el Neumococo, refiriendo los niveles pre y post inmunización. Otras pruebas de laboratorio determinan la presencia o ausencia de las células B mediante citometría de flujo. Recientemente la caracterización de dos subtipos de células B (inmunofenotipaje como células B de memoria o inmaduras), constituye un procedimiento cada vez más aceptado.[13] Otros exámenes de laboratorio para el diagnóstico de alergias o de

enfermedades autoinmunes, pueden tomar interés según la presencia de estas comorbilidades.[8,15]

1.2.5 Complicaciones

Los pacientes con esta IDP pueden tener complicaciones tales como, reacciones anafilácticas a los hemoderivados, producto a la presencia de anticuerpos contra la IgA. Si estos anticuerpos son de la clase IgE ocurren reacciones anafilácticas que pueden ser muy graves. Otra complicación médica es la inflamación crónica de la mucosa nasal y de los senos paranasales, producto de las infecciones a repetición en estas localizaciones. La bronquiectasia que se produce como consecuencia de las infecciones recurrentes del tracto respiratorio inferior, es una complicación que conlleva al deterioro de la función respiratoria y contribuye a una mayor morbilidad y mortalidad. La diarrea crónica y el síndrome de malabsorción intestinal afectan el crecimiento y desarrollo normal.[49]

1.2.6 Tratamiento

El tratamiento de una IDP, a pesar de no tener cura, tiene dos objetivos: minimizar y controlar las infecciones y reemplazar los componentes disfuncionales o ausentes del sistema inmunitario, ya sea por transferencia adoptiva o trasplante hematopoyético o mediante la reposición de genes (terapia génica).[12,14,15] La aplicación de estas técnicas de tratamiento para la DIgA son bastante limitadas. Hasta la fecha no existe un tratamiento específico para la DIgA, no es posible reemplazar la IgA ausente o disminuida, se recomienda el uso de profilaxis antibiótica, tratar las infecciones y las comorbilidades.

La profilaxis antibiótica se aplica con el objetivo de prevenir los episodios infecciosos. Este tratamiento está indicado en casos con diagnóstico confirmado, o en los pacientes con complicaciones pulmonares como bronquiectasia. También, siempre que un caso con DIgA se tenga que someter a un procedimiento quirúrgico, o a una intervención dentaria es importante implementarla. Los antimicrobianos más utilizados para este propósito incluyen: amoxicilina, azitromicina y cotrimoxazol.[14,15]

El tratamiento contra las infecciones debe ser oportuno y va a depender de la localización, la etiología y cuadro clínico de la enfermedad infecciosa presente. Se utilizan antimicrobianos específicos según la sensibilidad del germen causal.[14]

Otros tratamientos incluyen:

- Educación higiénico sanitaria al paciente
- Sí existen comorbilidades con otras enfermedades, se deben cumplir los protocolos de tratamiento según la enfermedad.
- Se recomienda la vacunación con la vacuna antigripal estacional y cumplir con el esquema de vacunación según se establece para las IDP.[57]
- Se contraindican los hemoderivados que contengan IgA, ya que pueden desencadenar reacciones anafilácticas.[8]
- Se aplica el Hebertrans® sobre la base de los efectos clínicos beneficiosos publicados en esta enfermedad y a su acción inmunomoduladora, al transferir inmunidad que se manifiesta mediante una reacción de hipersensibilidad cutánea tardía específica, además de otros efectos relacionados con la inmunidad mediada por células.[31]

1.3 Estrés oxidativo, sistema inmune e inmunodeficiencias

El desequilibrio por exceso en la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO), aparejado o no a un debilitamiento de los sistemas antioxidantes, es lo que se conoce como EO. Esta definición fue actualizada más recientemente por Sies y Jones, como un desbalance entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes que ocasiona pérdida de la señalización, el control redox y daño molecular.[58] En esta nueva definición se toma en consideración aspectos sobre la función biológica de los oxidantes como moléculas señalizadoras y reguladoras de la expresión de factores de transcripción y del metabolismo redox; y sus efectos sobre la activación e inactivación de biomoléculas, la obtención de energía metabólica y la función celular.[58]

Varios procesos endógenos generan RL, tales como la respiración mitocondrial anión radical superóxido ($O_2^{-\bullet}$), la activación de células polimorfonucleares neutrófilos (ácido hipocloroso, oxígeno sínglele, radical hidroxilo y H_2O_2), el metabolismo del ácido araquidónico ($O_2^{-\bullet}$), las acciones enzimáticas ($O_2^{-\bullet}$, óxido nítrico, H_2O_2) y la catálisis por liberación de hierro y cobre (radical hidroxilo).[59-61]

Un exceso de RL puede ocasionar la formación de compuestos como el peroxinitrito ($ONOO^-$) y el anión hipoclorito, de muy alta reactividad. Aunque el tiempo de vida media de los RL es muy corto (<1 segundo), son capaces de dañar distintos componentes celulares cercanos, produciendo reacciones de oxidación que deterioran las biomoléculas estructurales y causan alteraciones funcionales a nivel celular. [9] En las membranas lipídicas, alteran la permeabilidad y producen edema y

muerte celular. Una vez que se inicia, el proceso toma forma de “cascada” con producción de más RL, lo que lleva a la formación de peróxidos orgánicos y otros compuestos como el malondialdehido (MDA), que son responsables de los efectos citotóxicos. La peroxidación lipídica, representa una forma de daño hístico que se desencadena por la acción del $O_2^{-\bullet}$, H_2O_2 y el radical hidroxilo.[59,61]

Cuando las proteínas son atacadas por los RL se produce oxidación de varios aminoácidos tales como, fenilalanina, tirosina, histidina y metionina, ocurren entrecruzamientos de las cadenas peptídicas y formación de grupos carbonilos; los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP) representan un marcador que evidencia el daño a estas moléculas. El efecto del exceso de RL sobre los ácidos nucleicos conlleva a mutaciones, carcinogénesis, pérdida de expresión de proteínas por daño a genes específicos, modificaciones oxidativas de las bases, delecciones, fragmentaciones y reordenamientos cromosómicos.[60-62]

Por otra parte, los antioxidantes son sustancias que, hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable (biomoléculas), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Las sustancias de carácter antioxidante, generalmente, al colisionar con un RL le ceden un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un RL relativamente estable, débil, no tóxico. El primer componente de los mecanismos de defensa antioxidante es la barrera fisiológica que limita el paso del oxígeno desde el aire inspirado hasta las células. Los llamados antioxidantes primarios son los que convierten las ERO en moléculas menos perjudiciales antes de que reaccionen con estructuras vitales, o evitan su producción. En este grupo se destacan: el superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa

(GPx), glutatión reductasa, peroxidasas, catalasas (CAT), tioredoxina y proteínas que fijan metales como la ferritina y la ceruloplasmina.[63,64]

La relación que existe entre el EO crónico y el estado de salud de los seres humanos es un hecho aceptado en la actualidad por la comunidad científica y médica. Cuando se altera la homeostasis redox celular, habitualmente las células y tejidos evolucionan a una situación de ¨daño oxidativo" que favorece la disfunción y eventual muerte celular.[60]

1.3.1 Estrés oxidativo y sistema inmune

El desbalance redox sobre las células del sistema inmune produce un EO de tipo inflamatorio, con efectos en el cuadro clínico y en la respuesta terapéutica de los pacientes, con enfermedades inmunológicas que lo manifiesten.[62]

Las células fagocíticas tales como macrófagos y neutrófilos cuentan con un sistema enzimático complejo a nivel de la membrana plasmática para la producción de $O_2^{-\bullet}$, en respuesta a la invasión por patógenos y como mecanismo para el control de la infección.[9] El efecto de la activación de estas células determina una condición de EO en el microorganismo que muchas veces determina un efecto citotóxico.[15] Otra fuente importante de oxidantes, en procesos inflamatorios agudos, es la actividad de la enzima mieloperoxidasa contenida en los gránulos de los neutrófilos, su liberación a nivel extracelular conjuntamente con la formación de $O_2^{-\bullet}$ y H_2O_2 por la NADPH oxidasa, conduce a la formación de hipoclorito y acido hipocloroso, que poseen potente acción citotóxica.

El ¨daño oxidativo¨ inflamatorio, afecta a todas las células del organismo, pero especialmente aquellas de los sistemas regulatorios (nervioso, endocrino e inmune). En estos sistemas se disminuye la capacidad para preservar el estado redox, con pérdidas funcionales incompatibles con el adecuado mantenimiento de la homeostasis. Un papel principal se le atribuye al sistema inmune, producto a que la desregulación de sus respuestas, puede conducir a un aumento de producción de citocinas proinflamatorias y a la generación continua de compuestos oxidativos e inflamatorios, tales como $O_2^{-\bullet}$, H_2O_2, radical hidroxilo y óxido nítrico.[61,62]

1.3.2 Estrés oxidativo en las inmunodeficiencias

Se reporta en la literatura científica desbalance redox y EO crónico en enfermedades por IDP tales como, la inmunodeficiencia común variable, el síndrome de Bloom, la ataxia telangiectasia y la enfermedad granulomatosa crónica. En Cuba, Riverón G. y cols., evidenciaron la presencia de condiciones oxidativas a nivel sistémico y alteraciones en la homeostasis redox celular en pacientes con ataxia telangiectasia.[65] Otro estudio reporta la participación del EO en la infección por el virus de inmunodeficiencia humana tanto por sobreproducción de ERO, como por deficiencias de antioxidantes.[66]

Un denominador común en ciertas IDP es el EO crónico, causado por sobreproducción de ERO endógenas y alteraciones en la mitocondria. Maciejezyk M. y cols., estipulan que el desbalance redox ejerce un efecto perjudicial sobre la homeostasis celular y pudiera ser responsable de manifestaciones clínicas en las IDP que no se relacionan con el defecto genético que la caracteriza.[67]

1.4 Consideraciones teóricas de la ozonoterapia

Existe consenso en la literatura científica sobre el efecto estimulante de la O_3T sobre los sistemas enzimáticos antioxidantes endógenos y su gran utilidad para atenuar el desbalance redox que se produce en la compleja red de interacciones celulares de la respuesta inmune ante las infecciones recurrentes, crónicas y la sepsis.[68-71]

De acuerdo con los resultados de Viebahn R. y cols.[21] con la O_3T sistémica se logran efectos beneficiosos antioxidantes e inmunomoduladores.

1.4.1 Antecedentes históricos

El O_3 es referido por vez primera en la literatura por el físico alemán Martinus Van Marum (1750-1837), quien descubrió que al pasar una chispa eléctrica a través del aire aparecía una sustancia gaseosa con olor característico. En 1840, Christian Friedrich Schönbein (1799-1868) descubre al O_3 y le dio el nombre que hoy posee, que proviene de la palabra griega "ozein", que significa "olor". El primer equipo generador de O_3 fue desarrollado en 1857 por el ingeniero e inventor Werner Von Siemens, y en 1915 el Dr. Albert Wolff, lo aplicó en el tratamiento tópico de las heridas infectadas. [59] Payr en 1935 y Aubourg en 1936, fueron los primeros en usar la mezcla de oxígeno y O_3 por insuflación rectal para tratar la colitis ulcerativa y las fistulas. No obstante, no fue hasta 1950 que J. Haüsler desarrolló el primer generador de O_3 para uso médico. En 1961, H. Wolf introduce las técnicas de auto hemoterapia mayor y menor y en 1972, Hänsler y Wolf fundaron la Sociedad Médica Alemana de Ozonoterapia. Los nombres Wolf, Payr y Auburg siempre estarán unidos a las

investigaciones pioneras, en especial en el campo del O_3 médico aplicado de forma local. Esta etapa puede considerarse como el inicio de la O_3T.[72]

Desde la década del 70 el O_3 fue utilizado por practicantes en Europa de forma empírica, esto unido al costo para llevar a cabo estudios clínicos extensos, impidieron el progreso real de esta terapia. Algo peor fue que el O_3 era inyectado por la vía endovenosa, sin calibración médica, un procedimiento que se prohibió desde 1984 por el riesgo de embolia pulmonar y muerte. [68]

Durante varias décadas, el número de investigaciones clínicas fue insuficiente y la evidencia de eficacia clínica se fundamentó en estudios observacionales, esto incrementó las controversias con relación al uso de la O_3T. Un pequeño número de indicaciones para el uso del O_3 medicinal se establecieron y se basaron en el reporte de casos de hospitales y clínicas. No obstante, su mecanismo de acción farmacológico se ha esclarecidos en el presente y constituye la base científica para las aplicaciones terapéuticas de esta mezcla de gases.[68,69]

En el 2008, Menéndez y cols., grupo de investigadores pertenecientes al Centro Nacional de Investigaciones Científicas publican un libro sobre O_3T que reúne las experiencias tanto en el campo de la farmacología, toxicología preclínica como la clínica[70] y en el 2010 se creó el Comité Científico Internacional de Expertos en Ozonoterapia (ISCO_3), que puso a disposición de los especialistas y estudiosos de esta área, una base de datos de acceso libre (ZOTERO-ISCO_3), que reúne en la actualidad más de 2000 artículos científicos.[20,71]

Hoy día, las organizaciones internacionales y sociedades científicas de O_3T, reconocen una dificultad que se hace manifiesta en diferentes países, las transnacionales farmacéuticas se oponen a aceptar y reconocer los beneficios de la O_3T, ya que es una terapia de bajo costo, no es patentable y no genera riquezas.[22] Por tales razones, se dificultan las subvenciones para desarrollar estudios controlados, multicéntricos y aleatorios comparables, a los que sí financian las empresas farmacéuticas.[69,71]

1.4.2. Acciones farmacológicas de la ozonoterapia

El O_3 medicinal no actúa sobre receptores celulares específicos y su principal mecanismo de acción es indirecto, mediante la producción de un moderado y controlado EO que estimulará los antioxidantes endógenos. El resultado final dependerá de la concentración, del tipo de mensajero del O_3 que se forme y de los sistemas antioxidantes presentes, los cuales varían en las distintas células, tejidos y localizaciones del organismo.[73,74]

A dosis y concentración adecuada, el O_3 inducirá una respuesta de adaptación en el organismo con inmunomodulación y potenciación de los sistemas antioxidantes, mediante mecanismos de acción bien descritos.[74] El mecanismo de acción del O_3 medicinal constituye la base para establecer las indicaciones, dosis, frecuencia de los tratamientos y la vía a utilizar.[17,75-77] En junio de 2015 se publicó la 2ª edición de la Declaración de Madrid sobre la O_3T, una guía clínica de consenso internacional.[19]

El O_3 por la alta solubilidad que tiene se disuelve inmediatamente en el agua del plasma, en los fluidos extracelulares y en la fina capa de agua que cubre la piel y las

mucosas. Esto ocurre porque, con su altísima afinidad por los dobles enlaces entre carbono y carbono y al ser un oxidante potente, el O_3 reacciona inmediatamente con biomoléculas de los fluidos biológicos, preferentemente con ácidos grasos poliinsaturados, antioxidantes hidrosolubles (ácido ascórbico y ácido úrico), y compuestos tiólicos con grupos sulfhidrilo (cisteína, glutatión reducido, albúmina).[73,74]

La reacción de O_3 con tantas moléculas implica varios efectos que tienen lugar al mismo tiempo. La mayor parte del O_3 se consume en una reacción de adición a los dobles enlaces carbono y carbono de los ácidos grasos insaturados, conocida como Reacción de Criegee y que es de las reacciones químicas moleculares más rápidas de la naturaleza (velocidades de millones de moles/L por segundo). El primer producto de esta reacción se denomina ozónido primario, que es muy inestable y se descompone en presencia abundante de agua (como es el ¨ambiente¨ fisiológico), básicamente en aldehídos y un tipo particular de α-hidroxihidroperóxido de diferentes estructuras, en dependencia de los ácidos grasos de partida. Este tipo de α-hidroxihidroperóxido, situado en el carbono terminal de la cadena lipídica, y con un grupo hidroxilo en el mismo, poseen un carácter oxidante mucho menor que los peróxidos clásicos y no suele generar RL.[69]

Parte de los ozónidos primarios pueden dar lugar, en menor grado, a una reacción paralela, con la formación directa de aldehídos, uno de los más importante es el 4-hidroxinonenal y H_2O_2. Estas reacciones, por ser molécula a molécula, se terminan rápidamente, con el agotamiento del O_3 suministrado, por lo cual, el EO que produce es bien controlable. Esta es una diferencia crucial con la reacción comúnmente conocida en bioquímica como peroxidación lipídica, que es una reacción

preferentemente por vía radicálica, más rápida aún y que una vez que se inicia, puede propagarse muy rápida, extenderse y ser incontrolable y así provocar la oxidación de moléculas lipídicas y de otros tipos.[69]

Las reacciones con dosis determinadas de O_3, terminan en segundos y generan una cantidad determinada de α-hidroxihidroperóxidos, aldehídos y H_2O_2; que actúan como segundos mensajeros y alcanzan distintos órganos y tejidos. Las acciones de estos mensajeros sobre la médula ósea, hígado, sistema nervioso central o las glándulas endocrinas, justifican los múltiples y diversos efectos beneficiosos del O_3 a nivel sistémico.[73-75,78]

Una pequeña parte de la dosis de O_3 también se consume, en la oxidación de otras sustancias antioxidantes presentes, como el ácido ascórbico, ácido úrico, grupo sulfhidrilo del glutatión, proteínas y glicoproteínas que suelen reciclarse rápidamente a su forma reducida. La cantidad de estas sustancias antioxidantes varía mucho de un tejido a otro, lo que justifica que las concentraciones de O_3 que se pueden utilizar sean muy diferentes, dependiendo del tejido con el que reacciona.[73,74]

El efecto del O_3 medicinal no tiene una relación dosis respuesta lineal, sino que sigue el principio de hormesis: debe alcanzar una dosis suficientemente alta para inducir una respuesta terapéutica, pero no debe sobrepasar la capacidad antioxidante de las células y ocasionar un efecto dañino.[74] Por eso es importante la dosis de O_3 a aplicar, y así provocar un EO leve, controlado y transitorio capaz de generar una respuesta adaptativa mediante la estimulación de sistemas protectores del organismo, como la activación de cinasas, factores de transcripción, incremento de la

expresión de genes y la síntesis de enzimas antioxidantes endógenas.[79] Como consecuencia de la estimulación de las defensas antioxidantes, existe necesidad de incrementar la dosis gradualmente durante un ciclo, con el objetivo de mantener en cada aplicación la producción de un proceso de balance redox y con ello disparar el mecanismo hormético.[74,75,79]

El O_3 como el mayor germicida existente en la naturaleza y se utiliza como agente antiséptico en distintas aplicaciones locales.[68]

El O_3 produce oxidación de fosfolípidos y lipoproteínas de las células de la envoltura bacteriana. Existen evidencian acerca que el O_3 destruye la integridad de la membrana citoplasmática e infiltra los microrganismos para oxidar glucoproteínas y glucolípidos y bloquea la función enzimática. La combinación de estas reacciones causa la inhibición del crecimiento y la mortalidad de las bacterias y los hongos e interferencia en el ciclo reproductivo viral.[80]

1.4.3 Acciones sobre el sistema inmune

El efecto inmunomodulador del O_3 medicinal, se evidenció por Bocci y cols. y Travagli y cols.[74,81,82] en experimentos *in vitro* donde después de diferentes períodos de incubación, la sangre ozonizada liberó interferones alfa (INF-α), beta (INF-β) y gamma (INF-γ); factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α); e interleucina 2 (IL-2). Esto se debe a que el O_3 fue capaz de inducir ciertos factores de transcripción en los linfocitos, como el factor nuclear de la célula T activada (NFAT) y el activador de proteína-1 (AP-1) y modular la acción de interferones e interleucinas.[75] El factor nuclear eritroide 2 relacionado Nrf2 inducido durante la O_3T, es capaz de suprimir la

activación del factor nuclear kappa B (FN-κB) el cual tiene efecto proinflamatorio.[76] Se necesitan varios factores de transcripción para la activación de los linfocitos y la síntesis de las citocinas.[9]

El NFAT induce la transcripción de IL-2, IL-4, TNF-α, IFN-γ y genes de la respuesta inmune en el DNA, se expresan también sobre otras células y tejidos y puede por sí mismos, combinarse con elementos en el ácido desoxirribonucleico, regulado por la vía de la AP-1. La AP-1 es un punto de convergencia de varias vías de transmisión de señales en la célula inmune. El FN-κB induce la síntesis de muchas proteínas y es mediador de la respuesta inmune e inflamatoria.[9,15]

Otro ensayo *in vitro* evidenció la activación de las células fagocíticas en muestras de sangre tratadas con diferentes concentraciones de O_3.[83] En concordancia, Volkhovskaya y cols.[84] demostraron la modulación de la fagocitosis en leucocitos polimorfonucleares tratados con solución salina ozonizada. El H_2O_2 que se genera durante la fagocitosis, produce lisis de la pared bacteriana y activación de cinasas y factores de transcripción que favorecen la síntesis de citocinas.[85]

El H_2O_2 difunde fácilmente en las células inmunitarias para actuar como un paso regulador en la transducción de señales y facilitar la respuesta inmune.[86] Específicamente, se observan aumentos en el INF-γ, la IL-2 y la IL-8.[81,82,87]

La liberación de citocinas por el O_3 medicinal se produce en los micro entornos específicos, sin modificación en los niveles plasmáticos, lo cual tiene la ventaja de permitir la activación de células en reposo o inhibidas y como efecto se facilita la

respuesta fagocítica y la función de las células asesinas naturales (NK) y linfocitos T citotóxicos que puedan estar inhibidos durante las enfermedades infecciosas.[88]

Evidencias preclínicas del efecto del O_3 medicinal sobre el sistema inmune se reportan por Rakovsky y cols.,[89] los autores aseveran que el efecto depende del órgano expuesto, la dosis y el tiempo de exposición. En un modelo experimental de fibrosis pulmonar inducida con bleomicina, la administración de O_3 medicinal por vía rectal, redujo el grado de fibrosis lo que se acompañó de la modulación de citocinas (IL-1, IL-6, TGF-β).[90]

Los beneficios de la O_3T en diversas enfermedades inmunológicas permiten restablecer la homeostasis del sistema inmune. En las enfermedades autoinmunes, al estar los tejidos infiltrados por macrófagos, neutrófilos y linfocitos TCD8+ hay aumento de los RL y de las citocinas proinflamatorias con patrón de respuesta Th1.[91] La O_3T no puede intervenir sobre las causas primarias de la enfermedad, pero es capaz de revertir el efecto de los RL y modular el patrón de citocinas Th1 hacia Th2.[28] En estas enfermedades tiene un mecanismo de acción dual: analgésico y antinflamatorio. También se reportan efectos beneficiosos en la esclerosis múltiple.[92]

El O_3 medicinal combinado con quimioterapia sobre las células inmunes en pacientes con linfoma se reportó por Li y cols.,[93] los autores demostraron aumento de la función de estas células. Se le atribuyó al O_3 un papel regulador en la respuesta biológica, sin efectos adversos.

Otros autores estudiaron el efecto inmunomodulador de la O_3T sistémica en infecciones cutáneas y evidenciaron eficacia clínica y modulación de la síntesis de citocinas en 148 pacientes con pioderma crónico.[94]

Aspectos aún poco conocidos de la O_3T, como es la actividad divergente del O_3 en los diversos compartimientos biológicos, se describió por Zanardi y cols.,[80] los autores estipulan que el efecto no depende únicamente de la concentración final de gas, sino también del sistema biológico particular donde actúa, lo que es de gran importancia al producir respuestas biológicas específicas en enfermedades inmunológicas de diferente etiología, localización y mecanismo fisiopatológico.

En el síndrome de inmunodeficiencia adquirida la O_3T aplicada por la vía rectal evidenció beneficios al corregir las diarreas intratables, resultar segura y modular las células del sistema inmune.[95] Por otra parte, Méndez y cols. [27] reportaron que la O_3T corrigió el desbalance redox y aumentó el número y la función de linfocitos TCD4+.

La Asociación Española de profesionales Médicos en Ozonoterapia (AEPROMO) informa los efectos beneficiosos del O_3 medicinal por la vía rectal en pacientes pediátricos con inmunodeficiencias secundarias, en los que disminuyó la recurrencia de enfermedades infecciosas y se constató aumento de las inmunoglobulinas.[96]

Los beneficios del O_3 medicinal en el asma bronquial se reportaron por Hernández y cols.[97] al mejorar la función pulmonar, modular los niveles de la IgE sérica, disminuir la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad y aumentar el sistema antioxidante del glutatión eritrocitario. Por otra parte, Menéndez y cols.[98]

describen el uso de la O_3T en Medicina y sus beneficios en diversas enfermedades con alteraciones en el sistema inmune.

1.4.4 Acciones sobre el balance redox

La aplicación O_3 medicinal por una vía sistémica, a dosis controlada, es capaz de estimular los sistemas antioxidantes endógenos a través de la activación de diferentes vías de transducción de señales en el interior de las células.[68,69,99] El Nrf2, contiene 25 residuos de cisteína en su estructura, se asocia a la proteína Keap1 (Kelch-likeerythoidcellderivedprotein) y se activa por el O_3.[99] Cuando se bloquean las cisteínas por ciertas sustancias electrofílicas, ocasionan la liberación del Nrf2 de la proteína Keap1 y se transporta al núcleo, donde forma complejo con la proteína Maf, para unirse a elementos de respuesta antioxidante, que se localizan en las regiones reguladoras de genes, que codifican las enzimas de defensa celular en el ácido desoxirribonucléico.[86,99] La activación del Nrf2 por la O_3T induce la síntesis de las proteínas fase II y de enzimas antioxidantes, tales como CAT, SOD, GPx, glutatión reductasa y de otras proteínas y enzimas.[99]

Se reporta en un estudio *in vitro,* que las células endoteliales cultivadas en suero humano ozonizado, tuvieron una rápida activación del Nrf2 y la subsecuente inducción de hemooxigenasa-1 y NADPH quinona oxido reductasa-1 en el cultivo.[100] Re y cols.[101] midieron la activación de la vía del Nrf2, después de aplicar dosis de 35µg/mL de O_3 medicinal, a células mononucleares de la sangre periférica de voluntarios sanos, el resultado fue el aumento de la transcripción de SOD, GPx, glutatión transferasa, CAT, Hemooxigenasa-1 y NADPH quinona oxido reductasa1.

La evidencia indica que la eficacia terapéutica de la O_3T se atribuye, a la respuesta biológica positiva que produce en el organismo, capaz de restaurar el balance redox y corregir el EO crónico.[86,102,103]

1.4.5 Evidencias científicas sobre el uso de la ozonoterapia en medicina

Los efectos biológicos del O_3 medicinal se describieron por Bocci y cols. en la última década del siglo XX, los autores observaron inducción de IFN-γ y TGF-β en la sangre ozonizada [82] y demostraron una hipótesis médica tentativa para la aplicación en las enfermedades virales e inmunodeficiencias.[16] Al mismo tiempo, Peralta demostró la activación de antioxidantes endógenos mediante la O_3T rectal, en la protección contra el daño hepático por isquemia reperfusión.[104] En esa etapa, el Centro de Investigaciones del Ozono perteneciente al Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba, rectoraba las investigaciones básicas y clínicas fundamentales en este campo, donde fue relevante el resultado de León y cols., al publicar el efecto de preacondicionamiento oxidativo con O_3, para revertir el daño celular provocado por RL.[105]

Los ensayos clínicos aleatorizados y controlados, que evidencian la efectividad clínica de las intervenciones con O_3, están disponibles en la literatura médica al aplicar estrategias de búsquedas en diversas bases de datos. Una revisión sistemática se llevó a cabo por la Agencia de Evaluación de las Tecnologías Sanitarias en Andalucía y los resultados evidenciaron su efectividad, fundamentalmente en las enfermedades de la columna vertebral, el asma bronquial, los tumores, la tiña del pie, la isquemia arterial crónica de los miembros inferiores y la

úlcera del pie diabético.[106] No se reportaron resultados sobre la efectividad de la O_3T en enfermedades por inmunodeficiencias.

En el año 2010, los resultados de un metaanálisis que evaluó el tratamiento con O_3T en las hernias discales de diferentes tipos en 8 000 pacientes, evidenció la eficacia y seguridad de esta terapia.[107] En el año 2013 una revisión sistemática de la Colaboración Cochrane sobre la O_3T en las lumbociatalgias crónicas, muestra la superioridad a largo plazo de esta terapia.[108]

La aplicación de la O_3T a miles de enfermos con enfermedades de diversa etiología, en varios países, y la evidencia de los beneficios en las enfermedades crónicas demuestran la eficacia de este procedimiento,[17] lo que requiere de la realización de ensayos clínicos regidos por los centros de control que autorizan su uso.

1.4.6 Fundamentación de la ozonoterapia por vía rectal en medicina

La insuflación rectal del O_3 medicinal, es una de las formas más antiguas de aplicación, Arbourg en 1936 fue el primero en aplicarlo por esta vía.[109] Viebhan R. estipuló que la insuflación rectal, es la forma de aplicación de elección para el paciente en edad pediátrica y los ancianos y representa una alternativa para la auto hemoterapia mayor ya que logra efectos terapéuticos a nivel sistémico.[27] La O_3T por vía rectal es un proceder seguro, estudios preclínicos evidencian que no es genotóxico, ni ocasiona efectos mutagénicos.[109-111]

El destino del O_3 medicinal introducido en el intestino fue descrito por Bocci V., primero el O_3 se disuelve rápidamente en el agua y reacciona inmediatamente con varias biomoléculas, particularmente ácidos grasos poliinsaturados, presentes en el

glicoclix y en la densa cubierta de agua de la mucosa intestinal que contiene mucoproteínas, esa reacción produce os mensajeros del O_3. Estos son adsorbidos, pasan a través de la capa muscular y mucusae del intestino, entran a la circulación general y se transportan a través de la sangre a los órganos linfoides (médula ósea, bazo, nódulos linfáticos, timo, placas de Peyer) y a otros órganos (pulmón e hígado), interaccionan con células endoteliales y billones de células de varios órganos, transmiten señales al interior de las células y activan mecanismos bioquímicos intracelulares.[73,78] Bocci y cols., midieron los productos lipídicos en la circulación portal y periférica de conejos que recibieron O_3 rectal.[23]

La microbiota intestinal tiene una función protectora e inmunológica.[112] La literatura describe que el O_3 medicinal por vía rectal, incrementa la adsorción de polisacáridos lo cual favorece la activación de los linfocitos intraepiteliales y de los macrófagos en el hígado.[23]

La evidencia científica sugiere que la mayoría de los modelos preclínicos para estudiar la farmacología del O_3 medicinal utilizaron la vía rectal, ya que es una vía aplicable a diferentes condiciones experimentales.[109] En los modelos animales, se comprobó su mecanismo protector en los tejidos, debido a la activación de la capacidad antioxidante celular y la adaptación ante los procesos de isquemia/reperfusión.[113-15] Se evidenció también que la vía rectal es una forma de aplicación segura.[110,111]

En el preacondicionamiento oxidativo, se basa en el hecho de lograr, que un ciclo de 20 sesiones de O_3T sea suficiente para mantener el efecto terapéutico por 3

meses.[109] Los resultados de estudios clínicos donde se aplicó la O_3T rectal evidencian efectos positivos, al activar los sistemas antioxidantes endógenos y modular el metabolismo. [24,29,102,103] La respuesta biológica positiva luego de recibir el O_3 de forma sistémica, se basa entre otros efectos, en la estimulación de los sistemas antioxidantes endógenos y la inmunomodulación.[59,68, 69]

1.4.7 Efectos secundarios y contraindicaciones de la Ozonoterapia

Existe un gran margen de seguridad para el O_3 medicinal.[106-108] Los efectos adversos severos se asociaron siempre a deficiencias en la técnica médica o mala praxis.[68,72] Como refiere la Federación Mundial de Ozonoterapia, la incidencia de toxicidad de la O_3T fue de 0,0007%, una de las más bajas en medicina.[69] Un estudio realizado por Pérez Aguiar en 2015 sobre los efectos negativos de la O_3T en 6 414 pacientes portadores de retinosis pigmentaria, mostró que solo en 28 casos (0,004%) aparecieron reacciones leves y transitorias.[25]

Las principales contraindicaciones para el empleo de O_3T incluyen: deficiencia de la enzima glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa, embarazo, situaciones graves de: hipertiroidismo, inestabilidad cardiaca, trombocitopenia o estados de hipo coagulación y alergia al ozono.[19,90]

CAPÍTULO 2

DISEÑO METODOLÓGICO

CAPÍTULO 2. DISEÑO METODOLÓGICO

2.1 Tipo de estudio

Se realizó un ensayo clínico controlado, aleatorizado (fase II) y monocéntrico, con dos grupos de estudio, que tuvo una duración de 6 años a partir del 18 de enero de 2010 hasta el 12 de septiembre de 2016, en el hospital general ¨Capitán Roberto Rodríguez Fernández¨ (promotor principal), ubicado en la provincia Ciego de Ávila, Cuba, con la participación conjunta de otros centros promotores como el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) y el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM), ambos ubicados en La Habana, Cuba. Este ensayo clínico se identifica con las siglas OTIGAD-2, en el Registro Público de Ensayos Clínicos de Cuba (código del registro: RPCE 00000236).

2.2 Universo y muestra

Se seleccionaron para el estudio 60 pacientes ≥ 5 años, de ambos sexos, que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión, que fueron atendidos en la consulta de Inmunología del centro promotor principal.

2.2.1 Criterios de Selección

a)- Criterios de inclusión

1. Pacientes de cualquier sexo, con diagnóstico confirmado de DIgA completa o parcial, selectiva o con respuesta deficiente de anticuerpos específicos, aislada o asociada a enfermedades alérgicas o autoinmunes.
2. Pacientes (niños a partir de los 4 años y adultos) con diagnóstico de DIgA, que dieron su consentimiento para participar en la investigación, luego de haber recibido información de las características del estudio, y firmado el documento (padres o tutores y adultos), según corresponda (anexo 1).

b)- Criterios de exclusión

1. Haber recibido transfusiones de sangre tres meses previos o durante el estudio.
2. Haber recibido tratamiento con fármaco inmunomodulador seis meses previos al inicio del estudio.
3. Haber ingerido medicamentos que ocasionan deficiencia secundaria de la IgA tres meses previos o durante el estudio.
4. Presencia de condiciones que contraindiquen el uso del Hebertrans® o la O_3T.

c)- Criterios de salida

1. Aparición de reacción adversa severa.
2. No cumplir con el esquema de tratamiento asignado.
3. Aparición de algún criterio de exclusión durante el estudio.
4. Abandono voluntario del tratamiento.

2.2.2 Determinación del tamaño muestral

El total de 60 pacientes quedó definido por el cálculo del tamaño mínimo de muestra, para lo cual se utilizó la fórmula de cálculo de tamaños muestréales para variables cuantitativas a través de herramientas de Microsoft Excel 2013: $n = \frac{n_0}{1+\frac{n_0}{N}}$

Donde "N" resultó la población de la zona norte y centro de la provincia Ciego de Ávila (195 225 habitantes), en la que se incluyeron los municipios de Florencia, Ciro Redondo, Primero de Enero, Bolivia, Morón y Chambas; mientras que "n_0" se calculó por la siguiente fórmula, para un nivel de significación de 0,05.

$$n_0 = \frac{\left(Z_{1-\frac{\alpha}{2}}\right)^2 * \sigma^2}{{E_0}^2} = \frac{1{,}96^2 * 0{,}00341}{0{,}021^2} = \frac{3{,}84 * 0{,}00341}{0{,}00044} = 29{,}76$$

Se calculó la varianza ("σ^2") de los valores séricos de IgA, en 8 casos identificados en la provincia de Ciego de Ávila previos al inicio de la investigación (0,00341) y se fijó el error máximo de variación de la media de los valores de IgA ("E_0") que la investigadora estuvo dispuesta a asumir en la investigación (0,021), y se obtuvo al analizar la media de los 8 casos antes mencionados (0,092), e indicó un margen de error aceptado entre 0,071 y 0,113. Estas cifras nunca rebasaron los valores extremos observados en los casos conocidos y los reportados en estudios revisados en la literatura. [40, 50,51] Con estos datos se obtuvo el siguiente resultado:

$$n = \frac{n_0}{1+\frac{n_0}{N}} = \frac{29{,}76}{1+\frac{29{,}76}{195225}} = 29{,}7$$

Sobre la base del resultado, se decidió redondear la muestra a 30 casos. Se realizó una búsqueda activa de pacientes diagnosticados con DIgA, hasta llegar a un

consecutivo de 60. Se trabajó con la totalidad del universo, ya que ninguno de los 60 casos del consecutivo se excluyó, no hubo salidas y todos cumplieron con los criterios de inclusión. Los sujetos seleccionados fueron pacientes que se diagnosticaron con DIgA, en la consulta de Inmunología del hospital Roberto Rodríguez Fernández, según los criterios establecidos por la ESID.[7]

2.3 Procedimientos de evaluación

Primera consulta: mediante el interrogatorio se obtuvo información sobre: edad y sexo de los pacientes, criterios de exclusión, síntomas clínicos de enfermedades infecciosas y antecedentes de presentar enfermedades alérgicas y autoinmunes. Se realizó el examen físico exhaustivo, que permitió detectar signos clínicos de enfermedades infecciosas y posibles complicaciones. Se orientaron pruebas de laboratorio (hemograma con diferencial, química clínica y cuantificación de inmunoglobulinas).

Consultas de evaluación (total tres): pacientes con IgA ausente o disminuida, se enviaron al IHI para realizar cuantificación de inmunoglobulinas (confirmatorio) y poblaciones linfocitarias, y al CNGM para realizar anticuerpos específicos anti toxoide tetánico (TT) y anti toxoide diftérico (TD) y estudios de EO.

En otras dos consultas, posteriores a la aplicación de los tratamientos (al mes y seis meses), se realizaron: evaluaciones clínicas, inmunológicas, de la función hepática y ranal, y del balance redox.

2.4 operacionalización de las variables de control

Variables	Clasificación	Escala	Descripción	Indicador
Edad	Cuantitativa continua	5-10 años ≥11años	Según los valores normales las inmunoglobulinas	Número y porcentaje
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Femenino Masculino	Según sexo biológico	Número y porcentaje
Enfermedades infecciosas	Cualitativa nominal politómica	Virosis Otitis media aguda recurrente Bronconeumonías Adenoamigdalitis crónica Giardiasis Amebiasis intestinal Infección parasitaria recurrente aguda (IPRA) Disbacteriosis Piodermitis	Según el cuadro clínico[116] y los resultados de pruebas de laboratorio	Número y porcentaje
IgA	Cuantitativa continua	Deficiencia absoluta: Ausente Deficiencia parcial: Disminuida	Según los valores de referencia de la edad	Media y DE
IgG	Cuantitativa continua	Normal Aumentada	Según los valores de referencia de la edad	Media y DE
IgM	Cuantitativa continua	Normal Aumentada	Según los valores referencia de la edad	Media y DE
Anticuerpos específicos • Anti TT • Anti DT	Cuantitativa continua	Disminuido Normal	Disminuido: < 0.1UI/mL Normal: > 0.1 UI/mL	Número y porcentaje
Enfermedades asociadas	Cualitativa nominal politómica	Asma bronquial Malnutrición por defecto Anemia por déficit de hierro Dermatitis atópica Alergia a medicamentos Enfermedades autoinmunes Urticaria crónica Intolerancia a la lactosa Prurigo Laringitis alérgica	Según las manifestaciones clínicas [10,35,54]	Número y porcentaje
Poblaciones linfoides	Cuantitativa continua	Cada población: disminuido, normal, aumentado: Linfocitos TCD45+CD3+CD4+	Según los valores de referencia del método para la	Media y DE

		Linfocitos TCD45+CD3+CD8+ Linfocitos BCD45+CD19+ NKCD45+CD3-CD56+CD16+	edad.	
Hemograma con diferencial	Cuantitativa continua	Leucos totales: disminuido, normal, aumentado. Cada tipo celular (Neutrófilos, linfocitos, eosinófilos): disminuido, normal, aumentado.	Según los valores de referencia del método.[117]	Número y porcentaje
Parámetros prooxidantes	Cuantitativa continua	MDA: disminuido, normal, aumentado, PAOP: disminuido, normal, aumentado.	Según los valores de referencia del método para la edad.	Media, mediana y DE
Parámetros antioxidantes	Cuantitativa continua	SOD: disminuido, normal, aumentado. CAT: disminuido, normal, aumentado. FRAP: disminuido, normal, aumentado. GPx: disminuido, normal, aumentado.	Según los valores de referencia del método para la edad	Media, mediana y DE
Aspartato aminotransferasa	Cuantitativa continua	Normal Aumentado	Según los valores de referencia del método: normal ≤ 49 U/L	Número y porcentaje
Alanina aminotransferasa	Cuantitativa continua	Normal Aumentado	Según los valores de referencia del método: normal ≤ 46U/L	Número y porcentaje
Fosfatasa alcalina	Cuantitativa continua	Disminuido Normal	Según los valores de referencia del método para la edad: adultos: 100-290U/L Niños: 180-1200U/L	Número y porcentaje

Creatinina	Cuantitativa continua	Disminuido Normal Aumentado	Según los valores de referencia del método: normal 47,63-113,4 µmol/L	Número y porcentaje
Urea	Cuantitativa continua	Disminuido Normal Aumentado	Según los valores de referencia del método: normal 1,8-6,1mmol/L	Número y porcentaje
Evento adverso	Cualitativa nominal politómica	Presente: descripción del evento. Ausente: sin reporte de EA	Según el tipo, frecuencia, intensidad, alteraciones de la función hepática o renal.	Número y porcentaje

2.5 Pruebas de laboratorio

Las inmunoglobulinas séricas se cuantificaron por el método de inmunodifusión radial simple,[118] los valores de referencia por este método, se muestran a continuación.

Edad	Inmunoglobulinas	Valor mínimo (g/L)	Valor máximo (g/L)
5 a 10 años	IgG	5,93	16,57
	IgA	0,75	4,72
	IgM	0,29	1,20
11 años y mayores	IgG	7,81	15,30
	IgA	1,24	5,82
	IgM	0,30	1,35

Los anticuerpos anti TD y anti TT, se evaluaron mediante un enzimoinmunoensayo de adsorción (ELISA), de tipo heterogéneo, en placas de 96 pozos recubiertas con el antígeno especifico (TT o TD); el conjugado fue una IgG anti humano marcada con peroxidasa de rábano picante y como sustrato la ortofenilendiamina, para detener la reacción enzimática se usó el ácido sulfúrico y la coloración se midió a 492 nm de densidad óptica en el lector de ELISA.[119,120]

Para realizar el hemograma con diferencial la sangre venosa se obtuvo por venopunción, se mezcló con el ácido etilendiaminotetracético, se homogeneizó y procedió a la extensión, para lo cual se usaron portaobjetos de vidrio e incoloros y coloración con Giemsa. Para realizar el conteo global de leucocitos, se utilizó el método de conteo visual en cámara de Neubauer en el microscopio óptico HumaScopeClassic^{LED}. La determinación de hemoglobina se realizó por el método colorimétrico de la cianometahemoglobina en el Fotocolorímetro ERMA con el filtro verde amarillo.[121]

Las poblaciones linfoides se realizaron por la técnica de citometría de flujo[13,122] que permitió separar, clasificar y cuantificar las células sanguíneas. Se emplearon anticuerpos monoclonales conjugados con fluorocromos, específicos contra determinada molécula proteica de la superficie celular designada como cluster of differentiation (CD), de los linfocitos B, T y NK, lo que permitió contar cada célula que emite luz fluorescente en determinado rango. Se utilizó la dilución óptima de fluorescencia del reconocimiento de la reacción antígeno y anticuerpo y se determinó la cantidad de micro litros de sangre a utilizar para cada determinación antigénica, mediante la siguiente fórmula:

$$\textbf{Cantidad en } \mu\textbf{L} = \frac{\textbf{500 000 células}}{\textbf{número total de leucocitos}}$$

El volumen de la muestra de sangre se incubó durante 20 a 30 minutos, protegido de la luz y a temperatura ambiente. Posteriormente, con el objetivo de lisar los hematíes, se le adicionó a la muestra 5 mL de solución lisante de cloruro de amonio, se agitó vigorosamente y se dejó actuar durante 10 minutos a temperatura ambiente.

Se realizó lavado de las células con cloruro de sodio a 0,9% y se centrifugaron durante 10 min a 1500 rpm, luego se fijaron con 300 µL de formaldehido al 1%, para conservar su viabilidad, y se almacenaron a 4°C hasta su lectura en el Citómetro Gallios (Beckman Coulter, USA), ubicado en el Departamento de Inmunología del IHI. Se realizó calibración del citómetro con la muestra de sangre total (control negativo) antes de adquirir las células (10^4 células), lo que garantizó una adecuada distribución de las células según su tamaño y complejidad interna, lo cual depende del grado y la magnitud con la que se dispersa la luz del láser, al interactuar con los componentes celulares.

Los fluorocromos que se usaron fueron: isotiocianato de fluoresceína (FITC), ficoeritrina (PE), aloficocianina (APC) y peridinin clorofil proteína (PerCP) y ficoeritrina cianina 5 (PC5). El panel de anticuerpos monoclonales que se utilizó para identificar la población linfoide específica, se relaciona a continuación:

Población linfoide	**Anticuerpos monoclonales**
CD45+CD3+CD4+	CD4FITC/CD8PE/CD3PC5/CD45APC
CD45+CD3+CD8+	CD4FITC/CD8PE/CD3PC5/CD45APC
CD45+CD19+	CD19PerCP/CD45APC
CD45+CD3-CD56+CD16+	CD16F/CD56PE/CD3APC/CD45PerCP

Se evaluó el tamaño celular a través del "Forward Side Scatter" cuando la luz difractada incidió en el mismo eje de la luz incidente y la complejidad interna celular o granulosidad, a través del "Side Scatter" cuando la luz que se difractó y reflejó, se detectó a 90º de la dirección del láser. Los datos obtenidos se analizaron con el empleo del programa informático *Kaluza*, versión 1.2.

Valores de referencia de las poblaciones linfocitarias[122]

	5-10 años	11-16 años	adultos
Linfocitos T CD45+CD3+CD4+	25-53 %	25-48 %	28-57 %
Linfocitos T CD45+CD3+CD8+	19-34 %	9-35 %	10-39 %
Linfocitos B CD45+CD3-CD19+	10-31 %	8-24 %	6-19 %
Células NK CD45+CD3-CD56+CD16+	4-23 %	6-27 %	7-31 %

Para analizar el metabolismo redox se evaluaron parámetros prooxidantes y antioxidantes para lo cual se extrajeron 5 ml de sangre y se depositó en un tubo con Ácido Etilendiaminotetraacético. Se obtuvo el plasma y el lisado de los eritrocitos, las muestras se almacenaron a -20ºC hasta el momento de su procesamiento (no más de diez días).[118]

La concentración plasmática de MDA se determinó a partir del método descrito en el ensayo BIOXYTECH® LPO-586™ (OXIS Research, Portland, USA). La técnica se basó en la reacción de dos moléculas del reactivo cromogénico, N-metil-2-fenil- indol, con una molécula de MDA a 45°C, lo cual conduce a la formación de un cromóforo estable con un máximo de absorbancia a 586 nm en el espectrofotómetro VS-850. Los resultados fueron expresados en µmol/L.[123]

La determinación en el plasma de los PAOP se realizó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Witko Sarsat y cols. Este indicador muestra el grado de oxidación de las proteínas plasmáticas, en especial de la albúmina, mediado por la acción de oxidantes clorinados, como el ácido hipocloroso, liberado por los neutrófilos activados. La técnica se basa en que los PAOP reaccionan de la misma manera que la cloramina T (patrón) con el yoduro de potasio en medio ácido. Esta

reacción rinde un compuesto coloreado que absorbe a 340 nm en el espectrofotómetro VS-850. Los resultados fueron expresados en µmol/L.[124]

La actividad intraeritrocitaria de la enzima SOD1 se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Marklund y cols. Es un método cinético indirecto, que se basa en la capacidad de esta enzima para inhibir la reacción de auto oxidación del pirogalol. Su oxidación da lugar a la purpurogalina, compuesto amarillo marrón, por el cual se estima la magnitud de la reacción. Es un ensayo cinético que transcurre durante un minuto en condiciones óptimas de pH y temperatura (pH=8,20; T=25°C). La lectura se realiza a 420 nm unidades de densidad óptica, en el espectrofotómetro Spectronic Genesys 8UV-VIS. Para el cálculo de la actividad se tiene en cuenta que una unidad de actividad enzimática, es capaz de inhibir el 50% de la autooxidación del pirogalol. Las unidades se expresan en % de inhibición / minuto/ ml de enzima (U/mL).[125]

La determinación de la actividad enzimática de CAT se realizó mediante el método cinético directo referido por Aebi H. y cols.[126] La técnica, utiliza como sustrato el H_2O_2 y mide la descomposición de este sustrato, por la acción de la enzima presente en la muestra, reacción que se sigue por la variación en la densidad óptica, en un minuto a una longitud de onda de 240 nm. La lectura se realizó en el Espectrofotómetro Ultravioleta/visible (PHARMA SPEC UV 1700). Las unidades de actividad enzimática se expresan en mmoles de H_2O_2 transformados /minuto/ml de enzima (U/mL).

La determinación de la actividad enzimática intraeritrocitaria de la GPx, se realizó mediante la técnica referida por Paglia DE y Valentine WN. La reacción se inicia por

la adición del sustrato H_2O_2. La lectura se realizó en el Espectrofotómetro PD-303S a 340 nm en el modo cinética del equipo. Las unidades de actividad enzimática se expresan en mU/mL.[127]

La capacidad antioxidante total mide la contribución de los componentes del plasma para reducir sustancias oxidadas. Se realizó mediante el ensayo Ferric Reducing Ability of Plasma *(*FRAP), que utiliza al hierro como sistema de redox y determinó la habilidad del plasma para reducir los iones férricos a ferrosos. La reducción del ion férrico a ferroso a un pH bajo, da lugar a la formación del complejo FeII-Tripiridiltriazina, cromógeno azul que se midió, después de cuatro minutos de reacción en el lector de placas PR-521 con el filtro de 530 nm. Los resultados fueron expresados en equivalentes de mM de Fe^{II}/L.[128]

Valores de referencia normal del estudio de EO validados en el CNGM.

	0-15 años	16-30 años	≥31 años
MDA (µmol/L)	0,70 ±0,53-0,87	0,58 ±0,42-0,74	0,76 ±0,55-0,97
PAOP (µmol/L)	38,76 ± 26,82-50,70	47,15 ±29,59-64,70	37,40± 20,93-53,86
SOD (U/mL)	169,59 ±161,83-177,35	66,50 ±158,15-174,84	163,23 ±154,17-172,28
CAT(U/mL)	72,88 ±67,61-78,14	68,88 ±58,43-79,32	73,83 ±62,8-84,97
FRAP (mM Fe"/L)	0,16 ±0,14- 0,18	0,23 ±0,18-0,27	0,25 ±0,21-0,29
GPx (mU/ml)	41 360,45 ±29 913,46-52 807,44	31 170,63 ±16 906,56-45 434,70	19 259.89 ±6 446.26-32 073.51

Para evaluar la función hepática se analizaron las enzimas alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa y fosfatasa alcalina, mediante la cuantificación

espectrofotométrica del método cinético, que mide la reacción enzimática, en el HITACHI Cobas c 311.

Para evaluar la función renal se realizó determinación colorimétrica de la creatinina y determinación espectrofotométrica del método cinético ultravioleta para la urea, en el HITACHI Cobas c 311.[117]

2.6 Distribución de los pacientes por grupo de tratamiento y enmascaramiento

Los 60 pacientes incluidos en el ensayo clínico, fueron distribuidos de forma aleatoria en dos grupos de tratamiento: un grupo estudio (GE) que recibió tratamiento con O_3T por vía rectal, y el grupo control (GC) que fue tratado con Hebertrans® por vía subcutánea. Para la selección y distribución aleatoria de los casos en cada grupo de tratamiento, se implantó un muestreo aleatorio sistemático a partir del consecutivo de 60 casos, se calculó la constante K=2, con lo cual se dividió el universo de estudio en dos grupos iguales, K se determinó a partir del cálculo del cociente k = N/n, donde "N" es el tamaño del universo (total de pacientes del consecutivo, N= 60) y "n" es la totalidad de pacientes que conformaron el GE (calculado por el tamaño mínimo de muestra, n= 30). Se seleccionó el arranque aleatorio entre los números 1 y 2 a través de un generador de números aleatorio, donde el número seleccionado determinó la elección de los sujetos para el GE y el resto conformó el GC. El número seleccionado por el generador de números aleatorios resultó el 1, que condicionó la selección de los casos impares de la aleatorización sistemática para el GE. La asignación de los tratamientos se realizó después de verificar el cumplimiento de los criterios de

selección del universo. No se violó el orden de los casos en la consulta, ni el de los tratamientos asignados.

La evaluación inmunológica se realizó al implantar un enmascaramiento a ciegas por terceros, encargado de recoger los resultados de las evaluaciones de laboratorio, sin conocer el grupo de tratamiento asignado al paciente.

2.7 Intervención terapéutica

GE: se le administró el O_3 medicinal, constituido por la mezcla de oxígeno (95%) y O_3 (5%), que se obtuvo a partir del generador OZOMED *plus* (CENIC, La Habana, Cuba). Se aplicaron dos ciclos de tratamiento de O_3T por insuflación rectal, de 20 sesiones cada uno (40 dosis en total), con un intervalo de tres meses entre ciclos, distribuidos en dosis diarias (de lunes a viernes) y escalonadas semanalmente de acuerdo a la dosificación calculada según la edad.[20,21] Se llevó un registro de la administración que se llenó en el momento de la aplicación. Los rangos de dosificación ajustados a la edad fueron:

Rango de edad (años)	Dosis (mg)	Concentración mg/L	Volumen (mL)
5 - 10	1,2 - 3	25 - 30	50-100
11 - 15	2,2- 4,2	30-35	75-120
16-50	2 - 8	20-40	100-200

Procedimientos para aplicar el O_3 medicinal: acostar y recostar al paciente sobre el lado izquierdo, con la rodilla flexionada y los glúteos hacia arriba. La enfermera debe explicar el proceder y la importancia de respirar lentamente y a través de la boca, para facilitar la relajación del esfínter anal. Situar un paño sobre los miembros

inferiores y el resto del cuerpo excepto en los glúteos, utilizar una sonda rectal Nelaton, calibre 10 para los adultos y sonda de alimentación parenteral № 8 para los niños e introducir la sonda de 7,5 a 10 cm en el adulto y de 2 a 3 cm del esfínter en el niño, previa lubricación de la misma. El paciente debe reposar durante 15 minutos después de la instilación para lograr mejor absorción del O_3 medicinal.[109]

GC: se administró Hebertrans® (Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, La Habana, Cuba) según el siguiente esquema: 1 Unidad por m^2 de superficie corporal, diluido en 1mL de agua para inyección, por vía subcutánea y se administró en la región del deltoides, con una frecuencia semanal en los niños y 2 veces por semana en los adultos, durante 16 semanas.[129] Se llevó el registro de la administración.

Procedimientos para administrar el Hebertrans®: revisar la fecha de caducidad y conservación. El bulbo se disuelve en 1 mL de agua para inyección, evitando la formación de espuma y se aplica inmediatamente después de reconstituido. En caso de cambio de coloración, turbidez o formación de precipitado se desecha. Para la administración subcutánea, se utilizó jeringuillas de 1 mL y aguja número 26.[129]

2.8 Evaluación de eficacia

Variable primaria de eficacia (evaluación clínica)

Se consideró como variable principal a la **evaluación clínica,** y se midió mediante la caracterización de las enfermedades infecciosas[116] presentes en los casos al inicio, durante, y hasta seis meses después de los tratamientos y la aparición de otras enfermedades. Se tuvo en cuenta el tipo y localización de la infección, si fue recurrente, la etiología, sí hubo complicaciones e ingresos hospitalarios.

Categorías de la ***evaluación clínica***: satisfactoria, aceptable, no satisfactoria y peor.

Satisfactoria: se caracterizó por no tener enfermedades infecciosas bacterianas respiratorias, ni en la piel y no presentar enfermedades parasitarias. Puede manifestar hasta dos infecciones virales.

Aceptable: presentar hasta dos infecciones respiratorias y cutáneas de etiología bacteriana, una enfermedad parasitaria y dos enfermedades infecciosas virales.

No satisfactoria: presentar más de dos infecciones bacterianas respiratorias o cutánea (recurrencia). Tener IPRA y más de dos infecciones virales.

Peor: situación médica desfavorable, presenta complicaciones, enfermedades infecciosas mayores recurrentes e ingresos hospitalarios.

Variable secundaria de eficacia

Se evaluó la ***respuesta terapéutica*** como la variable secundaria de eficacia y se definió como una variable compuesta, ya que para su medición hubo que realizar análisis univariados de otras variables independientes, tales como: los resultados de la evaluación clínica (a los seis meses), las inmunoglobulinas G y M (al mes y seis meses), los parámetros prooxidantes y antioxidantes (al mes), al compararlos con valores iniciales por grupo de tratamiento y entre ambos grupos (GE y GC).

Categorías de la ***respuesta terapéutica***: completa, parcial, enfermedad estable y enfermedad progresiva.

Completa: Evidencia de evaluación clínica satisfactoria, incremento de IgM o la IgG, parámetros prooxidantes normales e incremento de al menos dos parámetros antioxidantes después del tratamiento.

Parcial: Evidencia de evaluación clínica satisfactoria o aceptable, incremento de IgM o la IgG; al menos uno de los parámetros prooxidantes normal e incremento de al menos un parámetro antioxidante después del tratamiento.

Enfermedad estable: Cuando se detectan uno o dos de las siguientes condicionantes: Evaluación clínica no satisfactoria, sin cambios en los niveles de IgM o la IgG, de los parámetros prooxidantes, ni en la activación de marcadores antioxidantes, después del tratamiento.

Enfermedad progresiva: Cuando se detectan tres o cuatro de las siguientes condicionantes: una evaluación clínica peor, sin cambios en los niveles de IgM o la IgG, de los parámetros prooxidantes, ni en la activación de marcadores antioxidantes, después del tratamiento.

La evaluación final de la eficacia se basó en el análisis integrado de la ***respuesta terapéutica***, además de considerar la razón de la tasa de respuesta terapéutica observada para cada grupo de tratamiento.

2.9 Evaluación de seguridad

Las variables relacionadas con la seguridad se analizaron de acuerdo a lo establecido por el Centro Estatal para el Control de Medicamentos en la Regulación № 45-2007.[130] Se consideró como EA cualquier acontecimiento médico desfavorable

que se presentó en el sujeto bajo investigación clínica, el cual no tuvo que tener una relación de causalidad con el tratamiento que se aplicó. Pudo ser cualquier signo desfavorable involuntario, síntoma o enfermedad temporalmente asociado con el uso de los tratamientos, pudiendo estar relacionado o no con los mismos. Se evaluaron las pruebas de función hepática y renal, al mes y 6 meses después de los tratamientos.

2.10 Recolección y manejo de datos

Los datos se recogieron en el cuaderno de recogida de datos (anexo 2) por el investigador a cargo del ensayo. El cumplimiento de buenas prácticas clínicas[131] fue monitoreado por parte de los monitores del ensayo.

2.11 Análisis estadísticos

Los resultados obtenidos se procesaron mediante el programa SPSS versión 21.0, se presentaron en tablas y figuras y se expresaron como valores absolutos y porcentajes. Se utilizó la prueba de independencia y de homogeneidad (según el caso) con distribución chi cuadrado de Pearson, para evaluar la relación entre variables nominales; la variante de corrección por continuidad de Yates para tablas de 2x2 y el estadístico exacto de Fisher (sí más del 20 % de las frecuencias esperadas eran inferiores a cinco o sí la frecuencia esperada mínima era inferir 1).

Para variables categóricas se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, para evaluar variables cuantitativas que no seguían distribución normal u ordinales en dos muestras independientes. Para muestras relacionadas, se utilizó la prueba de rangos

con signos de Wilcoxon para variables cuantitativas que no seguían distribución normal u ordinales en dos muestras relacionadas. La prueba de Friedman se utilizó para evaluar variables cuantitativas u ordinales en k muestras relacionadas y la prueba no paramétrica Q de Cochran para respuestas binarias en k muestras relacionadas. Se fijó un nivel de significación de 0,05 y por tanto una confiabilidad del 95%. Valores significativos se consideraron para $p \leq 0.05$. El cálculo de riesgo se realizó a través de la fórmula de riesgo relativo que cuantifica su magnitud.

Grupo de tratamiento	Respuesta presente	Respuesta ausente	Total
Tratamiento con ozonoterapia	a	b	a+b
Tratamiento con Hebertrans®	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	n

$$RR = \frac{Tasa\ de\ respuesta\ en\ los\ expuestos}{Tasa\ de\ respuesta\ en\ los\ no\ expuestos} = \frac{\frac{a}{a+b}}{\frac{c}{c+d}}$$

RR: riesgo relativo

2.13 Procedimientos éticos

El ensayo fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación en el hospital general docente “Capitán Roberto Rodríguez Fernández” (acuerdo № 2/2010). Se cumplieron las directrices de Buenas Prácticas Clínicas en Cuba[131] y los principios de la Declaración de Helsinki.[132]

CAPÍTULO 3

CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA, CLÍNICA, INMUNOLÓGICA Y DEL ESTADO DEL BALANCE REDOX DE LOS PACIENTES CON DIgA

CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DEMOGRÁFICA, CLÍNICA, INMUNOLÓGICA Y DEL ESTADO DEL BALANCE REDOX DE LOS PACIENTES CON DIgA

En este capítulo se compararon al inicio los grupos de pacientes (GE y GC) de acuerdo a variables demográficas, clínicas, inmunológicas y del balance redox, con el objetivo de demostrar la homogeneidad inicial de los grupos.

3.1. Características demográficas según edad y sexo

La edad mínima de los pacientes seleccionados en ambos grupos fue de 5 años, mientras que la máxima fue de 47 y 49 años para los GC y GE. En la tabla 1, se muestra la distribución de los pacientes según la edad. Se incluyeron 21 pacientes entre cinco y 10 años en el GE (70%) y 14 en el GC (46,7%), y a partir de los 11 años de edad, nueve (30%) en el GE y 16 (53,3%) en el GC, sin diferencias significativas (p=0,116) entre ellos.

Tabla1. Distribución de los pacientes deficiente de IgA por grupo según edad.

Edad	Grupo de tratamiento						p
	Estudio		Control		Total		
	№	%	№	%	№	%	
5 -10 años	21	70	14	46,7	35	58,3	0,116
≥11 años	9	30	16	53,3	25	41,7	

Chi cuadrado de homogeneidad

Se reportan cuadros transitorios de DIgA, en niños menores de cuatro años.[133] Por otra parte, niños que tenían niveles de IgA por debajo de 0,07g/L a los tres años, mantuvieron estas cifras hasta los siete años de edad. No obstante, los niveles bajos de IgA, podrían ser consecuencia de la inmunodeficiencia transitoria de la infancia, que ocurre en niños menores de los cuatro años, debido al retraso en el desarrollo del sistema inmunológico después del nacimiento, hecho que pudiera interferir en el diagnóstico de DIgA como enfermedad.[8] Por tal razón se consideró la edad (a partir de los cuatro años) como criterio de selección de pacientes incluidos en el estudio.

En cuanto al sexo, como se muestra en la figura 1, hubo un ligero predominio de varones, sin diferencias significativas entre los grupos (p=1,000). En un estudio poblacional de 7 293 voluntarios australianos se evidenció una frecuencia de DIgA mayor en el sexo masculino.[134] Otros autores, muestran las características de poblaciones deficientes de IgA en diversos países y evidencian que no hay diferencias de prevalencia entre mujeres y hombres.[135]

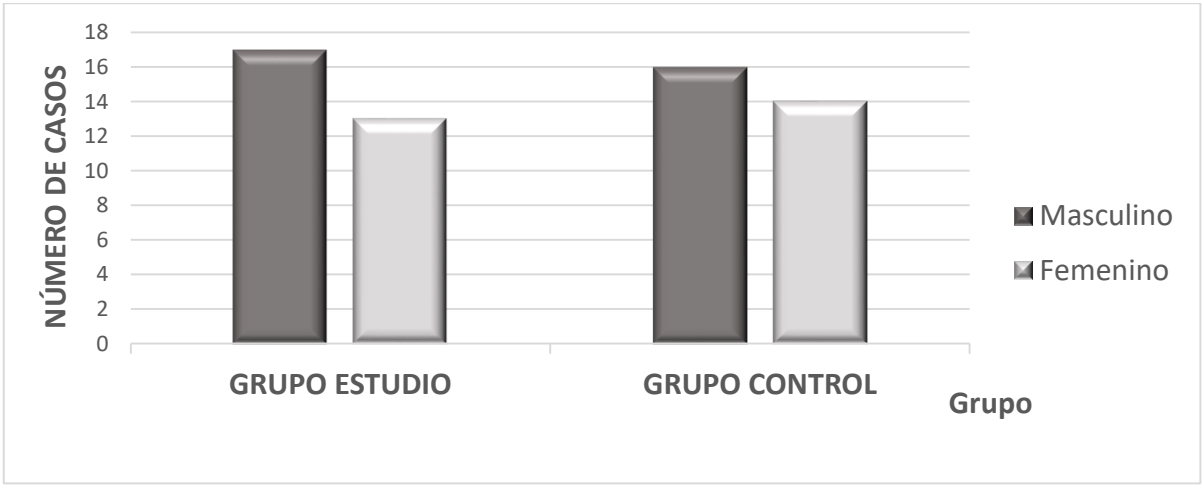

Figura 1. Distribución de los casos deficientes de IgA según el sexo por grupo de tratamiento.

En cuanto a las características demográficas, los grupos fueron homogéneos ya que no se detectaron diferencias con relación a la edad y el sexo.

3.2 Evaluación clínica

Al comparar ambos grupos de pacientes según la presencia de enfermedades de etiología infecciosa, se evidenció que se distribuyeron de forma homogénea, sin diferencias significativas entre ellos (tabla 2). Se identificaron enfermedades infecciosas respiratorias, tales como: virosis (41%), bronconeumonías (40%), otitis media aguda (31,7%) y adenoamigdalitis crónica (23,3%). Por otra parte, las infecciones en el sistema digestivo fueron de etiología parasitaria, tales como giardiasis (35%), IPRA (28,3%) y amebiasis (13,3%).

Tabla 2. Enfermedades infecciosas en los pacientes deficientes de IgA por grupo de tratamiento.

Enfermedades infecciosas	Estudio		Control		p
	№	%	№	%	
virosis	16	53.3	9	30.0	0.116
Otitis media aguda recurrente	12	40.0	7	23.3	0.267
Bronconeumonías	12	40.0	12	40.0	1.000
Giardiasis	11	36.7	10	33.3	1.000
Enfermedad inflamatoria parasitaria recurrente	10	33.3	7	23.3	0.567
Disbacteriosis	9	30.0	8	26.7	1.000
Adenoamigdalitis crónica	7	23.3	7	23.3	1.000
Piodermitis	6	20.0	8	26.7	0.760
Amebiasis	4	13.3	4	13.3	1.000

Chi cuadrado de Pearson de homogeneidad

En la evaluación inicial, la mayoría de los pacientes (57,95%) tenían infecciones recurrentes respiratorias, ya que manifestaron en el último año, tres o más enfermedades infecciosas, en distintas localizaciones anatómicas, con una evolución más prolongada de lo habitual y una respuesta deficiente a los antibióticos orales. Algunos casos requirieron hospitalización y se presentaron complicaciones como el derrame pleural en dos.[136,137]

En un estudio que compara a pacientes deficientes de IgA con controles sanos se encontró, al igual que en el presente trabajo, una historia de enfermedades infecciosas respiratorias recurrentes.[50] Domínguez y cols. en 330 casos con DIgA[139] y De Oliveira y cols. en 39 pacientes,[140] también informan resultados similares.

El cuadro clínico que presentan los pacientes del presente estudio, se fundamenta en el hecho, de que al estar baja o ausente la IgA sérica, disminuye o se pierde totalmente, las funciones efectoras e inmunoreguladora de esta inmunoglobulina. Los niveles bajos de IgA sérica ocasionan menor transporte de la IgA a las superficies mucosas,[10] lo que favorece la entrada de microorganismos a través de los epitelios y la ocurrencia de enfermedades infecciosas y predispone el estado proinflamatorio en el paciente, que conlleva a procesos inflamatorios locales y sistémicos. [38-40,138]

En esta serie de pacientes con DIgA se detectaron levaduras (10 casos, 6,7%) y disbiosis (17 casos, 28,3%), esto se originó como consecuencia del parasitismo frecuente, la carencia de IgA y el uso de antimicrobianos,[49] que ocasionaron la pérdida de organismos microbianos beneficiosos y la expansión de patobiontes de la microbiota normal.[138]

La disbiosis en el contexto de la DIgA, juega un importante papel en la progresión de la enfermedad.[141] La microbiota incluye bacterias, virus y hongos como las levaduras que no son susceptible al tratamiento con antibióticos, por lo que un efecto secundario del uso de antibióticos es el crecimiento de levaduras como la *Cándida albicans,* de ahí la importancia de controlar el sobre crecimiento de hongos para mantener la salud intestinal.[142,143] En opinión de la autora, la presencia de levaduras en las heces y la inversión de la microbiota, constituyen alteraciones patológicas que complican, aún más, el estado inmunitario deficitario de las superficies mucosas, con repercusión en el sistema inmune general.

La DIgA y las enfermedades autoinmunes pueden coexistir en el mismo individuo.[11] La tabla 3 muestra que cuatro casos (6,7%) tenían enfermedades autoinmunes: dos con artritis reumatoide, uno con vitíligo y otro caso con trombocitopenia autoinmune. La frecuencia y tipo de enfermedad autoinmune encontrada se corresponde con lo encontrado por otros autores.[54,55,144]

Son diversas las manifestaciones de autoinmunidad que pueden estar presentes en los sujetos deficientes de IgA.[11,54,55] Abolhassani y cols., identificaron en un estudio similar al presente, casi el 30% de pacientes con enfermedades autoinmunes, y las más frecuentes fueron: tiroiditis, vitíligo y anemias hemolíticas.[144] Errante y cols., reportaron al LES como la enfermedad autoinmune principal que se diagnosticó en una serie de casos con DIgA.[55]

El riesgo de coexistencia de la enfermedad autoinmune con la DIgA, se basa en factores genéticos, tales como expresar ciertos haplotipos de antígenos de

histocompatibilidad A1-B8-DR3,[48] que esté comprometido el mecanismo de tolerancia a los antígenos propios, específicamente por disminución de los mecanismos que median los linfocitos T_{reg} y los linfocitos B de memoria y porque se afecte la acción antinflamatoria de la IgA, especialmente la regulación de la respuesta celular de quimiotaxis, la fagocitosis mediada por la IgG y la inhibición de Th17.[144]

La IgM alta en la DIgA y su asociación con autoinmunidad se demostró en otras IDP.[54] Singh y cols.[11] y Abolhassani y cols.[144] lo confirmaron y se basaron en que la mayoría de los anticuerpos naturales IgM se producen por las células B1, un subgrupo de linfocitos que aparecieron antes en la ontogenia de los linfocitos B tradicionales y producen anticuerpos IgM que se unen a los antígenos independientes de la célula T. Esta IgM puede reaccionar de forma cruzada con antígenos propios y causar autoinmunidad. También la IgM alta puede indicar alteración en el cambio de isotipo de la célula B.[11,144]

Los datos de la tabla 3 muestran varios tipos de enfermedades alérgicas en esta serie de casos, el asma bronquial fue la más frecuente, se diagnosticó en 23 casos y ocasionó crisis agudas persistentes; la rinitis alérgica y la dermatitis atópica se constataron en siete casos, cada una. Otras alergias fueron menos frecuentes. Según las enfermedades asociadas presentes en los pacientes, los grupos fueron homogéneos (tabla 3).

Tabla 3. Enfermedades asociadas a la deficiencia de IgA según el grupo de tratamiento.

Enfermedades asociadas	Grupo de tratamiento				p
	Estudio		Control		
	№	%	№	%	
Asma bronquial	13	43,3	10	33,3	0,595
Malnutrición por defecto	8	26,7	6	20,0	0,760
Anemia	7	23,3	1	3,3	0,052[1]
Dermatitis atópica	3	10,0	4	13,3	1,000[1]
Rinitis Alérgica	2	6,7	5	16,7	0,424[1]
Alergias a medicamentos	2	6,7	1	3,3	1,000[1]
Enfermedades autoinmunes	2	6,7	2	6,7	1,000[1]
Urticaria crónica	2	6,7	0	0,0	0,492[1]
Intolerancia a la lactosa	1	3,3	3	10,0	0,612[1]
Prurigo	1	3,3	1	3,3	1,000[1]
Laringitis alérgica	1	3,3	0	0,0	1,000[1]

Chi cuadrado de Pearson de homogeneidad
P[1] Estadístico exacto de Fisher

La DIgA se asocia con una prevalencia alta de alergias,[135] en esta investigación se evidenció que en 46 casos (76,6% del total) coexisten enfermedades alérgicas. Sang y cols. demostraron un incremento del riesgo de desarrollar asma bronquial en la DIgA en ciertos individuos con mutaciones del gen TNFRSF 13B.[52] Los trastornos alérgicos pueden ser la manifestación clínica inicial en la DIgA,[10,145] y varios autores sostienen que son diversas las alergias que pueden coexistir con esta IDP.[52,145-148] Esto se fundamenta en que al estar la IgA ausente o en concentraciones insuficientes, se pierde parte de la capacidad de bloquear la entrada de alérgenos a través de la mucosa.[8,9]

3.3 Evaluación inmunológica

La determinación de los niveles de IgA, IgG e IgM se realiza simultáneamente. Al evaluarse juntas, brindan información importante sobre el funcionamiento de la

inmunidad humoral adaptativa, en especial acerca de los mecanismos de respuesta contra las infecciones y las enfermedades autoinmunes. [9,15]

En la tabla 4 se muestra el resultado de la evaluación de las inmunoglobulinas séricas al inicio del estudio. Los niveles de IgA se encontraron disminuidos en 19 casos en el GE (63,3%) y en 24 casos del GC (80,0%). Por otra parte, los valores de IgA no fueron detectables en 11 casos del GE (36,7%) y en seis casos del GC (20%). Lo que evidenció que la mayoría de los pacientes (43 casos, el 71,7%) manifestaron deficiencia parcial de IgA; el resto correspondió a la deficiencia absoluta (17 casos, 28,3%), con distribución homogénea entre los grupos (p=0,252). Este resultado coincide con otros estudios.[50,133]

La IgG inicial fue normal en 29 casos en cada grupo (96,7%) sin diferencias significativas (p=1,000). En cuanto a la IgM, en el GE los valores al inicio estaban normales en 29 casos (96,6%) y en el GC en 28 (93,3%), no se evidenciaron diferencias significativas (p=1,000) y se corroboró la homogeneidad entre los grupos.

Tabla 4. Niveles de inmunoglobulinas séricas según el grupo de tratamiento.

Inmunoglobulinas séricas		Grupo de tratamiento				p
		Estudio		Control		
		№	%	№	%	
IgA	Ausente	11	36,7	6	20,0	0,252
	Disminuida	19	63,3	24	80,0	
IgG	Normal	29	96,7	29	96,7	1,000[1]
	Aumentada	1	3,3	1	3,3	
IgM	Normal	29	96,7	28	93,3	1,000[1]
	Aumentada	1	3,3	2	6,7	

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad)

P[1] Estadístico exacto de Fisher

En el valor total de la IgG influyen las diferentes subclases y este valor representa la respuesta inmune secundaria a varios antígenos.[9] Por otra parte, la IgM tiene una acción protectora importante contra bacterias encapsuladas y funciones efectoras bien definidas.[9,15] Esta inmunoglobulina puede aumentar en la DIgA por un mecanismo compensatorio, que condiciona que existan pacientes con deficiencia de IgA asintomáticos o manifiesten sintomatología leve, lo que depende de la variabilidad individual. [50,51,133]

El análisis de anticuerpos específicos contra antígenos proteicos, se muestran en la tabla 5. El 96,7% de los pacientes tuvieron niveles protectores de anticuerpos anti TT y un caso (3,3%) los tenía bajos, sin diferencias significativas entre los grupos (p=1,000); los anticuerpos anti TD estaban normales en el 100%.

Con este resultado se puede plantear que 59 casos (96,7%) tienen DIgA selectiva y un caso (3,3%) tiene DIgA asociada a deficiencia funcional de anticuerpos específicos contra antígenos proteicos.

Tabla 5. Niveles de anticuerpos específicos según el grupo de tratamiento.

Anticuerpos específicos		Grupo de tratamiento				p
		Estudio		Control		
		№	%	№	%	
Anti TT	Disminuido	1	3,3	0	0,0	1,000
	Normal	29	96,7	30	100,0	
Anti TD	Disminuido	0	0,0	0	0,0	-
	Normal	30	100,0	30	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson (Estadístico exacto de Fisher)

Otros autores reportan resultados similares, donde la respuesta funcional de anticuerpos fue normal en la mayoría o en todos los casos.[14, 50,133] Se considera que estos tipos de anticuerpos en un suero basal o prevacunal, permiten valorar la

persistencia de niveles protectores y son de gran valor para estudiar la inmunocompetencia humoral, al estar comprometido el componente humoral de la respuesta inmune.[49]

Al comparar los resultados de las poblaciones linfoides al inicio se evidenció que los linfocitos T CD45+CD3+CD4+ estaban disminuidos en siete casos (11,7%) y los linfocitos T CD45+CD3+CD8+ aumentados en seis (10%). Por otra parte, las células B CD45+CD3-CD19+ estaban disminuidas en 16 casos (26,7) y las NK CD45+CD3-CD56+CD16+ disminuidas en tres (5%). No se observaron diferencias significativas entre los grupos (tabla 6). De acuerdo a los resultados de las poblaciones linfoides, los grupos fueron homogéneos.

Tabla 6. Valores de poblaciones linfoides al inicio según el grupo de tratamiento.

Poblaciones linfoides		Grupo de tratamiento				p
		Estudio		Control		
		№	%	№	%	
Linfocitos T CD45+CD3+CD4+	Disminuido	5	16,7	2	6,7	0,421[1]
	Normal	25	83,3	28	93,3	
Linfocitos T CD45+CD3+CD8+	Disminuido	0	0,0	1	3,3	0,720[2]
	Normal	27	90,0	26	86,7	
	Aumentado	3	10,0	3	10,0	
Linfocitos B CD45+CD3-CD19+	Disminuido	11	36,7	5	16,7	0,144[1]
	Normal	19	63,3	25	83,3	
Linfocitos NK CD45+CD3-CD56+CD16+	Disminuido	2	6,7	1	3,3	1,000[1]
	Normal	28	93,3	29	96,7	

[1] Chi-cuadrado de Pearson (Estadístico exacto de Fisher)
[2] U de Mann-Whitney

La disminución de linfocitos T CD45+CD3+CD4+ en algunos pacientes del estudio (tabla 6), es consistente con lo que reportan Bezrodnik y cols., [133] al identificar 15 casos con disminución de los linfocitos T CD4+, en una muestra de 38 pacientes y

pudo ocurrir a expensa de los linfocitos T_{reg}, lo cual concuerda con lo que informa Soheili y cols. en 26 pacientes con DIgA.[42] Las células T_{reg} tienen funciones específicas en la síntesis de la IgA[9] y su deficiencia es uno de los mecanismos involucrados en la etiopatogenia de la DIgA.[41,42] El aumento en los linfocitos T CD45+CD3+CD8+ en seis pacientes, coincide con los reportes de Martínez y cols.[149] y de Litzman y cols.[41] No obstante, existen informes sobre este tipo de deficiencia con descensos de los linfocitos T CD45+CD3+CD8+.[41,133] De la variación en la respuesta individual puede depender el resultado de la población de linfocitos T CD45+CD3+CD8+ como se informa por algunos autores.[41,133,149] La disminución en el número de linfocitos T CD45+CD3+CD4+ y el aumento de linfocitos T CD45+CD3+CD8+ se reporta por Nechvatalova y cols.[44] y Soheili y cols.[42] en pacientes con DIgA. El la figura 2 (anexo 3) se muestra el patrón inmunofenotípico de un paciente del estudio con DIgA absoluto, que tiene disminución de linfocitos B CD45+CD3-CD19+ y linfocitos T CD45+CD3+CD4+.

La disminución de las células NK encontrada en los pacientes del presente estudio, coincide con los hallazgos de Bezrodnik y cols.[133] En la figura 3 (anexo 4) se muestra la secuencia de análisis de las células NK de uno de los pacientes con disminución de estas células. La determinación de poblaciones linfoides ofreció una información más completa de la patogénesis inmunitaria que manifestaron los casos con DIgA.

En la tabla 7 se muestran los resultados del análisis de los linfocitos B en los pacientes según la forma clínica de presentarse esta IDP (con déficit parcial o absoluto de IgA), ya que existieron diferencias significativas (p=0,010) cuando la DIgA fue completa o parcial, en cuanto a los niveles de los linfocitos B.

Tabla 7. Niveles de linfocitos B CD45+CD3-CD19+ en la Deficiencia de IgA parcial y absoluta.

Linfocitos B CD45+CD3-CD19+	Deficiencia de IgA				p
	DIgA completa		DIgA parcial		
	№	%	№	%	
Disminuido	9	52,9	7	16,3	
Normal	8	47,1	36	83,7	0,010
Total	17	100,0	43	100,0	

Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

En la DIgA puede presentarse la disminución de las células B de memoria (CD19+CD27+IgD+) y se informa que el número de células B de memoria es normal en la deficiencia parcial.[43,149] Aghamohammadi y cols.[150] evaluaron la disminución de estas células en pacientes con DIgA y establecieron una clasificación en subgrupos según el resultado. La disminución de los niveles de linfocitos B CD45+CD19+ en los casos del estudio, pudo ocurrir a expensas de las células B de memoria, [44,150] lo que constituye un factor predisponente para progresar a otro tipo de IDP, como la inmunodeficiencia común variable,[44] por lo que resulta importante medir la población de linfocitos B de memoria en lo pacientes deficientes de IgA.

Al comparar ambos grupos según los resultados del hemograma con diferencial (tabla 8) se pudo constatar que la mayoría de los pacientes tenían cifras normales de neutrófilos y linfocitos. Sin embargo, los eosinófilos estaban altos en 17 pacientes del GE (56,7%) y en 20 del GC (66,7%) para una p=0,595. No hubo diferencias significativas en los parámetros evaluados, lo que evidencia la homogeneidad entre los grupos de tratamiento

Tabla 8. Valores del hemograma con diferencial según el grupo de tratamiento.

Hemograma con diferencial		Grupo de tratamiento				p
		Estudio		Control		
		№	%	№	%	
Hemoglobina	Disminuido	7	23,3	1	3,3	0,058[1]
	Normal	23	76,7	29	96,7	
Leucos totales	Normal	24	80,0	25	83,3	1,000[1]
	Aumentado	6	20,0	5	16,7	
Neutrófilos	Normal	27	90,0	28	93,3	1,000[1]
	Aumentado	3	10,0	2	6,7	
Linfocitos	Normal	27	90,0	27	90,0	1,000[1]
	Aumentado	3	10,0	3	10,0	
Eosinófilos	Normal	13	43,3	10	33,3	0,595[2]
	Aumentado	17	56,7	20	66,7	

Chi-cuadrado de Pearson: P[1] Estadístico exacto de Fisher. P[2] Corrección por continuidad

Los leucocitos constituyen una población celular heterogénea, su evaluación es importante ya que son las células responsables de la defensa frente a las agresiones externas mediante mecanismos de fagocitosis (neutrófilos y monocitos) o mediante la respuesta inmune celular adaptativa (linfocitos).[9] Los neutrófilos altos identificados en algunos pacientes (tres en el GE y dos en el GC), es un hallazgo frecuente en las inmunodeficiencias que cursan con infecciones por gérmenes piógenos y en la respuesta inflamatoria.[52,151,152] Los linfocitos altos (tres pacientes en cada grupo), se asocian a enfermedades infecciosas virales recurrentes, como informa la literatura científica.[9,12,15] Los valores altos de eosinófilos se relacionaron con enfermedades alérgicas y gastroenteritis parasitaria recurrente presente en los pacientes deficientes de IgA, que conduce a la activación de la respuesta inmune adaptativa Th2, y se favorece la adhesión y quimio atracción selectiva del eosinófilo y el reclutamiento e

infiltración de estas células, bajo la influencia de citocinas que se sintetizan localmente.[153]

3.4 Evaluación del estado del balance redox

Al comparar ambos grupos en relación con los parámetros prooxidantes, se observó que no hubo diferencias significativas entre los grupos para el MDA ni para el PAOP (Tabla 9), antes de iniciar el tratamiento asignado. De acuerdo con los resultados de los prooxidantes medidos, los grupos se comportaron de forma homogénea.

Al comparar los grupos con los valores de referencia normales (capítulo 2, página 52), se evidenció que el MDA estaba alto en el GE en 21 casos (70%) y en el GC en 25 (83,3%) y los PAOP estaban altos en el GE en 17 casos (56,7%) y en el GC en 15 casos (50%).

Tabla 9. Niveles de parámetros prooxidantes según el grupo de tratamiento.

Parámetros prooxidantes		Grupo de tratamiento		p
		Estudio	Control	
		Media ±DE	Media ±DE	
≤ 15 años	MDA (µmol/L)	1,1±0,6	1,3±0,6	0,113
	PAOP (µmol/L)	49,3±10,5	52,1±5,6	0,252
16 a 30 años	MDA (µmol/L)	1,0±0,0	1,2±0,5	0,770
	PAOP (µmol/L)	55,0±5,8	44,2±17,8	0,380
≥31 años	MDA (µmol/L)	2,3	2,3	-
	PAOP (µmol/L)	58,9	55,9	-

U de Mann-Whitney
Leyenda. MDA: malondialdehido. PAOP: productos avanzados de oxidación a proteínas

Los niveles altos de MDA y PAOP en la mayoría de los pacientes de ambos grupos de tratamiento ponen de manifiesto que existe un desbalance redox con predominio del estado prooxidante. Esta evidencia es consistente con resultados de otros autores en enfermedades inmunológicas de diversa etiología, tales como: IDP, SIDA y LES.[66,154]

El desbalance redox en los pacientes deficientes de IgA del estudio conlleva a un EO de tipo inflamatorio, que se produce como consecuencia de la activación intensa y frecuente de la enzima NADPH oxidasa por exposición continua a los RL, esto trae consigo producción deliberada y acumulación del $O_2^{\cdot-}$, con efectos perjudiciales tales como: peroxidación lipídica, reacción con otros RL como el óxido nítrico y la formación de otros radicales más dañinos ($ONOO^-$). La peroxidación lipídica por RL produce oxidación inespecífica de ácidos grasos poliinsaturados, ruptura de la estructura lipídica y como consecuencia, la pérdida de la integridad de la membrana. El MDA es un marcador de este proceso, de relevancia clínica ya que constituye un aldehído tóxico que propaga la cadena de peroxidación.[60] La elevación de los PAOP en los pacientes es producto del efecto de los RL sobre las proteínas.[63] Por otra parte, el neutrófilo emplea la mieloperoxidasa para aclarar el H_2O_2 durante la respuesta inmune, y como producto de la reacción genera acido hipocloroso, pero en situaciones de hipercatabolismo como las enfermedades infecciosas recurrentes y crónicas, el 40% del H_2O_2 se convierte en hipoclorito y el 60 % en hidroxilo. El aumento no controlado de H_2O_2 en presencia de metales como el hierro también genera anión hidroxilo. Estos radicales actúan sobre las moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, siendo el MDA un producto de la oxidación de los lípidos y los PAOP un producto de la ‘oxidación de las proteínas.[9,61,63]

Al comparar ambos grupos en relación con los parámetros antioxidantes (SOD, CAT, FRAP, GPx), se observó que no hubo diferencias significativas entre los ellos (tabla 10). De acuerdo con estos resultados los grupos se comportaron de forma homogénea.

Tabla 10. Niveles de parámetros antioxidantes según el grupo de tratamiento.

Parámetros antioxidantes		Grupo de tratamiento		p
		Estudio	Control	
		Media ±DE	Media ±DE	
≤ 15 años	SOD (U/mL)	151,8±20,1	156,5±20,6	0,168
	CAT (U/mL)	64,9±6,6	67,7±7,7	0,063
	FRAP (mM Fe"/L)	0,2±0,2	0,3±0,2	0,070
	GPx (mU/ml)	31 749,8±4938,3	32 228,3 ±7757,9	0,533
16 a 30 años	SOD (U/mL)	162,3±4,9	156,8 ±9,3	0,380
	CAT (U/mL)	69,6±1,0	66,2±4,7	0,078
	FRAP (mM Fe"/L)	0,3 ±0,1	0,3 ±0,1	0,769
	GPx(mU/ml)	21 263,3 ±19537,1	27 877,5 ±12461,3	0,770
≥31 años	SOD (U/mL)	170,0	159,6	-
	CAT (U/mL)	72,0	70,1	-
	FRAP (mM Fe"/L)	0,4	0,2	-
	GPx (mU/ml)	6445,2	25967,1	-

U de Mann-Whitney
SOD: superóxido dismutasa, CAT: catalasa, FRAP: capacidad del plasma de reducir el hierro, GPx: glutatión peroxidasa

Los sistemas de defensa antioxidantes enzimáticos, constituyen la primera línea de defensa celular frente al daño oxidativo, ya que actúan sobre las ERO degradándolas a moléculas más sencillas. La SOD dismuta el $O_2^{\cdot-}$ y las CAT y GPx, eliminan el H_2O_2 y los peróxidos orgánicos, por lo que deben estar en equilibrio para mantener el balance redox intracelular.[64]

Las células del sistema inmune están fuertemente influenciadas por el balance redox, ya que para llevar a cabo sus funciones se producen cambios en el metabolismo redox. Las células que tienen función citotóxica y fagocítica son sensibles a cambios en este balance, ya que por su actividad microbicida generan RL y sufren deterioro con el EO.[59,-63] El desbalance redox identificado en los pacientes del presente estudio, pudiera deberse a enfermedades infecciosas bacterianas recurrentes y crónicas diagnosticadas

en los pacientes deficientes de IgA sintomáticos, predominio del estado proinflamatorio, y las enfermedades alérgicas y autoinmunes que coexisten con esta IDP.

Los mecanismos que se implican en el EO inflamatorio son el reclutamiento de células inflamatorias, interferencia con las defensas antioxidantes, aumento del calcio intracelular y una mayor activación de la enzima NADPH oxidasa que genera $O_2^{\cdot -}$, el cual en presencia de iones hierro pasa a ser hidroxilo y este radical es de alta toxicidad. El EO inflamatorio se asocia a disfunción inmunitaria, que repercute en el cuadro clínico y la respuesta terapéutica en los pacientes con enfermedades inmunológicas que lo manifiesten, por lo que es importante poder corregirlo. [65-67,155,156]

3.5 Conclusiones del capítulo

1. Los grupos fueron homogéneos según las características demográficas, clínicas, inmunológicas y el estado del balance redox.
2. La deficiencia de IgA parcial predominó sobre la absoluta, la presentación clínica fue heterogénea y en un solo caso se detectó deficiencia de respuesta funcional, en el resto de los pacientes el déficit fue selectivo.
3. Los marcadores de poblaciones linfoides ofrecieron una información más completa de las características inmunitarias de la DIgA, lo que se corresponde con lo referido por otros autores.
4. Existe predominio del estado prooxidante en los pacientes con DIgA, situación que conlleva al EO crónico.

CAPÍTULO 4

EVALUACIÓN DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA

CAPÍTULO 4. EVALUACIÓN DE EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA

El objetivo del capítulo es mostrar los resultados de eficacia de la O_3T según las variables principales y secundarias tomadas en cuenta, así como la seguridad del tratamiento.

4.1 Análisis de eficacia

4.1.1 Evaluación clínica

La evaluación clínica inicial (tabla11) fue insatisfactoria en 26 casos del GE (86,7%) y en 27 casos (90%) del GC, sin diferencias significativas entre los grupos (p=1,000). Esta variable evidenció el cuadro clínico que al inicio manifestaron los pacientes deficientes de IgA, ya que al estar ausente o deficiente la IgA, se compromete su función protectora, anti inflamatoria e inmunoreguladora.[157] Fernández y cols., aseveraron que es importante mantener el control médico estable, en ambas formas de presentarse la DIgA (déficit absoluto y parcial), ya que pueden presentarse complicaciones o evolucionar a otros tipos de IDP en periodos variables de años.[158]

Al comparar ambos grupos a los 6 meses después de recibir los tratamientos, se observó que la evaluación clínica en el GE fue satisfactoria en 23 casos (76,7%) y aceptable en siete (23,3%), lo que resultó ser significativo (p=0,001). En el GC la evaluación clínica fue satisfactoria en 10 (33,3%), aceptable en 19 (63,6%) e insatisfactoria en uno (3,3%). Al comparar en cada grupo, la evaluación clínica al inicio con la evaluación a los seis meses después de aplicar los tratamientos, el resultado en ambos grupos fue positivo y significativo (p=0,000). Este resultado concuerda con los efectos clínicos beneficiosos que describen otros autores del Hebertrans® y de la O_3T. [86,129]

Tabla 11. Evaluación clínica al inicio y a los seis meses según el grupo de tratamiento.

Evaluación clínica		Grupo de tratamiento				p
		Estudio		Control		
		№	%	№	%	
Inicial	Aceptable	4	13,3	3	10,0	1,000[1]
	Insatisfactorio	26	86,7	27	90,0	
Seis meses después	Satisfactorio	23	76,7	10	33,3	0,001[2]
	Aceptable	7	23,3	19	63,3	
	Insatisfactorio	0	0,0	1	3,3	
p		0,000[3]		0,000[3]		

[1]Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)
[2]U de Mann-Whitney
[3]Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Se reportan beneficios clínicos significativos de la O_3T por autores que aplicaron el O_3 medicinal por diferentes vías de aplicación [17,159] y son consecuentes con otros autores que informan efectos clínicos positivos en investigaciones que usaron la vía rectal.[24,29,103,109]

El resultado de la evaluación clínica satisfactoria y aceptable en la totalidad de los casos del GE se fundamenta en el efecto anti infeccioso [159,160,161] e inmunomodulador de la O_3T.[159,162] La evaluación clínica satisfactoria y aceptable en 29 casos (96,6%) del GC es consecuente con los reportes de Cruz [31] en 280 casos con inmunodeficiencias celular que recibieron Hebertrans® en 11 hospitales de La Habana y con otros autores.[146,163] Esto se fundamenta en los efectos del Hebertrans® como regulador de la homeostasis, inductor de inmunogenicidad específica e inespecífica y amplificador de la respuesta inmune.[129,145]

La actividad germicida de amplio espectro del O_3, lo hace útil en individuos con enfermedades infecciosas diversas y recurrentes. La literatura científica describe al O_3 como el mayor germicida existente en la naturaleza y se utiliza como agente antiséptico en distintas aplicaciones locales cuando el O_3 tiene acceso directo al microorganismo, [70] pero dentro del organismo como el O_3 reacciona inmediatamente, lo hace a través de la inmunomodulación conseguida por sus metabolitos activos, que favorecen la actividad fagocítica leucocitaria, mecanismo efector importante en la respuesta inmune.[29, 84]

La acción inmunomoduladora se fundamenta en la habilidad del O_3 para inducir la síntesis de citocinas, en particular la inducción de IFN-γ, IL-2 e IL-8, lo que permite aseverar que al menos parcialmente facilita la función inmune.[159] La acción de estas citocinas *in vivo*, están bien establecidas, en el caso de IFN- γ es la clase de citocina que media la acción antiviral del sistema inmune, principalmente porque incrementa la actividad de las células NK, las cuales pueden reconocer y lisar células infectadas por

virus independiente de la restricción del MHC, estimula el cambio de isotipo a IgG opsonizadora y fijadora del complemento y la diferenciación de los linfocitos a Th1. La IL-2 favorece la proliferación y diferenciación de células efectoras y de memoria, y la activación de las células NK y la IL-8 es la citocina que promueve la migración de neutrófilos a los tejidos.[9,15]

Las formas recombinantes de IFN-γ e IL-2, están aprobadas por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de Norteamérica para su uso en humanos, sobre la base de sus acciones en la respuesta inmune.[159] Sin embargo, la O_3T es capaz de estimularlas de forma endógena, de manera fisiológica, sin ocasionar los eventos adversos de las terapias con citocinas recombinantes.

4.1.2 Niveles de inmunoglobulinas séricas

La evaluación de los niveles séricos de las inmunoglobulinas realizados en diferentes tiempo del estudio (inicio, al mes y a los seis meses), evidencian que la IgA no tuvo diferencias significativas entre los grupos, al mes ($p=0.656$), ni a los 6 meses ($p=0.548$) después de los tratamientos. Como refiere la literatura, no es posible aumentar la IgA sérica por ser un defecto permanente, [9] lo que concuerda con reportes de Noris y cols.[163] después de aplicar inmunomoduladores en la DIgA absoluta, los valores se mantuvieron iguales. Se plantea en estudios de seguimiento a largo plazo, que algunos pacientes con DIgA, pudieran manifestar incrementos en los niveles de la IgA sérica o evolucionar a otro tipo de IDP.[14,133] Hoy día no es posible curar la DIgA. La principal virtud de los tratamientos actuales es mantener al paciente libre de infecciones y tratar las enfermedades concomitantes.[14,164]

En la tabla12 se muestran los valores de IgG según la edad y el grupo de tratamiento. Al comparar los resultados entre los grupos, se evidencia que en los pacientes de 5 a 10 años hubo aumento significativo de la IgG al mes (p=0,007) y a los seis meses (p=0,003) en el GE con respecto al GC; en los ≥11años, el aumento de la IgG no fue significativo. Por otra parte, los valores de IgG a los seis meses en el GE, fueron significativamente (p=0,000) más altos que al inicio en ambos grupos de edad (de 5 a 10 años y ≥11años), este resultado no se obtuvo en el GC.

Tabla 12. Valor de la IgG inicial, al mes y 6 meses según edad y grupo de tratamiento.

IgG	Grupo de tratamiento	Edad			
		5 - 10 años		≥11 años	
		Media±DE	P[1]	Media±DE	P[1]
Inicial	Estudio	8,80±2,28	0,172	9,30±1,94	0,670
	Control	8,47±4,27		9,56±2,10	
1 mes	Estudio	9,97±2,94	0,007	10,25±2,20	0,379
	Control	8,29±4,18		9,56±2,02	
6 meses	Estudio	10,50±2,96	0,003	11,34±2,87	0,057
	Control	8,30±4,09		9,42±1,86	
[2] Friedman	Estudio	p^2= 0,000		p^2 = 0,000	
	Control	p^2 =0,936		p^2 = 0,627	

[1] U de Mann-Whitney

Al comparar los resultados de la IgM entre los grupos al mes y seis meses (tabla 13), se evidenció en los pacientes de 5 a 10 años del GE, la IgM fue significativamente (P=0,002) más alta a los seis meses con respecto al GC. Por otra parte, en el GE a los seis meses, la IgM aumentó de forma significativa (p=0,000) con respecto a los valores iniciales.

Tabla 13. Valor de la IgM inicial, al mes y 6 meses según edad y grupo de tratamiento.

IgM	Grupo de tratamiento	Edad			
		5 - 10 años		≥11 años	
		Media±DE	P[1]	Media±DE	P[1]
Inicial	Estudio	0,90±0,22	0,826	0,90±0,25	0,754
	Control	0,93±0,29		0,90±0,26	
1 mes	Estudio	1,03±0,21	0,057	1,00±0,19	0,148
	Control	0,90±0,36		0,85±0,30	
6 meses	Estudio	1,18±0,15	0,002	1,16±0,15	0,105
	Control	0,91±0,37		0,90±0,35	
[2] Friedman	Estudio	p^2= 0,000		p^2= 0,000	
	Control	p^2= 0,076		p^2= 0,849	

[1] U de Mann-Whitney

Se informan por la AEPROMO que pacientes pediátricos con inmunodeficiencias secundarias luego de recibir O_3 medicinal mediante la insuflación rectal, tuvieron aumento las inmunoglobulinas séricas.[96] Este resultado es consistente con reportes de autores que mostraron el efecto positivo de la O_3T sobre las inmunoglobulinas y otros parámetros inmunológicos en diversas enfermedades.[89,159,165,166] En la literatura no se encontraron evidencias del efecto de la O_3T sobre las inmunoglobulinas en la DIgA.

El O_3 medicinal ocasiona inducción citocinética de células en el sistema inmune y favorece la síntesis de citocinas.[159] Teniendo en cuenta los resultados del presente estudio se puede afirmar que el O_3 al inducir la síntesis de citocinas como la IL-2, se favoreció la proliferación de células efectoras y de memoria, la proliferación de linfocitos B y la síntesis de anticuerpos. Se favoreció la síntesis de IFN-γ, y con ello el cambio de isotipo a IgG opsonizadora y fijadora del complemento y la mejoría de la inmunidad mediada por células (diferenciación a linfocitos Th1). Estos efectos influyen

de forma positiva en la repuesta inmune innata y adaptativa, lo que se evidenció con el aumento de las inmunoglobulinas G y M y la mejoría en la evaluación clínica de los pacientes. La integridad funcional de estas inmunoglobulinas, es indispensable para mantener la homeostasis del sistema inmune.[9,15]

4.1.3 Parámetros prooxidantes

La comparación entre ambos grupos (GE y GC) en relación con los parámetros prooxidantes un mes después del tratamiento evidenció que el MDA y los PAOP de pacientes ≤15 años, disminuyeron de forma significativa (p=0,000) en el GE con respecto al GC (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis inicial y final de los parámetros prooxidantes según el grupo de tratamiento.

Prooxidantes			Grupo de tratamiento		P[1]
			Estudio	Control	
			Media ±DE	Media ±DE	
MDA	≤15 años	Inicial	1,1 ±0,6	1,3 ±0,6	0,113
		Final	0,7 ±0,1	1,1 ±0,4	0,000
		P[2]	0,000	0,000	
	16-30 años	Inicial	1,0 ±0,0	1,2 ±0,5	0,770
		Final	0,7 ±0,2	1,2 ±0,4	0,143
		P[2]	0,180	0,249	
	≥31años	Inicial	2,3	2,3	-
		Final	0,9	2,2	-
		P[2]	-	-	
PAOP	≤15 años	Inicial	49,3 ±10,5	52,1 ±5,6	0,252
		Final	40,6 ±10,6	51,2 ±5,3	0,000
		P[2]	0,000	0,000	
	16-30 años	Inicial	55,0 ±5,8	44,2 ±17,8	0,380
		Final	50,2 ±1,6	49,4 ±7,7	0,770
		P[2]	0,655	0,310	
	≥31 años	Inicial	58,9	55,9	-
		Final	52,5	55,9	-
		P[2]	-	-	

[1]U de Mann-Whitney [2] Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon
Nota: Grupo Estudio: (≤15 años, n=27), (16 a 30 años, n=2), (>30 años, n=1). Grupo Control: (≤15 años, n=22), (16 a 30 años, n=7), (≥31 años, n=1)

En los pacientes de 16 a 30 años del GE, la disminución de los parámetros no fue significativa con respecto al GC. La disminución significativa en los niveles de los marcadores de prooxidación en el GE en comparación con el GC, es consistente con los reportes de otros autores[109, 167,168] que aplicaron la O_3T en enfermedades crónicas con valores altos de parámetros prooxidantes.

El desequilibrio en el balance redox inicial con predominio del estado prooxidante identificado en los pacientes del estudio, ejerce un efecto perjudicial sobre la homeostasis celular, al provocar cambios fisiológicos y bioquímicos que ocasionan deterioro y muerte celular, y puede ser responsable de manifestaciones clínicas en las IDP, que no se relacionan con el defecto genético que la caracteriza.[67] Existen evidencias de que el O_3 detiene la peroxidación lipídica y es capaz de preservar la integridad de las membranas.[69, 96,103] El efecto positivo logrado con el O_3, estabilizó el balance redox y corrigió el EO celular presente en los pacientes con DIgA del GE.

4.1.4 Parámetros antioxidantes

Al comparar los parámetros antioxidantes en el GE y GC un mes posterior de recibir los tratamientos, se evidenció que la SOD en el GE fue significativamente más alta en los pacientes ≤15 años (P=0,006) y de 16 a 30 años de edad (p=0,040). Resultados significativos se obtuvieron al final en el GE, en los pacientes con edad ≤15 años (p=0,000) y entre 16 y 30 años (P=0,018) (Tabla 15).

Tabla 15. Parámetros antioxidantes al inicio y final por grupo de tratamiento.

Parámetros antioxidantes			Grupo de tratamiento		P[1]
			Estudio	Control	
			Media ±DE	Media ±DE	
SOD (U/mL)	≤ 15 años	Inicial	151,8 ±20,1	156,5 ±20,6	0,168
		Final	168,1 ±6,0	157,1 ±20,6	0,006
		P[2]	0,000	0,000	
	16 -30 años	Inicial	162,3 ±4,9	156,8 ±9,3	0,380
		Final	172,1 ±0,2	157,2 ±9,5	0,040
		p[2]	0,018	0,180	
	≥31 años	Inicial	170,0	159,6	-
		Final	172,0	159,7	-
CAT (U/mL)	≤ 15 años	Inicial	64,9 ±6,6	67,7 ±7,7	0,063
		Final	67,5 ±5,2	68,5 ±5,8	0,387
		p[2]	0,001	0,036	
	16 -30 años	Inicial	69,6 ±1,0	66,2 ± 4,7	0,078
		Final	70,2 ±0,9	66,5 ± 4,6	0,040
		p[2]	0,180	0,237	
	≥31 años	Inicial	72,0	70,1	-
		Final	73,8	70,1	-
FRAP (mM Fe"/L)	≤ 15 años	Inicial	0,224 ±0,2	0,286 ±0,2	0,070
		Final	0,246 ±0,2	0,288 ±0,2	0,271
		p[2]	0,000	0,185	
	16 -30 años	Inicial	0,250 ±0,1	0,267 ±0,1	0,769
		Final	0,265 ±0,1	0,264 ±0,1	0,883
		p[2]	0,180	0,414	
	≥31 años	Inicial	0,380	0,160	-
		Final	0,400	0,180	-
GPx (mU/ml)	≤ 15 años	Inicial	31 749,8 ±4 938,3	32 228,3 ±7 757,9	0,533
		Final	38 116,0 ±13 412,8	32 383,7 ±14 053,7	0,103
		p[2]	0,013	0,709	
	16 -30 años	Inicial	21 263,3 ±19 537,1	27 877,5 ±12 461,3	0,770
		Final	41 816,5 ±10 927,9	32 641,8 ±9 265,5	0,242
		p[2]	0,180	0,499	
	≥31 años	Inicial	6 445,2	25 967,1	-
		Final	33 679,0	23 889,8	-

[1] U de Mann-Whitney. [2] Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

Al comparar los resultados de CAT al final entre los grupos de tratamiento, evidenció que hubo diferencias significativas (p=0,040) en el grupo de 16 a 30 años. Por otra parte, en los pacientes ≤15 años del GE los resultados finales fueron significativos (p=0,001) con respecto a los valores al inicio. Al comparar los resultados de FRAP entre los grupos, se constató valores más altos al final en el GE con respecto al GC, este aumento no resultó ser significativo. El análisis inicial y final dentro de cada grupo, evidenció que en el GC los valores de FRAP al final, no fueron superiores que al inicio en ningún intervalo de edad; en el GE el resultado fue significativo (P=0,000) en los pacientes ≤15 años. Los resultados del análisis de la enzima GPx, al comparar el resultado final entre los grupos, se observó que no hubo diferencias significativas. Por otra parte, hubo aumento significativo (P=0,013) en los casos con edad ≤15 años del GE.

Los valores de SOD indican la acumulación del $O_2^{-\bullet}$, radical más abundante en las células que se forma en la cadena de transporte de electrones y durante la fagocitosis como bactericida, su acumulación se asocia con la peroxidación lipídica y es precursor de otros radicales más dañinos.[60, 62] El aumento significativo de la SOD después de la O_3T es importante ya que cataliza la dismutación de $O_2^{-\bullet}$ en oxígeno y H_2O_2. El aumento de la SOD por el efecto del O_3 indica que disminuyó el $O_2^{-\bullet}$ y se evitó la formación de $ONOO^{\cdot}$, radical que se forma por la reacción del $O_2^{-\bullet}$ con el $ON^{\cdot}$.

El aumento de GPx es importante en el balance redox, ya que esta enzima cataliza la reducción del H_2O_2 a agua y de los lipoperóxidos a alcoholes. [63,64] Un aumento no controlado de H_2O_2 en presencia de metales como el hierro puede dar lugar al anión hidroxilo, altamente tóxico para el organismo.[63]

Los efectos antioxidantes de la O_3T por la vía rectal se reportaron por Calunga y cols.,[169] y Borrego y cols.,[170] en modelos experimentales. Otros autores evidenciaron el efecto antioxidante al aplicar el O_3 por insuflación rectal en ensayos clínicos.[103,109,160]

El efecto antioxidante de la O_3T, se basa en la capacidad del O_3 medicinal de estimular los antioxidantes endógenos, sin ocasionar efectos dañinos. [75,87,169,171] Este mecanismo involucra la activación de cinasas y factores de transcripción que inducen la expresión de genes que codifican las enzimas antioxidantes.[75] Se demostró que el O_3 estimula al Nrf2, el que se transporta al núcleo, se une a la proteína Maf e induce la transcripción de varias enzimas, incluidas las antioxidantes, al unirse a elementos de respuesta antioxidantes en el ácido desoxirribonucleico.[99]

Varios factores de transcripción se identificaron por Bocci V. en células de la sangre periférica activadas por el O_3, tales como: Nrf2, NFAT, AP-1 y NF-kB. [75,99] Los factores de transcripción NFAT, AP-1 y NF-kB, participan en las vías de señalización intracelular para la activación de los linfocitos T y B.[9] Re L. y cols. demostraron la estimulación del Nrf2, después de administrar O_3T a individuos voluntarios sanos.[101] Otros autores aseveran que el Nrf2 es el mediador crucial de la respuesta al O_3 *in vivo* e *in vitro*, al considerarlo fundamental en la modulación de la función mitocondrial bajo condiciones de estrés para lograr mantener la homeostasis celular, ya que observaron *in vitro,* una mayor velocidad de transcripción en células tratadas con O_3 y un aumento en la expresión de genes involucrados en la respuesta al estrés.[172] Por otra parte, Niki E. y cols., estiman que la eficacia terapéutica del O_3 se basa en la inducción de un ¨eustress¨ que estimula diversas vías de defensa celulares sin causar daño.[173]

El balance redox que se obtuvo en el GE después de dos ciclos de O_3 es producto de al efecto de preacondicionamiento oxidativo[101,105] y a la respuesta biológica beneficiosa que se logra al aplicar O_3 sistémicamente en forma de insuflación rectal, al favorecer la transducción de señales, la activación factores nucleares y la estimulación de los sistemas antioxidantes, estos efectos se demostraron en otros estudios clínicos, donde predominó el estado prooxidante.[174-76]

La relevancia de este resultado es que, al aumentar las enzimas antioxidantes, impiden que los RL dañen estructuras vitales, detienen la producción de nuevas moléculas oxidantes y favorecen que las células pasen a un “ambiente reducido”; con lo cual se conserva la integridad de las membranas y las funciones específicas que, en el caso de las células del sistema inmune, es la defensa contra los microorganismos patógenos.[9,64]

La inducción de los sistemas de defensa antioxidante, es uno de los mecanismos más importantes para limitar la formación del daño oxidativo inducido por ERO y para regular su actividad biológica en varias enfermedades.[159]

4.1.5 Análisis integrado de la respuesta terapéutica

En la tabla 16 se muestra la respuesta terapéutica de los pacientes estudiados. El mayor porcentaje de pacientes del GE (66,7%) tuvo una respuesta completa, mientras que en el GC el mayor porcentaje (73,3%) se mantuvo estable, estas diferencias fueron significativas (p=0,000).

La mejor respuesta obtenida con el uso de la O_3T se asoció a un incremento de los parámetros antioxidantes (SOD, GPx, CAT) y las inmunoglobulinas (IgG e IgM) y a una

disminución significativa de los parámetros prooxidantes (MDA y PAOP), lo que argumenta el efecto beneficioso de la O_3T para la DIgA y respalda el efecto antioxidante e inmunomodulador descrito para la O_3T.

Tabla 16. Evaluación de la respuesta terapéutica según el grupo de tratamiento.

Respuesta terapéutica	Grupo de tratamiento				Total	
	Estudio		Control			
	№	%	№	%	№	%
Completa	20	66,7	0	0,0	20	33,3
Parcial	9	30,0	8	26,7	17	28,3
Enfermedad estable	1	3,3	22	73,3	23	38,3
Total	30	100,0	30	100,0	60	100,0

U de Mann-Whitney p = 0,000

Este resultado es consistente con los reportes de varios autores en investigaciones clínicas con O_3T.[17,24,97,101,102] La evidencia científica de los efectos del O_3 medicinal a nivel celular,[176,177] permiten aseverar que la O_3T favoreció la respuesta inmune adaptativa y la respuesta antioxidante endógena.

En la tabla 16 se muestra el resultado de evaluar la razón de la tasa de ocurrencia de respuesta terapéutica en los pacientes según la exposición a uno u otro tratamiento. Se constató que 29 pacientes (78,4%) de los expuestos a la O_3T tuvieron respuesta terapéutica (20 con respuesta completa y nueve con respuesta parcial), con respecto a 8 pacientes con respuesta parcial (21,6%) expuestos al Hebertrans® (p= 0,010).

Tabla 17. Razón de tasa de respuesta terapéutica por grupo de tratamiento.

Grupo	Respuesta terapéutica				Total		P[1]	RR
	Con respuesta		Sin respuesta					
	№	%	№	%	№.	%		
Estudio	29	78,4	1	4,3	30	50,0		RR: 3,625
Control	8	21,6	22	95,7	30	50,0	0,010	IC inferior: 1,995
Total	37	100,0	23	100,0	60	100,0		IC superior: 6,586

[1]Chi-cuadrado de Pearson (Corrección por continuidad de Yates)

Leyenda. RR: riesgo relativo

Lo que demuestra que la respuesta terapéutica de los pacientes que fueron expuestos al tratamiento con O_3T fue casi cuatro veces (RR= 3,625) mayor que la respuesta terapéutica de los pacientes que se expusieron al tratamiento con Hebertrans®.

4.2 Análisis de la seguridad

Los resultados de la evaluación de la seguridad evidencian que en 14 pacientes del estudio se presentaron EA, de los cuales tres casos pertenecen al GE (10%) y 11 al GC (36,6%), con diferencias significativas entre los grupos (p=0,002).

El meteorismo fue el EA que se observó en los pacientes que recibieron O_3T inmediatamente después de la IR del O_3 y en el GC eritema e inflamación en la zona de aplicación y dolor en el sitio de inyección. En todos los casos (n=14) el EA se manifestó con intensidad leve, al considerar que fue de corta duración, no interfirió con la vida habitual del paciente, no requirió hospitalización, ni tratamiento específico para su control y no fue necesario suspender el tratamiento. La presencia del EA se evaluó

hasta 6 meses después de culminar el tratamiento y no hubo reportes, los EA identificados (total 14) se presentaron durante el periodo de aplicación.

Al analizar los resultados de las pruebas de función hepática y renal en el GE (tabla18), se evidenció que los niveles de la enzima aspartato aminotransferasa se mantuvieron normales en el periodo evaluado en el 100% de los pacientes. Por otra parte la enzima alanina aminotransferasa fue alta en un paciente que presentó dengue en ese periodo, estos resultados no fueron significativos (p=0,607). La fosfatasa alcalina estaba disminuida al inicio en 14 pacientes (46,7%); luego del tratamiento al mes y 6 meses, nueve y 11 pacientes respectivamente, mantuvieron cifras por debajo de los valores normales, sin diferencias significativas (p=0,178).

Tabla 18. Evaluación de la función hepática y renal en el grupo estudio.

Parámetros		Evaluación						p
		Inicial		1 mes		6 meses		
		№	%	№	%	№	%	
Aspartato aminotransferasa (U/L)	Normal	30	100,0	30	100,0	30	100,0	-
	Aumentada	0	0,0	0	0,0	0	0,0	
Alanina aminotransferasa (U/L)	Normal	30	100,0	29	96,7	30	100,0	0,607[1]
	Aumentada	0	0,0	1	3,3	0	0,0	
Fosfatasa alcalina (U/L)	Disminuida	14	46,7	9	30,0	11	36,7	0,178[1]
	Normal	16	53,3	21	70,0	19	63,3	
Creatinina (µmol/L)	Disminuida	3	10,0	4	13,3	1	3,3	0,197[2]
	Normal	27	90,0	26	86,7	28	93,3	
	Aumentada	0	0,0	0	0,0	1	3,3	
Urea (mmol/L)	Disminuida	0	0,0	1	3,3	1	3,3	1,000[2]
	Normal	30	100,0	28	93,3	28	93,3	
	Aumentada	0	0,0	1	3,3	1	3,3	

[1]Prueba Q de Cochran [2]Prueba de Friedman

Los pacientes que tenían la creatinina baja al inicio (3 casos, 10%), normalizaron los valores a los 6 meses, excepto uno (3,3%) y se corresponden con un caso que presenta malnutrición por defecto. Los resultados de la creatinina no tuvieron diferencias significativas (p=0,197). El análisis de la urea mostró que no existieron diferencias significativas (p=1,000) (Tabla 18).

Las observaciones clínicas identificadas como EA durante la aplicación de los tratamientos, no se asociaron a modificaciones patológicas en los resultados de parámetros de laboratorio que miden función hepática y renal.

La incidencia general informada de EA para la O_3T es muy baja con 0,0007 %.[62] Estos resultados son consecuentes con ensayos preclínicos de la O_3T por la vía rectal [178] y con los reportes de Pérez Aguiar y cols., al evaluar la frecuencia de reacciones adversas de la O_3T en 6 414 casos con retinosis pigmentaria y en 28 de ellos (0,004 %) se identificaron EA.[25] Similares resultados se describen por Menéndez y cols., durante un estudio de seguimiento por un periodo de 20 años.[103] Lo que concuerda con reportes experimentales.[110,111,178] Viebhan y cols., [179] identificaron y clasificaron estudios clínicos donde se aplicó O_3T rectal, en distintas bases de datos, según los criterios de la medicina basada en evidencias. Un total de 47 000 insuflaciones del O_3 por la vía rectal en 716 pacientes, evidencian efectos beneficiosos en parámetros clínicos, farmacológicos y la ocurrencia de mínimos eventos adversos (irritación ligera y flatulencia transitoria después de la insuflación), que no influyó en el resultado de los tratamientos, por lo que se consideró un método simple y seguro para aplicar.

Los EA que se describen con el uso del Hebertrans® pueden ser intensos, graves y generales.[180.] En los pacientes del GC se reportaron EA leves y locales.

El tipo e intensidad de los eventos observados en los pacientes del estudio, evidencian que la O_3T fue bien tolerada y se obtuvo un perfil de seguridad adecuado. Los resultados encontrados en el presente estudio avalan el uso clínico de la O_3T.

4.3 Validez de los resultados

La validez interna de los resultados depende de la calidad del dato primario, para lo cual se garantizó un correcto monitoreo de datos. El carácter monocéntrico y reducido número de participantes representaron factores positivos para la calidad, condición que favorece la homogeneidad en la recopilación de los datos y poca variabilidad en la ejecución de la actividad. No hubo errores de información. La ejecución cumplió con lo establecido por las normas de Buenas Prácticas Clínicas vigentes en Cuba.[131] La validez interna determinó que el resultado sea correcto, veraz y cierto.

4.4 Conclusiones del capítulo

- Con el esquema de O_3T aplicado se obtuvo una mejor evolución clínica que con el Hebertrans® en los casos con DIgA.
- La respuesta terapéutica O_3T brindó efecto estimulante sobre los niveles séricos de IgG e IgM y estabilizó el balance redox.
- La O_3T fue bien tolerada y segura, se notificaron EA leves, relacionados con la vía de administración, no existieron modificaciones de la función hepática y renal.

5. CONCLUSIONES

Se evidenció desbalance en el metabolismo redox con predominio del estado prooxidante en los pacientes deficientes de IgA, lo que puede repercutir en la progresión y severidad de la enfermedad.

La ozonoterapia fue eficaz en los pacientes con deficiencia de inmunoglobulina A ya que mostró efecto positivo favorable en la evolución clínica, al disminuir la recurrencia de enfermedades infecciosas y el uso frecuente y prolongado de antimicrobianos.

La ozonoterapia aportó efectos inmunomoduladores al aumentar los niveles de las inmunoglobulinas G y M y estabilizó el equilibrio redox celular al estimular las defensas antioxidantes y disminuir los parámetros prooxidantes.

La ozonoterapia fue bien tolerada y segura, al notificarse un número reducido de eventos adversos leves y de corta duración y no ocasionar alteraciones en la función hepática y renal.

El esquema de tratamiento ajustado a la edad resultó beneficioso para esta inmunodeficiencia primaria

Los resultados argumentan la ozonoterapia como una opción terapéutica adicional, en el tratamiento de la deficiencia de inmunoglobulina A.

6. RECOMENDACIONES

Evaluar la influencia de la ozonoterapia por vía rectal, sobre la población de células linfoides T y B en pacientes con deficiencia de IgA.

Evaluar la influencia del estrés oxidativo y su posible participación en la patogenia en la deficiencia de IgA y en otras IDP.

Realizar estudios que profundicen la efectividad de los tratamientos antioxidantes en las inmunodeficiencias.

Extender este estudio a un número mayor de pacientes mediante ensayos multicéntricos.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1- Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, Conley ME, et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency. J Clin Immunol [Internet]. 2015 nov; 35(8): 696-726. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4659854/

2- Raje N and Dinakar C. Overview of immunodeficiency disorders. Immunol Allergy Clin North Am [Internet]. 2015 nov; 35(4): 599–623. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4600970/

3- Kobrynski L, Waltenburg PR, Bowen S. Prevalence and morbidity of primary immunodeficiency diseases, United States 2001–2007. J Clin Immunol [Internet] 2014 [citado 9 dic 2020]; 34(8): 954–61. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4820073/

4- Costa B, Gonzalez M, Espinosa S, Segundo G. Latin American Challenges with the diagnosis and treatment of primary immunodeficiency disease. Expert Rev Clin Immunol [Internet]. 2016 [citado 9 dic 2019]; 21:1-7. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/309590292_Latin_American_Challenges_with_the_Diagnosis_and_Treatment_of_Primary_Immunodeficiency_Diseases/link/5e3c5d97299bf1cdb9149e29/download

5- Macías C, et al. Registro cubano de inmunodeficiencias primarias. Rev Cubana Hematol Inmunol y Hemoterapia [Internet]. 2017 [citado 9 dic 2019]]; 33 (S1):1. Disponible en: http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/791

6- Shereen M. Reda, Dalia H. El-Ghoneimy, Hanaa M. Afifi. Clinical Predictors of Primary Immunodeficiency Diseases in Children. Allergy Asthma Immunol Res. 2013 March; 5(2): 88-95. http://dx.doi.org/10.4168/aair.2013.5.2.

7- European Society for Immunodeficiencies. Geneva: European Society for Immunodeficiencies; 2019. Registry. Diagnosis Criteria. New clinical diagnosis criteria for the ESID Registry [Internet] 2014 mar. Available from: https://discovery.ucl.ac.uk/id/eprint/10068520/1/ESID%20Clin%20Crit%20paper%20steering%20committee%20Rev1%20Jan25.19marked.pdf

8- Yel L. Selective IgA deficiency. J Clin Immunol [Internet]. 2010 [citado 9 dic 2019]; 30:10-6. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10875-009-9357-x

9- Abbas AK, Lichtman AH. Inmunología celular y molecular. 8va edición. Barcelona: Elsevier; 2015.

10- Özcan C, Metin A, Erkoçoglu M, Kocabas CN. Bronchial hyperreactivity in children with antibody deficiencies. Allergol Immunopathol [Internet]. 2015 jan-feb; 43(1): 57–61. Disponible en: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/42166947/en-revista-allergologia-et-immunopathologia-105-pdf-90376624-S300.pdf?1454710399=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DBronchial_hyperreactivity_in_children_wi.pdf&Expires=1607536399&Signature=WnAKufE~bynBzxcqR7xe0itbXQilubVlUNSEffdqpeDvk1UzFkwbI7Q83BE3ycv6s4EmBwnQ-rCLBDmCAjgyd5mX0IIwIRvnXcSfjwJ2Eecur1-W5aqztPINaUfbUwGvYNMJPsbgmNVwLkrQh8SrX4WHXglxVpdldOu0Jf6z00so5d1fqJwVeF5T5e-

LSoSmV56kN8ltzv4War99Cq411Wq3I5ihBXhlUmXzETDA94q-yM1jWMSEHCJ0aFyQO18ZxOsmc9E~Fn5UMt49~n5eNn9~dmh2usXNWkeiCZShvdqIIJve7TXSnINqiZtV7~R0WTcx52CmUlehAeD7fZnhRQ__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA

11- Singh K, Chang C, Gershwin ME. IgA deficiency and autoimmunity. Autoimmun Rev [Internet] 2014 feb [citado 18 dic 2019]; 13(2): 163–77. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/#!/content/playContent/1-s2.0-S1568997213001808?returnurl=https:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1568997213001808%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https:%2F%2Fpubmed.ncbi.nlm.nih.gov%2F

12- García JM, Santos L, Dopazo L. Diagnóstico de las inmunodeficiencias primarias. Protoc Diagn Ter Pediatr [Internet]. 2013 [citado 18 dic 2019]; 1: 81–92. Disonible en: https://www.farestaie.com.ar/img/multimedia/179-diagnostico-de-las-inmunodeficiencias-primarias.pdf

13- Ruiz J, González LI. Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de inmunodeficiencias primarias. An Pediatr Contin [Internet]. 2013 [citado 18 dic 2019]; 11(5): 282-90. Disponible en: https://continuum.aeped.es/files/articulos/desde%20laboratorio%20a%20clinica.pdf

14- Grupo de Trabajo de Inmunología Pediátrica. Guías de manejo: medidas generales de prevención de infecciones y quimioprofilaxis en las inmunodeficiencias primarias. Arch Argent Pediatr [Internet]. 2011 [citado 9 dic 2019]; 109(3): 267–73. Disponible en: https://www.sap.org.ar/docs/publicaciones/archivosarg/2011/v109n3a18.pdf

15- Tristram G, Daniel P, Abba I, John B. Inmunología Básica y Clínica. Décima edición. México.D.F: El Manual Moderno; 2002.

16- Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. Med Hypotheses [Internet]. 1996 Feb [citado 9 dic 2019]; 46(2). Disponible en: https://sd-cart.elsevier.com/?sku=SD_S030698779690016X

17- Martínez G. La ozonoterapia gana evidencia científica en el campo clínico. Rev Cubana Farm [Internet]. 2013 Abr [citado 9 dic 2019]; 47(1):1–4. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000100001&lng=es.

18- Larini A, Bocci V. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. Toxicol in Vitro [Internet]. 2005 Feb [citado 9 dic 2019]; 19(1):55–61. Disponible en: https://europepmc.org/article/med/15582356

19- Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia (AEPROMO). Declaración de Madrid sobre ozonoterapia. Madrid: AEPROMO [Internet]. 2015. Disponible en: http://files.sld.cu/rehabilitacion-fis/files/2012/06/declaracion-de-madrid-actualizada-30-julio-castellano-20102.pdf.

20- Martínez G. Biblioteca mundial sobre ozonoterapia, una herramienta para la investigación. Revista española de Ozonoterapia [Internet]. 2014 [citado 20 dic 2019]; 4(1): 73-77. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4828953.pdf.

21- Viebahn R, León OS, Fahmy Z. Ozone in Medicine: The Low-Dose Ozone Concept—Guidelines and Treatment Strategies. Ozone: Science &

Engineering: The Journal of the International Ozone Association [Internet]. 2012; 34(6): 408-424. Disponible en: https://www.austinozone.com/wp-content/uploads/Dr.-Renate-Viebahn-Guidelines-OSE-1212-published.pdf

22- Quintero MR, Schwartz A. Ozonoterapia y legislación análisis para su regularización. Revista Española de Ozonoterapia [Internet]. 2012 [citado 9 dic 2019]; 2 (1): 5-49. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3915831

23- Bocci V, Borrelli E, Corradeschi F, Valacchi G. Systemic effects after colorectal insufflation of oxygen/ozone in rabbit. Int J Med Biol Environ [Internet]. 2000 [citado 9 dic 2019]; 28:109–113. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKEwjb4IuVlsTtAhXPjFkKHTynDxgQFjAAegQIAhAC&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F4828945.pdf&usg=AOvVaw39Ebu_2fCz8V_k72-Zy4JS

24- Vaiano F, Loprete F. Large auto-hem infusion versus rectal insufflation in patients with metabolic syndrome. Ozone Therapy [Internet]. 2016 [citado 19 dic 2019]; 1(5841): 13-16. Disponible en: https://www.pagepressjournals.org/index.php/ozone/article/view/5841/5041

25- Pérez LJ, González R, Herrera M, Barrientos A, Leiva AM. Reacciones adversas de la ozonoterapia en pacientes con retinosis pigmentaria. Rev. Cubana Oftalmol [Internet] 2015 [citado 19 dic 2019]; 28 (4). Disponible en: http://www.revoftalmologia.sld.cu/index.php/oftalmologia/article/view/336/html_182

26- International Scientific Committee of Ozone Therapy. Rectal Insufflation. Version 1 [Internet]. 2017. Available from: http://isco3.org/wp-content/uploads/2017/03/ISCO3-MET-00-23-Rectal.pdf

27- Méndez I, Menéndez S, Rivero J. Ozonoterapia en SIDA. Rev Cubana Invest Biomed [Internet]. 2005 Jan–Mar [citado 9 dic 2019]; 24(1): 69–71. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v24n1/ibi09105.pdf

28- León OS, Viebahn R, Cabreja GL, Espinosa IS, Matos YH, Roche LD, et al. Medical ozone increases methotrexate clinical response and improves cellular redox balance in patients with rheumatoid arthritis. Eur J Pharmacol [Internet]. 2016 Oct; 789: 313–8. Disponible en: https://daneshyari.com/article/preview/2530853.pdf

29- Díaz J, Padrón G, Menéndez S, Macias C. Efecto inmunomodulador de la ozonoterapia en niños con deficiencia en la inmunidad mediada por fagocitos. Mediciego [Internet]. 2012 [citado 19 dic 2019]; 18(1). Disponible en: http://www.revmediciego.sld.cu/index.php/mediciego/article/view/1828

30- Formulario Nacional de Medicamentos. Intacglobín [Internet]. Habana: Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología [Internet]. 2017; [2 páginas]. Disponible en: http://fnmedicamentos.sld.cu/index.php?P=FullRecord&ID=380

31- Cruz MA, Rodríguez BN, Furones JA, Martín AD, Guerra LM, Páez AT. Patrones de prescripción del factor de transferencia en 11 hospitales de Ciudad de La Habana. Rev. Cubana Salud Pública [Internet]. 2005 Dic [citado 9 dic 2019]; 31(4): 291–5. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/rcsp/v31n4/spu04405.pdf

32- Díaz J, Parés Y, Díaz A. El impacto social y económico de la ozonoterapia en la deficiencia de inmunoglobulina A. Mediciego [Internet]. 2014; 20 (Supl.1). Disponible en: http://www.revmediciego.sld.cu/index.php/mediciego/article/view/158/1423

33- Immune Deficiency Foundation. About Primary Immunodeficiencies: What is a Primary Immunodeficiency Disease?; 2020. Available from: http://www.primaryimmune.org/about pi/about pi.htm.

34- Picard C, Bobby Gaspar H, Al-Herz W, Bousfiha A, Casanova JL, Chatila T, et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on Inborn Errors of Immunity. J Clin Immunol [Internet]. 2018 Jan [citado 18 dic 2019]; 38(1): 96-128. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5742601/

35- Fahl K, Silva C, Pastorino A, Carneiro A, Jacob C. Autoimmune diseases and autoantibodies in pediatric patients and their first-degree relatives with immunoglobulin A deficiency. Rev Bras Reumatol [Internet]. 2015 [citado 9 dic 2019]; 55 (3):197-202. Disponible en: https://www.scielo.br/pdf/rbr/v55n3/en_0482-5004-rbr-55-03-0197.pdf

36- Modell V, Quinn J, Orange J, Notarangelo LD, Modell F. Primary immunodeficiencies worldwide: an updated overview from the Jeffrey Modell Centers Global Network. Immunol Res [Internet]. 2016 [citado 5 dic 2019]; 64:736–753. Disponible en: http://link.springer.com/10.1007/s12026-016-8784-z

37- Ochs HD, Hagin D. Primary immunodeficiency disorders: general classification, new molecular in sights, and practical approach to diagnosis and treatment. Ann Allergy Asthma Immunol [Internet]. 2014 [citado 16 oct

2019]; 112 (6): 489-95. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S1081120614002543.pdf?locale=es_ES&searchIndex=

38- Macpherson AJ, Mc Coy KD. Independence Day for IgA. Immunity [Internet]. 2015 [citado 12 oct 2018]; ; 43:416. https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S107476131500357X?token=EE2DD65858B912D3CCDAFE5D2872193172F7589EC88F49D0CDE5DB4A9F32B1E49E8D35DBD9D31C82AC01A032A92F220F

39- Saha CH, Das M, Patil V, Stephen-Victor E, Sharma M, Wymann S, et al. Monomeric immunoglobulin A from plasma inhibits human Th17 response in vitro independent of FcαR and DC- Sign. Frontiers in Immunology [Internet]. 2017 [citado 19 oct 2018]; 8 (275): 1-13. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5349300/

40- Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense. Front Immunol [Internet]. 2013 [citado 20 nov 2015]; 4: 222. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3734371/

41- Litzman J, Vlková M, Pikulová Z, Štikarovská D, Lokaj J. T and B lymphocyte subpopulations and activation/differentiation markers in patients with selective IgA deficiency. Clin Exp Immunol [Internet]. 2007 [citado 10 ene 2012]; 147(2): 249-54. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1810464/

42- Soheili H, Abolhassani H, Arandi N, Khazaei HA, Shahinpour S, Hirbod-Mobarakeh A, et al. Evaluation of natural regulatory T cells in subjects with selective IgA deficiency: From senior idea to novel opportunities. Int Arch

Allergy Immunol [Internet]. 2013 [citado 20 dic 2015]; 160 (2): 208-14. Disponible en: https://www.karger.com/Article/Pdf/339867

43- Cipe FE, Doğu F, Güloğlu D, Aytekin C, Polat M, Biyikli Z, et al. B-Cell subsets in patients with transient hypogammaglobulinemia of infancy, Partial IgA deficiency, and selective IgM deficiency. J Investig Allergol Clin Immunol [Internet]. 2013 [citado 10 sept 2018]; 23(2): 94-100. Disponible en: http://www.jiaci.org/issues/vol23issue2/3.pdf

44- Nechvatalova J, Pikulova Z, Stikarovska D, Pesak S, Vlkova M, Litzman J. B lymphocyte subpopulations in patients with selective IgA deficiency. J Clin Immunol [Internet]. 2012 [citado 10 oct 2015]; 32(3): 441-8. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-012-9655-6

45- Borte S, Pan¬Hammarström Q, Liu C, Sack U, Borte M, Wagner U, et al. Interleukin-21restores immunoglobulin production ex vivo in patients with common variable immunodeficiency and selective IgA deficiency. Blood [Internet]. 2009 [citado 10 sept 2012]; 114: 4089-98. Disponible en: https://ashpublications.org/blood/article/114/19/4089/26748/Interleukin-21-restores-immunoglobulin-production

46- Freiberger T, Ravčuková B, Grodecká L, Pikulová Z, Stikarovská D, Pešák S, et al. Sequence variants of the TNFRSF13B gene in Czech CVID and IgAD patients in the context of other populations. Hum Immunol [Internet]. 2012 [citado 10 nov 2015]; 73(11): 1147-1154. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S0198885912005071.pdf?locale=es_ES&searchIndex=

47- Lucena JM, Burillo Sanz S, Núñez-Roldan A, Sánchez B. Incidence of the C104R TACI mutation in patients with primary antibody deficiency. J Invest

Allergol Clin Immunol [Internet]. 2015 [citado 10 sept 2018]; 25(5): 379–38. Disponible en: http://www.jiaci.org/issues/vol25issue5/7-16.pdf

48- Cheraghi T, Aghamohammadi A, Mirminachi B, Keihanian T, Hedayat E, Abolhassani H, et al. Prediction of the evolution of common variable immunodeficiency: HLA typing for patients with selective IgA deficiency. J Invest Allergol Clin Immunol [Internet]. 2014 [citado 18 nov 2016]; 24 (3):198–200. Disponible en: http://www.jiaci.org/issues/vol24issue3/7-15.pdf

49- Rojas DS, Bastidas DK, Sierra L, Aguilar AL. Importancia del déficit selectivo de inmunoglobulina A. Semergen [Internet]. 2014 [citado 8 dic 2016]; 40(3): 65-8. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S1138359313000245.pdf?locale=es_ES&searchIndex=

50- Jorgensen GH, Gardulf A, Sigurdsson MI. Clinical Symptoms in Adults with Selective IgA Deficiency: A Case-Control Study. J Clin Immunol [Internet]. 2013 [citado 19 nov 2016]; 33(4): 742-7. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s10875-012-9858-x

51- Aytekin C, Tuygun N, Gokee S, Dogu F, Ikinciogullari A. Selective IgA Deficiency: Clinical and Laboratory Features of 118 Children in Turkey. J Clin Immunol [Internet]. 2012 [citado 8 nov 2015]; 32(5): 961-6. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10875-012-9702-3

52- Urm SH, Yun HD, Fenta YA, Yoo KH, Abraham RS, Hagan J, et al. Asthma and Risk of Selective IgA Deficiency or Common Variable Immunodeficiency: A Population-Based Case-Control Study. Mayo Clin Proc [Internet]. 2013 [citado 10 sept 2018]; 88(8): 813-21. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3753684/

53- Wang N, Hammarström L. IgA deficiency: what is new? Curr Opin Allergy Clin Immunol [Internet]. 2012 [citado 10 sept 2018]; 12(6): 602–608. Disponible en: https://journals.lww.com/co-allergy/Fulltext/2012/12000/IgA_deficiency___what_is_new_.6.aspx

54- Early-onset autoimmunity and primary immunodeficiencies. Frontiers in Immunology [Internet]. 2015 april [citado 10 sept 2018]; 6 (185): 7 pages. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4419659/

55- Errante PR, Perazzio SF, Frazão JB, da Silva NP, Andrade LE. Primary immunodeficiency association with systemic lupus erythematous: review of literature and lessons learned by the Rheumatology Division of a tertiary university hospital at São Paulo, Brazil. Rev Bras Reumatol [Internet]. 2016 [citado 9 dic 2019]; 56 (1): 58-68. Disponible en: https://www.scielo.br/pdf/rbr/v56n1/en_0482-5004-rbr-56-01-0058.pdf

56- Bonilla FA, Khan DA, Ballas ZK, Chinen J, Frank MM, Hsu JT, et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. J Allergy Clin Immunol [Internet]. 2015 nov [citado 10 sept 2018]; 136 (5):1186-205. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/#!/content/playContent/1-s2.0-S0091674915008830?returnurl=https:%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0091674915008830%3Fshowall%3Dtrue&referrer=https:%2F%2Fpubmed.ncbi.nlm.nih.gov%2F

57- Salem NA, Assaf N, Ismail MF, Khadrawy YA, Samy M. Ozone Therapy in Ethidium Bromide-Induced Demyelination in Rats: Possible Protective Effect. Cell Mol Neurobiol [Internet]. 2016 Aug [citado 10 sept 2018]; 36(6): 943-954.

Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10571-015-0279-2

58- Rafael R. Evolución del concepto de Estrés Oxidativo. An Facultad Med (Univ Repúb Urug) [Internet]. 2014 [citado 10 sept 2018]; 1(2): 9-22. Disponible en: http://www.anfamed.edu.uy/index.php/rev/article/view/114/43

59- Valacchi G, Bocci V. Free Radicals and Antioxidants: How to Reestablish Redox Homeostasis in Chronic Diseases?. Current Medicinal Chemistry. 2013 [citado 10 sept 2018]; 20 (27): 3397-3415. Disponible en: https://www.eurekaselect.com/113499/article

60- Gutiérrez H, Patricia E. Estrés oxidativo y su impacto en la salud. Investigación y Ciencia [Internet]. 2014 [citado 10 sept 2018]; 22(61): 65-6. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/674/67431579010.pdf

61- Reuter S, Gupta S, Chaturredi M, Aggarwal B. Oxidative stress, inflamat and cancer: how are they mixed? Free Radic Biol Med [Intermet]. 2010 [citado 10 sept 2018]; 9(11): 1603-1616. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2990475/

62- Romero Á, Amores L. El envejecimiento oxidativo inflamatorio: una nueva teoría con implicaciones prácticas. Medisur [Internet]. 2016 [citado 10 sept 2018]; 14(5): [aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v14n5/ms17514.pdf

63- Sánchez V, Méndez N. Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. Rev Invest Med Sur Mex [Internet]. 2013 Jul–Sep [citado 10 sept 2018]; 20(3): 161-8. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/medsur/ms-2013/ms133e.pdf

64- Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr [Internet]. 2015 [citado 10 sept 2018]; 42(2): 206-2011. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf

65- Riverón G, Lemus G, Lantigua AP, Marcos L, Bataille A, Martínez O. Daño oxidativo y respuesta antioxidante en pacientes con ataxia–telangiectasia (estudio de casos y controles). Rev Cubana Neurol Neurocir [Internet]. 2014; 4(1):1-6. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubneuro/cnn-2014/cnn141a.pdf

66- Pomier O, Gil L, Rodríguez F, Huetes L, González A, Bermúdez Y, et al. Indicadores del estrés oxidativo en pacientes afectados por VIH/SIDA con manifestaciones reumatológicas. Rev. Cubana Farm [Internet]. 2012 [citado 5 dic 2019; 46(3): [aprox. 8 p.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/far/v46n3/far06312.pdf

67- Maciejczyk M, Mikoluc B, Pietrucha B, Heropolitanska E, Pac M, Motkowski R, et al. Oxidative stress mitocondrial abnormalities and antioxidant defense in Ataxia-Telangiectasia, Bloom Syndrome and Nijmegen breakage syndrome. Redox Biol [Internet]. 2017 Apr [citado 5 dic 2019]; 11: 375-383. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5219618/

68- Schwartz A, Martínez G. La ozonoterapia y su fundamentación científica. Revista Española de Ozonoterapia. 2012 [citado 5 dic 2019]; 2(1): 163-198.

69- Comité científico asesor de la Federación Mundial de Ozonoterapia (WOFT). Revisión WOFT sobre ozonoterapia basada en evidencia [Internet] 2015. Avaliable from: http://www.wfoot.org/wp-content/uploads/2016/01/WFOT-OZONE-2015-ESP.pdf

70- Menéndez S, González R, Ladea OE, León OS, Hernández F y Díaz M. Ozonoterapia: aspectos básicos y aplicaciones clínicas. La Habana: CENIC; 2008.

71- Schwartz A. Hacia un enfoque unificado para la práctica de la ozonoterapia en el mundo. Revista Española de Ozonoterapia [Internet]. 2015 [citado 5 dic 2019]; 5(1): 1-1. Disponible en: http://www.revistaespañoladeozonoterapia.es/index.php/reo/article/view/64

72- Viebahn R. The use of ozone in medicine. 5th ed. Germany: ODREI; 2007.

73- Bocci V, Zanardi L, Travagli V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. Med Gas Res [Internet]. 2011[citado 5 dic 2019]; 1: 6 Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231820/pdf/2045-9912-1-6.pdf

74- Travagli V, Zanardi I, Silvietti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. Int J Biol Macromol [Internet]. 2007 [citado 5 dic 2019]; 41 (5): 504-511. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813007001675?via%3Dihub

75- Suzuki T, Kawaguchi A, Ainai A, Tamura S, Ito R, Multihartina P, et al. Relationship of the quaternary structure of human secretory IgA to neutralization of influenza virus. Proc Natl Acad Sci USA. 2015 [citado 5 dic 2019]; 112(25): 7809-14. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4485102/pdf/pnas.201503885.pdf

76- Sagai M, Bocci V. Mechanism of action involved in ozone therapy. Is healing induced via a mild oxidative stress?. Med Gas Res [Internet]. 2011[citado 5 dic 2019]; 1: 1-29. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3298518/pdf/2045-9912-1-29.pdf

77- Re L. Mechanisms of action, recent literature and newly discovered biochemical pathways. Journal Ozone Therapy [Internet]. 2018 [citado 5 dic 2019]; 2(2). Disponible en: https://roderic.uv.es/bitstream/handle/10550/67137/6442350.pdf?sequence=1&isAllowed=y

78- Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Has oxygen-ozone therapy a future in medicine? Journal of Experimental and Integrative Medicine [Internet] 2011[citado 5 dic 2019]; 1(1): 5-11. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/289248962_Has_oxygen-ozonetherapy_a_future_in_medicine

79- Hernández F. ¿To what extend does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidative stress. Arch Med Res [Internet]. 2007 [citado 5 dic 2019]; 38(5): 571-78. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S0188440907001166.pdf?locale=es_ES&searchIndex=

80- Zanardi I, Borrelli E, Valacchi G, Travagli V, Bocci V. Ozone: a multifaceted molecule with unexpected therapeutic activity. Curr Med Chem. 2016 [citado 5 dic 2019] ; 23: 304-14.

81- Bocci V, Luzz E, Corradeshi F, Silvestri S. Studies on the biological effects of ozone 5. Production of transforming growth factor B1 by human blood after

ozone treatment. J Biol Regulat Homeost. Agent. 1994 [citado 12 oct 2018]; 8: 108-12. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7660851/

82- Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leukocytes. Haematologica. 1990 [citado 12 oct 2018]; 75: 510–515. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2129118/

83- Kucuksezer UC, Zekiroglu E, Kasapoglu P, Adin-Cinar S, Aktas-Cetin E, Deniz G. A stimulatory role of ozone exposure on human natural killer cells. Immunol Invest [Internet]. 2014 [citado 12 oct 2018]; 43(1): 1-12. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/08820139.2013.810240

84- Volkhovskaya NB, Tkachenko SB, Belopolsky AA. Modulation of phagocytic activity of blood polynuclear leukocytes with ozonized physiological saline. Bull Exp Biol Med [Internet]. 2008 [citado 12 oct 2018]; 146(5): 559–561. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s10517-009-0340-6

85- Paul Wentworth P, McDunn J, Wentworth A, Takeuchi C, Nieva J, Jones T, et al. Evidence for Antibody-Catalyzed Ozone Formation in Bacterial Killing and Inflammation. Science [Internet]. 2002 [citado 12 oct 2018]; 298: 2195-2199. Disponible en: https://science.sciencemag.org/content/298/5601/2195.long

86- Smith NL, Wilson AL, Gandhi J, Vatsia S, Khan SA. Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. Med Gas Res [Internet]. 2017 [citado 12 oct 2018]; 7(3): 212-219. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5674660/

87- Bocci V, Valacchi CA, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: Effects on the total antioxidant status and on

interleukin-8 production. Mediators of Inflammation [Internet]. 1998 [citado 12 oct 2018]; 7: 313–317. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1781866/pdf/9883965.pdf

88- Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. Mediators of Inflammation [Internet]. 2004 [citado 12 oct 2018]; 13(1): 3-11. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1781533/pdf/15203558.pdf

89- Rakovsky S, Zaikov G. Application of ozone in medicine. Chemistry & Chemical technology [Internet]. 2009; 3(3): 237-248. Disponible en: http://science2016.lp.edu.ua/sites/default/files/Full_text_of_%20papers/full_text_259.pdf

90- Méndez CH. Efectos del ozono en un modelo experimental de fibrosis pulmonar inducida con bleomicina. [Tesis]. España: Universidad de las Palmas Gran Canarias; 2015. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=154491

91- García GM. Estudio de las enfermedades autoinmunes sistémicas y reumatológicas. [Tesis]. España: Universidad Autónoma de Barcelona; 2014. Disponible en: https://core.ac.uk/download/pdf/132089036.pdf

92- Molinari F, Rimini D, Liboni W, Acharya UR, Franzini M, Pandolfi S, et al. Cerebrovascular pattern improved by ozone autohemotherapy: an entropy-based study on multiple sclerosis patients. Med Biol Eng Comput [Internet]. 2017 Aug [citado 12 oct 2018]; 55(8): 1163-1175. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11517-016-1580-z

93- Li L, Zhang Q, Hou S. Effect of ozone therapy on T-lymphocyte subsets, NK cell in the patients with lymphoma]. J Shanxi Med Univ [Internet].

2007[citado 21 Feb 2017]; (3): [aprox. 3 p.]. Disponible en: http://amozon.org.mx/index.php/blog/66-hematologia/518-effect-of-ozone-therapy-on-t-lymphocyte-subsets-nk-cell-in-the-patients-with-lymphoma

94- Mokhammed D, Khaldin AA, Kosheleva IV. Immunomodulatory effect of ozone therapy and interferonogens in dermatological practice. Ross Zh Kozhn Vener Boleznei [Internet]. 2007 [citado 21 Feb 2017]; (4). Disponible en: http://198.57.189.121/index.php/archives/2-uncategorised/648-immunomodulatory-effect-of-ozone-therapy-and-interferonogens-in-dermatological-practice

95- Carpendale MT, Freeberg J, Griffiss JM. Does ozone alleviate AIDS diarrhea? J Clin Gastroenterol [Internet]. 1993 [citado 21 Feb 2017]; 17(2): [aprox. 3 p.]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8409316/

96- Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia (AEPROMO). 2015; [aprox. 5 p.]. Disponible en: http://www.aepromo.org/index.php

97- Hernandez FA, Calunga JL, Turrent J, Menéndez S, Montenegro A. Ozone therapy effects on biomarkers and lung function in asthma. Arch. Med [Internet]. Res. 2005 [citado 21 Feb 2017]; 36: 549–554. Disponible en: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0188-4409(05)00246-8

98- Menéndez S, León OS, Fernández JL, Copello M, Weiser MT. Advances of Ozone Therapy in Medicine and Dentistry. La Habana: Palacio de las Convenciones; 2016.

99- Bocci V, Valacchi G. Nrf2 activation as target to implement therapeutic treatments. Cellular Biochemistry [Internet]. 2015 [citado 21 Feb 2017]; 3:1-6. Disponible en:

https://www.researchgate.net/publication/272426400_Nrf2_activation_as_target_to_implement_therapeutic_treatments

100- Pecorelli A, Bocci V, Acquaviva A, Belmonte G, Gardi C, Virgili F, et al. Nrf2 activation is involved in ozonized human serum up regulation of HO-1 in endothelial cells. Toxicol Appl Pharmacol [Internet]. 2013 Feb [citado 21 Feb 2017]; 267(1):30-40. Disponible en: https://www.aepromo.org/curso_dolor_oct18/2013_Bocci-Nrf2.pdf

101- Re L, Martínez G, Bordicchia M, Malcangi G, Pocognoli A, Morales MA, et al. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. European Journal of Pharmacology [Internet]. 2014 [citado 21 Feb 2017]; 742: 158-162. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0014299914006347

102- Calunga JL, Paz Y, Menéndez S, Martinez A, Hernández F. Rectal ozone therapy for patients with pulmonary emphysema. Rev. Med. Chile [Internet]. 2011 [citado 21 Feb 2017]; 139: 439-447. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v139n4/art04.pdf

103- Copello M, Menéndez S, Hernández F. Ozone therapy in retinitis pigmentosa patients: clinical evolution and oxidative stress behavior in retinitis pigmentosa patients treated with ozone therapy over 20 years. Ozone Science & Engineering [Internet] 2012 [citado 21 Feb 2017]; 34: 476–483. Disponible en: http://maint.tandfonline.com/

104- Peralta C, León OS, Xaus C. Protective effect of ozone treatment on the injury associated with hepatic ischemia reperfusion: antioxidant-prooxidant balance. Free Radic Res [Internet]. 1999 [citado 21 Feb 2017]; 31 (3): 191-196. Disponible en: https://doi.org/10.1080/10715769900300741

105- León OS, Menéndez S, Merino N, et al. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. Mediators Inflamm [Internet]. 1998 [citado 21 Feb 2017]; 7 (4): 289-294. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1781855/pdf/9792340.pdf

106- Vidal SS, Hermosilla GT. Efectividad clínica de las intervenciones con ozono. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias de Andalucía; Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo, 2008. Disponible en: https://www.aetsa.org/download/publicaciones/antiguas/AETSA_2006-27_Ozonoterapia.pdf

107- Borroto V, Abreu D, Rodríguez N, Prieto I.L, Álvarez N. Efectividad de la ozonoterapia en el tratamiento del dolor por hernia de disco intervertebral. Rev. Chil. Neurocirugía 2019 [citado 20 jul 2020]; 45: 8-19. Disponible en: https://www.neurocirugiachile.org/pdfrevista/v45_n1_2019/borroto_p8_v45n1_2019.pdf

108- Centro Cochrane de Brasil. Ozonoterapia en el tratamiento del dolor lumbar. Revisión sistemática de la literatura; 2013 [citado 20 jul 2020]. Disponible en: https://www.seot.es/sites/default/files/Documentos-Divulgacion/Revision%20Cochrane%20ESP.pdf

109- Martinez G, Re L. Rectal administration and its application in ozone therapy. International Journal of Ozone Therapy [Internet]. 2012 [citado 20 jul 2020]; 11: 41-9. Disponible en: https://www.scielosp.org/article/medicc/2018.v20n1/29-35/

110- Guanche D, Zamora Z, Hernández F, Mena K, Alonso Y, Roda M, et al. Effect of ozone/oxygen mixture on systemic oxidative stress and organic damage. Toxicol. Mech. Methods [Internet]. 2010 [citado 20 jul 2020]; 20: 25-

30. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/15376510903503107?journalCode=itxm20

111- Díaz S, González Y, Mesa J.E, Martínez G. Induction of DNA primary damage in peripheral blood leukocytes and exfoliated colorectal epithelial cells in rats treated with O_3/O_2 mix. International of Journal Ozone Therapy. 2009 [citado 10 sept 2019]; 8: 217–221. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/274083069

112- Hooper L, Littman D, Macpherson A. Interactions between the microbiota and the immune system. Science [Internet]. 2012 [citado 10 sept 2019]; 336(6086): 1268–1273. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4420145/

113- Salem N, Assaf N, Ismail MF, Khadrawy YA, Samy M. Ozone Therapy in ethidium bromide-induced demyelination in rats: posible protective effect. Cell Mol Neurobiol [Internet]. 2015 [citado 20 jul 2020]; 14. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s10571-015-0279-2

114- Basanta D, Zamora Z, Martínez Y, Campos E, Gámez M, Rodríguez V, et al. Efecto del pre condicionamiento oxidativo con Ozono en el daño intestinal inducido por isquemia/reperfusión en ratas. Revista CENIC. Ciencias Biológicas [Internet]. 2010 [citado 20 jul 2020].; 41:1-13. Disponible en: https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220509057.pdf

115- Mallok A, Vaillant JD, Soto MT, Viebahn R, Viart ML, Pérez AF, et al. Ozone protective effects against PTZ-induced generalized seizures are mediated by reestablishment of cellular redox balance and A1 adenosine receptors. Neurological Research [Internet] 2015 [citado 9 dic 2019]; 37 (3):

204-10. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/1743132814Y.0000000445?journalCode=yner20

116- Kliegeman RM. Tratado de Pediatría. 20ed. Barcelona: Elsevier Castellano; 2016.

117- Suardíaz J, Cruz C, Colina A. Laboratorio Clínico. 1ra edición. La Habana: Ciencias Médicas; 2004.

118- Montes N. Técnicas de inmunodiagnóstico. Madrid: Ed. SÍNTESIS SA; 2018. https://www.sintesis.com/data/indices/9788491711452.pdf

119- Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). De las Buenas Prácticas para Laboratorio de Control de Medicamentos. Validación de Métodos Analíticos. Regulación No. 37-2012. La Habana: CECMED [Internet] 2014. Disponible en: www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/.../validacion_de_metodos_analiticos.pdf

120- Ochoa RF. Técnicas inmunoenzimáticas en el desarrollo clínico de vacunas. La Habana: Finlay Ediciones; 2013. Disponible en: https://www.paho.org/cub/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=casas-editoriales&alias=742-pubfinlay-librotecinmunoparaeclinvacunas2012&Itemid=226

121- Vives J, Aguilar J. Manual de Técnicas de Laboratorio de Hematología. 4th edición. Barcelona: Elsevier Masson; 2014.

122- Marsán V, del Valle L, Díaz G, Macías C. Metodología y Aplicación de la citometría de flujo para el inmunofenotipaje de la leucemia aguda. Rev. Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2015 [citado 9

dic 2019]; 31(3). Disponible en: http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/313/183

123- BIOPROCESS Online. Pittsburg: BIOPREOCESS Online; 1996-2017. Product/Service. Bioxytech LPO-586. Colorimetric assay for lipid peroxidation markers. OXIS International [Internet]. 1997; [about 1 screen]. Disponible en: https://www.bioprocessonline.com/doc/bioxytech-lpo-586-colorimetric-assay-for-lipi-0001

124- Witko V, Friendlander M, Nguyen T, Capeillère C, Nguyen AT, Canteloup S. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocytes activation in chronic renal failure. J Immunol. 1998 Sep 1 [citado 9 dic 2019]; 161(5):2524-32. Disponible en: https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/1354750X.2012.690103?needAccess=true

125- Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1974 Sep 16; 47 (3):469–74. Disponible en: https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x

126- Aebi H. Catalase in vitro. Methods Enzymol [Internet]. 1984; 105:121–6. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687984050163

127- Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967 Jul; 70 (1):158–69.

128- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. Anal Biochem. 1996 Jul 15; 239 (1):70–6.

129- Formulario Nacional de Medicamentos. Factor de Transferencia. Habana: Centro para el Desarrollo de la Farmacoepidemiología; 2017. Español.

130- Centro para el Control Estatal de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. Ministerio de Salud Pública de Cuba. Regulación No. 45-2007. Requerimientos para la notificación y el reporte de eventos adversos graves e inesperados en los ensayos clínicos. 2007. Disponible en: http://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/reg_45-7_requerimientos_para_la_notificacion_y_el_reporte_de_eventos_adversos_ graves_e_inesperados_en_los_ensayos_clinicos_0.pdf. Español.

131- Comité de Seguridad Farmacéutica del Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos (CECMED). Directrices sobre buenas prácticas clínicas en Cuba. 2000. Disponible en**:** http://www.cecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Dir_BPC.pdf. Español.

132- World Medical Association. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Junio 1964 [Internet]. Ferney-Voltaire: World Medical Association; 2017 Mar 21. Available from: https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/

133- Bezrodnik L, Di Giovanni D, Ginaca A, Krasovec S, Menard D, Carabajal P, et al. Evaluación clínica e inmunológica de 90 pacientes con deficiencia

selectiva de inmunoglobulina A. Arch Argent Pediatr [Internet]. 2003 [citado 9 dic 2019]; 101(5): 375–81. Disponible en: https://www.sap.org.ar/docs/archivos/2003/arch03_5/375-381.pdf

134- Weber D, Kotanko P, Hauer AC, Goriup U, Haas J, Lanner N, et al. Gender, age and seasonal effects on IgA deficiency: a study of 7 293 Caucasians. Eur J Clin Invest [Internet]. 2004 mar; 34(3):224-8. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1365-2362.2004.01311.x

135- Urbonas V, Sadauskaite J, Cerkauskiene R, Kaminskas A, Mäki M, Kurppa K. Population-based screening for selective immunoglobulin A (IgA) deficiency in Lithuanian children using a rapid antibody-based fingertip test. Med Sci Monit [Internet]. 2016 [citado 9 dic 2019]; 22: 4773-4778. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5144930/pdf/medscimonit-22-4773.pdf

136- Stiehm E. Approach to child with recurrent infections. Uptodatel [Internet]. 2011 [citado 9 dic 2019]. Disponible en: https://somepomed.org/articulos/contents/mobipreview.htm?20/25/20881?source=see_link&anchor=H23

137- Martín Y, Jiménez R, Suárez A, Berghezan A, Morillo B, Morales D. Niño con infecciones de repetición. noviembre de 2016. Disponible en: https://www.aepap.org/sites/default/files/documento/archivos-adjuntos/nino_con_inf_frecuentes_0.pdf

138- Corthésy B. Multi-faceted functions of secretory IgA at mucosal surfaces. Frontiers in Immunology [Internet]. 2013 [citado 9 dic 2019]; 185:1-11.

Disponible en: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2013.00185/full

139- Domínguez O, Giner MT, Alsina L, Martín MA, Lozano J, Plaza AM. Fenotipos clínicos asociados a la deficiencia selectiva de IgA: revisión de 330 casos y propuesta de un protocolo de seguimiento. An Pediatr [Intertnet]. 2012 [citado 9 dic 2019]; 76(5): 261–7. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1695403311005522

140- De Oliveira FA, Mosca T, Santos MC, Carvalho W. Manifestaciones clínicas de la deficiencia de IgA. Rev Alerg Mex [Internet]. 2017 [citado 9 dic 2019]; 64 (1): 34–9. Disponible en: https://www.redalyc.org/jatsRepo/4867/486755082005/486755082005.pdf

141- Peterson C.T, Sharma V., Elmén L., Peterson SN. Immune homeostasis, dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. Clinical and Experimental Immunology. 2014 [citado 9 dic 2019]; 179: 363–377. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/cei.12474

142- Blasco L. Microbiota intestinal: el impacto de los hongos en diversas patologías. [Tesis]. España: Universidad Complutense; 2020. Disponible en: http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/LIDIA%20BLASCO%20CORCHADO.pdf

143- Morgun A, Dzutsev A, Dong X, Greer RL, Sexton DJ, Ravel J, et al. Uncovering effects of antibiotics on the host and microbiota using transkingdom gene networks. Gut [Internet]. 2015 Nov [citado 9 dic 2019]; 64(11): 1732-43. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5166700/pdf/nihms832611.pdf

144- Abolhassani H, Gharib B, Shahinpour S. Autoimmunity in patients with Selective IgA Deficiency. J Investig Allergol Clin Immunol [Internet]. 2015 [citado 9 dic 2019]; 25(2): 112-9. Disponible en: http://www.jiaci.org/issues/vol25issue2/4.pdf

145- Inclán G, Bernal B, Paradoja M, Arce AA, Villaescusa R, Macías C. Respuesta clínica e inmunológica en pacientes con déficit de IgA después del tratamiento con factor de transferencia. Rev Cub Hematol Inmunol y Hemoterapia. 1994; 10(1-2): 80-81.

146- Janzi M, Kull I, Sjöberg R. Selective IgA deficiency in early life: Association to infections and allergic diseases during childhood. Clin Immunol [Internet]. 2009 [citado 9 dic 2019]; 133(1):78-85. Disponible en: https://www.clinicalkey.es/service/content/pdf/watermarked/1-s2.0-S1521661609006950.pdf?locale=es_ES&searchIndex=

147- Lourenço DB, Munhoz DC, Bariani DB, Zanini KM, Menezes MC, Mosca T, et al. Prevalência de rinite alérgica em deficiência de IgA. Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo. 2012 [citado 9 dic 2019]; 57(2): 63-6. Disponible en: https://www.rquivosmedicos.fcmsantacasasp.edu.br

148- Kim W, Choi I, Kim Ch, Lee J, Kang H. Relación entre el nivel de IgA sérica y la alergia/asma. Korean J Intern Med. 2017 [citado 9 dic 2019]; 32 (1): 137-145. Disponible en: https://www.e-sciencecentral.org

149- Martínez I, Ferreiro O, Mouriz N, Gómez MA. Déficit selectivo de IgA e Inmunodeficiencia común variable: Reporte de cinco casos. Inmunología [Internet]. 2010 Abril-Junio [citado 5 dic 2016]; 29(2): 66-73. Disponible en: https://www.elsevier.es/es-revista-inmunologia-322-pdf-S0213962610700123

150- Aghamohammadi A, Abolhassani H, Biglari M, Abolmaali S, Moazzami K, Tabatabaeiyan M, et al. Analysis of switched memory B cells in patients with IgA deficiency. Int Arch Allergy Immunol [Internet]. 2011[citado 5 dic 2016];156 (4):462-8. Disponible en: https://www.elsevier.es/es-revista-inmunologia-322-pdf-S0213962610700123

151- Torrens M. Hematología Práctica: interpretación clínica del hemograma y las pruebas de coagulación. Rev. Med. Clin. Condes [Internet]. 2015 [citado 5 dic 2016]; 26(6): 713-725. Disponible en: http://www.enfermeriaaps.com/portal/wp-content/uploads/2016/04/interpretacion-clinica-del-hemograma.pdf

152- Huerta J, Cela de J. Hematología práctica: interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. En: aepap (ed.). Curso de Actualización Pediatría 2018. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2018. 507-526. Disponible en: http://www.aepap.org/sites/default/files/507-526_hematologia_practica.pdf

153- Brito F, Yamazaki M, Espinosa S, Vázquez O, Huerta J, Barrón R. Eosinófilos: revisión de la literatura. Alergia Asma e Inmunología Pediátrica [Internet]. 2003 [citado 5 dic 2016]; 12(2): 56-69. Disponible en: https://www.medigraphic.com/pdfs/alergia/al-2003/al032d.pdf

154- Martinez L, Mastandrea C, Benavente E, Roverano S, Paira S, Poletta G, et al. Evaluación de estrés oxidativo en pacientes con lupus eritematoso sistémico y su posible relación con la exposición ambiental a agroquímicos. Acta Toxicol. Argent [Internet]. 2016 [citado 5 dic 2016]; 24 (1): 10-20. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/59869/CONICET_Digital_Nr

o.913b4656-7d0b-479f-a7cd-674f16eb3360_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

155- Elejalde G. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An. Med. Interna [Internet]. 2001 [citado 5 dic 2016]; 18 (6). Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.pdf

156- Rodríguez T, Peña M, Gómez N, Santisteban Y, Hernández M. Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. CCM. 2015 [citado 5 dic 2016]; 19 (4): aprox 3 pág. Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/ccm/v19n4/ccm09415.pdf

157- Leusen J. IgA as therapeutic antibody. Molecular Immunology [Internet]. 2015 [citado 5 dic 2016]; 68:35-9. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0161589015300687

158- Fernández C, Roxo JP, Marina SC, Juan CAB, Felipe MB, Deysi LAF, et al. Phenotypic IgA Defeat (SIgAD) or Probably (PIgAD) and Related Diseases Associations during 4 years of Research in Latin-American Kids. J Clin Immunol Res. 2018 [citado 10 sept 2019]; 1(1): 1-12. Disponible en: https://www.scitechnol.com/peer-review/phenotypic-iga-deficit-sigad-or-probably-pigad-and-related-diseases-associations-during-4-years-of-research-in-latinamerican-kids-TaqP.php?article_id=7828

159- Smith A, Oertle J, Warren D, Prato D. Ozone Therapy: A Critical Physiological and Diverse Clinical Evaluation with Regard to Immune Modulation, Anti-Infectious Properties, Anti-Cancer Potential, and Impact on Anti-Oxidant Enzymes [Internet]. Open Journal of Molecular and Integrative Physiology. 2015 [citado 10 sept 2019]; 5: 37-48. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/285216860_Ozone_Therapy_A_Cr

itical_Physiological_and_Diverse_Clinical_Evaluation_with_Regard_to_Immune_Modulation_Anti-Infectious_Properties_Anti-Cancer_Potential_and_Impact_on_Anti-Oxidant_Enzymes

160- Álvarez H, Carretero J, Arpajón Y, Gálvez JR, Reynaldo D, Jay V. Beneficios de la intervención con ozonoterapia en pacientes con pie diabético neuroinfeccioso. Rev Cubana Angiol Cir Vasc [Internet]. 2014 [citado 10 sept 2019]; 15 (1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/pdf/ang/v15n1/ang03114.pdf

161- Nogales CG, Beloti M, Lage JL. Comparison of the antimicrobial activity of three different concentrations of aqueous ozone on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Enterococcus faecalis* in vitro study. Revista Española de Ozonoterapia [Internet]. 2014 [citado 10 sept 2019]; 4 (1): 9-15. Disponible en: https://ozoneintegrale.com.br/wp-content/uploads/2020/10/Comparison-of-three-different-concentrations-of-ozonated-water.pdf

162- Díaz J, Macías C, Menéndez S. Efecto modulador de la ozonoterapia sobre la actividad del sistema inmune. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia [Internet]. 2013 [citado 10 sept 2019]; 29(2): [aprox. 29 p.]. Disponible en: http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/27/47

163- Noris E, Dorta A, Noris JL. Evaluación inmunológica y tratamiento en pacientes pediátricos con déficit de IgA. Alergol Immunol Clin [Internet]. 2002 [citado 10 sept 2019]; 17: 180-184. Disponible en: http://revista.seaic.org/junio2002/180-184.pdf

164- Aguilar C. Prevention of Infections during primary immunodeficiency. Immunocompromised Hosts [Internet]. 2014 [citado 10 sept 2019]; Sept: 1-9. Disponible en: https://academic.oup.com/cid/article/59/10/1462/2895620

165- Mandzhgaladze NR, Kharebava ER, Didia TG, Ardzhevanishvili MD, Gudzhabidze MV, Chigiashvili TN. Influence of intravenous ozone treatment on the level of different specificity antibodies. Georgian Med News [Internet]. 2006 [citado 10 sept 2019]; (138): [aprox. 3 p.]. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17057311/

166- Kontorschikova E, Kachalina T, Yanchenko O, Kotelnikova T. Ozone therapy in treatment of oncological patients. Revista Española de Ozonoterapia [Internet]. 2017 [citado 10 sept 2019]; 1(7): 39-50. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5985912

167- Boyuklu M, Kandemir FM, Set T, Bakirci EM, Degimanci H, Hamur H, et al. Beneficial effects of ozone therapy on oxidative stress, cardiac functions and clinical findings in patients with heart failure reduced ejection fraction. Cardiovasc Toxicol [Internet]. 2017 [citado 10 sept 2019]; 17(4): 426-433. Disponible en: https://link.springer.com/article/10.1007/s12012-017-9400-8

168- Kontorschikova C, Efremenko J, Koroleva E, Vedunova M.The use of ozone for metabolic disorders correction in patients with metabolic disorder. Revista Española de Ozonoterapia 2017 [citado 10 sept 2019]; 7(1): 51 -57. Disponible en: http://www.revistaespañoladeozonoterapia.es

169- Calunga JL, Trujillo Y, Menéndez S, Zamora Z, Alonso Y, Merino N, et al. Ozone oxidative post-conditioning in acute renal failure. Journal of Pharmacy and Pharmacology [Internet]. 2009 [citado 10 sept 2019]; 61: 1–7. Disponible en: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1211/jpp.61.02.0012

170- Borrego A, Zamora ZB, González R, Romay C, Menéndez S, Hernández F, et al. Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats, Mediators Inflamm [Internet]. 2004 feb [citado 10 sept 2019]; 13 (1):13–19. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1781537/pdf/15203559.pdf

171- Sies H. Hydrogen peroxide as a central redox signaling molecule in physiological oxidative stress: Oxidative eustress. Redox Biol [Internet]. 2017 [citado 10 sept 2019]; 11: 613-19. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5256672/pdf/main.pdf

172- Galiè M, Costanzo M, Nodari A, Boschi F, Calderan L, Mannucci S, et al. Mild ozonisation activates antioxidant cell response by the Keap1/Nrf2 dependent pathway. Free Radic Biol Med [Internet]. 2018 Aug [citado 10 sept 2019]; 20 (124): 114-121. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0891584918309766?via%3Dihub

173- Niki E. Oxidative stress and antioxidants: Distress or eustress? Arch Biochem Biophys [Internet]. 2016 [citado 10 sept 2019]; 595: 9-24. Disponible en: https://coek.info/pdf-oxidative-stress-and-antioxidants-distress-or-eustress-.html#blocktranscript

174- Schwartz A, Martínez G, Re L. Guía para el uso médico del ozono. Fundamentos terapéuticos e indicaciones, Madrid [Internet]. 2011[citado 10 sept 2019]. Available from: https://aepromo.org/.../guia-para-el-uso-medico-del-ozono-fundamentos-terapeuticos

175- Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: A clinical review. J Nat. Sci Biol Med [Internet]. 2011 Jan-Jun [citado 10 sept 2019]; 2(1): 66–70. Disponible en: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3312702/

176- Padilla EM, Sueiro I, Quintero L, Domínguez C, Hernández AB, Ercia LE. Usos terapéuticos del ozono en los servicios de salud. Rev Cubana de Medicina Natural y Tradicional [Internet]. 2016 [citado 10 sept 2019]; 1(1). Disponible en: http://www.revmnt.sld.cu/index.php/rmnt/article/view/17/36

177- Bocci V, Zanardia L, Valacchi G, Borrelli E, Travagli V. Validity of Oxygen-Ozone Therapy as Integrated Medication Form in Chronic Inflammatory Diseases. Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets. 2015 [citado 10 sept 2019]; 15(2): 127-138. Disponible en: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26126818/

178- Himuro H. The effect of ozone on colonic epithelial cells. Kurume Medical Journal [Internet]. 2017 [citado 10 sept 2019]; 64(4): 1-7. Disponible en: https://app.dimensions.ai/details/publication/pub.1104129914

179- Viebahn R, León OS, Fahmy Z. Ozone in Medicine: Clinical Evaluation and Evidence Classification of the Systemic Ozone Applications, Major Autohemotherapy and Rectal Insufflation, According to the Requirements for Evidence-Based Medicine. Ozone: Science & Engineering. 2016 may; 28p

180- Cruz Barrios MA. Reacciones adversas del factor de transferencia y características de su prescripción [Tesis]. La Habana: Universidad Médica de La Habana; 2014. Disponible en: http://tesis.sld.cu/FileStorage/000072-629F-Cruz_Barrios.pdf

Anexo 1 Consentimiento Informado

Modelo de consentimiento del tutor que autoriza la participación del hijo (a) en la investigación.

Hoja de información

Título del ensayo clínico. Eficacia y seguridad terapéutica de la ozonoterapia rectal en individuos con deficiencia de inmunoglobulina A.

Información al Familiar

Al brindarle esta información le solicitamos su consentimiento para que su hijo (a) participe en una investigación. Ud. tiene el derecho de conocer todo lo relacionado con la misma de modo que pueda decidir si acepta o no la participación de su hijo(a) en este estudio y, en caso de estar de acuerdo, debe firmar la última hoja de este documento.

Si al leer esta información no entiende alguna palabra o se le presenta alguna duda, por favor, pídale al médico que explique y aclare todas sus interrogantes hasta que Ud. comprenda, así mismo, puede tomarse todo el tiempo que estime conveniente para decidir la participación de su hijo(a) en este estudio.

¿A quién llamar en caso de necesidad?

Nombre	Función	Localización
Dr. C. Consuelo Macías Abraham	Jefa del Grupo Nacional de Inmunología	Dirección del IHI
Dra. Jacqueline Díaz Luis	Especialista en Inmunología e investigador principal	Hospital Roberto Rodríguez Fernández

Propósito del estudio

Con esta investigación se pretende evaluar el empleo de la ozonoterapia en la deficiencia de IgA a través de la evaluación clínica, las inmunoglobulinas y el balance de oxidación reducción en el organismo.

Descripción general de la Deficiencia de IgA

La enfermedad que tiene su familiar se llama Deficiencia de IgA, es una inmunodeficiencia primaria, la más frecuente reportada. Esta enfermedad se caracteriza por tener un defecto en la IgA, que son los que predominan en las superficies mucosas y las protegen de los microorganismos patógenos. No tiene un tratamiento específico, no es posible hasta la fecha, reemplazar la IgA, es necesario el uso de antibióticos para tratar las infecciones y se debe aplicar tratamiento convencional específico para las enfermedades que coexisten. Es necesario el seguimiento continuo para evitar complicaciones que se pueden presentar.

Selección de los pacientes

En esta investigación se incluirán aquellos pacientes que les sea diagnosticado la misma enfermedad que padece su hijo. Para que el paciente pueda entrar en este estudio debe tener una serie de características que el médico evaluará: una edad comprendida mayor de 4 años y que sus padres y/o tutores brinden su consentimiento para la participación del mismo en el estudio. No podrán incluirse los niños que hayan recibido transfusiones de sangre tres meses previos o durante el estudio, haber recibido tratamiento inmunomodulador 6 meses previos, haber ingerido medicamentos que ocasionan deficiencia secundaria de la IgA tres meses previos o durante el estudio y tener alguna condición que contraindique el uso de la O_3T o de algún otro producto del estudio.

Tratamiento

En esta investigación se incluirán 60 pacientes, que serán asignados indistintamente a uno de los dos grupos de tratamiento que existirán en el estudio.

El Grupo experimental (GE) recibirá el tratamiento con O_3T (nuevo tratamiento).

El Grupo Control (GC) recibirá el Hebertrans (inmunomodulador habitual usado en Cuba).

A los que caigan en el GE se les aplicará la O_3T mediante la insuflación rectal (diario, 20 sesiones, por 2 ciclos, cada tres meses). Los pacientes del GC recibirán el tratamiento con Hebertrans.

El paciente recibirá el tratamiento que el médico de asistencia estime que este requiera, para tratar la enfermedad infecciosa y las otras enfermedades que coexistan (alergias y enfermedad autoinmune).

Se interrumpirá el tratamiento si Ud. como padre y/o tutor decide que su hijo(a) abandone voluntariamente el estudio o en caso de aparecer alguna reacción grave u otra complicación.

Exámenes y evaluaciones

Para el diagnóstico de la enfermedad, seguimiento y evaluación de los participantes se tendrán en cuenta los resultados de:

- Pruebas de laboratorio clínico y de microbiología.
- Evaluación clínica
- Evaluación de las inmunoglobulinas.
- Evaluación de parámetros pro y antioxidantes.

Así mismo después del primer ciclo, 1 mes después el segundo ciclo y a los 6 meses, el familiar y el paciente deben asistir a una consulta de Inmunología programada. De lo contrario serán localizados por la vía posible.

Tratamiento en estudio

La O_3T es un proceder terapéutico que utiliza el ozono. Una vez que se administra reacciona con ciertos elementos en el organismo y produce respuesta biológica favorable relacionada con la estimulación de factores que incrementan la síntesis de enzimas antioxidantes y la protección contra el estrés oxidativo y además estimula el sistema inmune, al considerarse un inductor de la síntesis de citocinas.

Hasta el presente no se han reportado reacciones adversas cuando se aplica este producto; no obstante, en caso de presentarse cualquier complicación durante el desarrollo de la investigación la especialista actuará de acuerdo a su experiencia y tomará las medidas necesarias.

Aprobaciones del estudio

La aprobación que Ud. da para que su hijo(a) participe en este estudio es totalmente voluntaria y no implica ningún compromiso con el médico, ni con el hospital, Ud. tiene la oportunidad de aceptar o no esta participación. El menor recibirá la mejor atención, aunque no participe en la investigación. De igual forma, Ud. como padre y/o tutor puede decidir el abandono de la investigación voluntariamente cuando lo desee, sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta en los cuidados médicos del enfermo.

Durante el desarrollo del estudio, serán actualizados con relación a cualquier nueva información de que se disponga y que pudiera interferir en su decisión de continuar participando en el estudio.

La información privada que resulte de esta investigación, así como lo relacionado con la identificación y datos personales del paciente no serán divulgados y solo las personas relacionadas con la investigación (personas del centro productor del medicamento) investigadores u autoridades nacionales tendrán acceso a esos datos.

Este estudio fue evaluado y registrado por el CENCEC y fue aprobado por el Consejo Científico y Comité de Ética institucional, los cuales aprobaron la realización de esta investigación.

CONSENTIMIENTO DE PARTICIPACIÓN EN LA INVESTIGACIÓN HOJA DE FIRMAS

Yo,_____, padre y/o tutor del paciente_____ quien recibe atención médica en la consulta de Inmunología del hospital _____estoy de acuerdo con su participación en el ensayo clínico, que evalúa el empleo de la O_3T en el tratamiento de la deficiencia de IgA.

Previo a brindar este consentimiento el (la) Dr. (a) _____ , me ha brindado la posibilidad de:

1. Leer y comprender la Hoja de Información que me ha sido entregada sobre el estudio.

2. Hacer todas las preguntas que me preocupaban en relación al estudio.

3. Recibir respuestas a mis preguntas.

4. Recibir la suficiente información del estudio.

Por lo que he comprendido que mi hijo participa en el estudio voluntariamente, pudiéndose retirar del mismo:

1. Cuando lo desee.

2. Sin tener que dar explicaciones.

3. Sin tener repercusión alguna en su atención médica.

Por todo lo planteado anteriormente doy mi conformidad en que mi hijo sea incluido en el estudio y para que quede constancia de esto firmo este Modelo.

_____	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Firma del Padre o Tutor	Fecha (día/mes/año)
_____	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Firma del Testigo	Fecha (día/mes/año)
_____	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Firma del Investigador	Fecha (día/mes/año)

MODELO PARA ADULTOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MI INCLUSION EN EL ENSAYO CLINICO.

“**Título. Eficacia y seguridad terapéutica de la ozonoterapia rectal en pacientes sintomáticos con deficiencia de inmunoglobulina A.**

Este es un estudio para aplicar la ozonoterapia en la deficiencia de IgA, inmunodeficiencia primaria que no tiene tratamiento específico, este proceder terapéutico está regulado desde el 2009, su participación en esta investigación es voluntaria y usted puede rechazar su incorporación o abandonar el ensayo sin penalización o pérdida de sus derechos médicos habituales. Usted está en todo el derecho de leer detenidamente toda la información que se describe a continuación. Por favor, tome el tiempo necesario para su decisión, puede llevarlo a casa y conversar al respecto con sus familiares o amigos.

¿Por qué se realiza esta investigación?
Esta investigación se hace porque esperamos que usted y otras personas con la misma afección, puedan eliminar la recurrencia de enfermedades infecciosas, obtener respuesta positiva de las inmunoglobulinas y recibir efectos beneficiosos antioxidantes y revitalizantes, evitando las complicaciones de la enfermedad con la administración del ozono. Hasta la fecha no se dispone de tratamientos que puedan reemplazar la IgA. El tratamiento convencional de esta enfermedad conlleva al uso de antibioticoterapia para el control de las infecciones, algunos pacientes requieren tratamientos prolongados, con los efectos adversos que se presentan en este tipo de terapia y no se recomienda emplear inmunoglobulinas por la ocurrencia de reacciones alérgicas. Existen evidencias que la Ozonoterapia aporta efectos beneficiosos en inmunodeficiencias y del Hebertrans en pequeños grupos de pacientes con esta enfermedad.

Durante el estudio usted recibirá la ozonoterapia o Hebertrans según el grupo de inclusión que se le asigne de forma aleatoria. Se evaluarán los efectos del tratamiento asignado, con evaluaciones de laboratorio y clínicas luego de recibir el tratamiento.

¿Qué tipo de personas y cuántas participarán?
En este estudio deben participar todas las personas que cumplan con las siguientes características:
Criterios de elegibilidad (Inclusión):

1. Cumplir con los criterios diagnósticos de Deficiencia de IgA.
2. Que hayan firmado el consentimiento informado de participación.

En el estudio no van a participar las personas que tengan alguna de las condiciones siguientes

1. Haber recibido transfusiones de sangre tres meses previos o durante el estudio.

2. Haber recibido tratamiento inmunomodulador 6 meses previos.
3. Haber ingerido medicamentos que ocasionan deficiencia secundaria de la IgA tres meses previos o durante el estudio.
4. Presencia de condiciones que contraindiquen la ozonoterapia o el Hebertrans.

Para recibir el tratamiento asignado, usted no necesita estar ingresado, se aplicará la ozonoterapia en el hospital de forma ambulatoria y el Hebertrans en el Consultorio al que pertenece. Antes de iniciar el tratamiento se le realizarán exámenes complementarios que permitirán evaluar su estado de salud y se obtendrá una muestra de sangre en el IHI para medir las poblaciones linfoides y el estado del balance redox. A los tres y seis meses y al año, usted deberá asistir a las consultas de seguimiento con el inmunólogo en el hospital. Aquí se le realizarán evaluaciones clínicas y de laboratorio para conocer la evolución de su enfermedad.

¿Qué tratamiento voy a recibir?
Usted recibirá una sesión diaria de O_3T. Se administrará por insuflación rectal durante 20 días, con un intervalo de tres meses entre dos ciclos, y rangos de dosificación ajustados a la edad. En caso de recibir Hebertrans se le administrara dos dosis semanales, por la vía subcutánea, durante 16 semanas

¿Cuáles son los riesgos posibles si decido incluirme en esta investigación?
La ozonoterapia, como todo medicamento puede provocarle efectos indeseables. Los eventos adversos que se describen tienen intensidad ligera o moderada (no son de intensidad grave, ni muy grave). El Hebertrans es un medicamento seguro, los eventos adversos reportados, son locales y se relacionan con la vía de administración fundamentalmente.

¿Cuáles son los beneficios posibles si decido incluirme en esta investigación?
Si usted decide incluirse en esta investigación puede tener o no beneficios médicos directos de su participación. Nuestro objetivo es incrementar el beneficio clínico e inmunológico. Esperamos que la información obtenida en este estudio también beneficie a otros pacientes con esta enfermedad.

¿Tengo otras opciones de tratamiento si decido no participar en esta investigación?
Si usted decide no participar en el estudio, recibirá el tratamiento para los síntomas de su enfermedad que convencionalmente se administran.

¿Existirá confidencialidad en el manejo de todo lo referente a mi persona?
Toda la información relacionada con Ud. no se hará pública en ningún caso. Su identidad no será revelada en ninguna publicación científica. Durante toda la investigación se estará trabajando con sus iniciales, pero nunca con su nombre y apellidos completos. Su historia clínica puede ser revisada por otros investigadores, y autoridades hospitalarias
Es importante que usted conozca que su historia clínica estará identificada de manera que sea posible entender que corresponde a un paciente que participa en

una investigación clínica, lo que facilita una atención diferente al resto de las historias, en cuanto a almacenamiento, disponibilidad y tiempo de archivo.

¿Mi participación en este ensayo implica algún pago o costo?
Ud. no recibirá ningún tipo de pago por incluirse en esta investigación. Todos los tratamientos asociados a esta investigación le serán aplicados sin costo alguno.

¿Cuáles son mis derechos como participante en esta investigación?
Tiene el derecho de que se le expliquen todas las dudas que tenga sobre la investigación que se está realizando, las reacciones adversas que se presenten, las manifestaciones de la enfermedad, o cualquier aspecto que usted considere necesario conocer.

Ud. debe guardar una copia de este modelo para consultarlo cada vez que desee. Además, debe recibir periódicamente información acerca de la evolución de su enfermedad y los resultados del tratamiento, variación de dosis o cualquier modificación del estudio. Usted puede abandonar el estudio cuando desee, sin dar explicaciones por ello, y sin afectar los cuidados posteriores que deba recibir.

¿A quién puedo dirigirme para obtener información adicional?

Nombres y Apellidos	Responsabilidad en el ensayo	Institución	Dirección, teléfonos y correo electrónico
Jacqueline Díaz Luis	Investigador principal	Hospital Roberto Rodríguez Fernández	Zallas y Libertad. Morón Telf.33505011 jdluis@infomed.sld.cu
Consuelo Macías Abraham	Tutor del investigador	IHI	Teléf. 647 6135 jmballe@infomed.sld.cu

Firmas del modelo de consentimiento informado

Como he tenido tiempo suficiente para considerar la propuesta de participación en el ensayo y he recibido adecuada información (oral y escrita) acerca del mismo, he decidido incluirme en la investigación. Eficacia y seguridad terapéutica de la ozonoterapia rectal en pacientes sintomáticos con deficiencia de inmunoglobulina A.

.

Firmo el presente documento con el médico que me ha dado las explicaciones.

----------	----------	----------
Nombre del paciente	Firma	Fecha
----------	----------	----------
Nombre del médico	Firma	Fecha
----------	----------	----------
Nombre del testigo	Firma	Fecha

Anexo 2

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

Ensayo clínico

EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA OZONOTERAPIA RECTAL EN PACIENTES SINTOMÁTICOS CON DEFICIENCIA DE INMUNOGLOBULINA A

Código de Identificación: |__|__|-|__|__|

INCLUSIÓN

Datos de la institución

Sitio clínico hospital**:** |H|G|M|Ø| Provincia: |C|A| Ø| Municipio |M|O| R|

Verificación de los criterios de selección de sujetos.

Inclusión ***(Una respuesta negativa descalifica al individuo para entrar al estudio)***	**Sí**	**No**
1. Pacientes que cumplan el criterio diagnóstico	□ 1	□ 2
2. Pacientes con edad mayor de 4 años	□ 1	□ 2
3. Pacientes o tutores que hayan firmado el consentimiento informado propio o del menor	□ 1	□ 2
Exclusión ***(Una respuesta afirmativa descalifica al individuo para entrar al estudio)***	**Sí**	**No**
1. Haber recibido transfusiones de sangre tres meses previos o durante el estudio.	□ 1	□ 2
2. Haber recibido tratamiento inmunomodulador 6 meses previos.	□ 1	□ 2
3. Haber ingerido medicamentos que ocasionan deficiencia secundaria de la IgA tres meses previos o durante el estudio.	□ 1	□ 2
4. Presencia de condiciones que contraindiquen el uso del Hebertrans® o la O_3T.	□ 1	□ 2
5. Haber recibido transfusiones de sangre tres meses previos o durante el estudio.	□ 1	□ 2
6. Haber recibido tratamiento inmunomodulador 6 meses previos.	□ 1	□ 2

Grupo asignado: O_3T □ 1 Hebertrans® □ 2

EVALUACIÓN INICIAL

DATOS GENERALES DEL PACIENTE

1. Iniciales del Paciente: **|__|__|__|__|**

2. Fecha de inclusión: |__|__|/|__|__|/|__|__| (*dd/mm/aa*)

3. No. Inclusión: **|__|__|__|**

4. Edad: |__|__| años

5. Sexo**:** Masculino □ 1 Femenino □ 2

6. Raza: Blanca □ 1 Mestiza□□ 2 Negra□□ 3

7. Peso: **|__|__|__|,|__|** Kg

8. Primera consulta |__|__|/|__|__|/|__|__| (*dd/mm/aa*).

Historia clínica de Inmunología

9. Motivos de la primera consulta

|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_10. Antecedentes patológicos personales

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

11. Enfermedades alérgicas Si □ **1** No □ **2**

__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__||__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

_|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__|_

12. Enfermedades autoinmunes Si ☐ 1 No ☐ 2

13. Padres vivos: Si ☐ 1 No ☐ 2

14. Consanguinidad: Si ☐ 1 No ☐ 2

15. Historia familiar de fallecidos en edad temprana Si ☐ 1 No ☐ 2

16. Causas de fallecimiento:

17. Hermanos Si ☐ 1 No ☐ 2

18. Hábitos tóxicos durante el embarazo: Cigarro☐ Alcohol☐ Café☐ Otros☐

19. Embarazo Normal: Si ☐ 1 No ☐ 2

20. Abortos: Si ☐ 1 No ☐ 2

21. Causas:

22. Parto fisiológico: Si ☐ 1 No ☐ 2

23. Causas:

24. Tiempo gestacional al nacer: __|__|__

25. Peso al nacer: __|__|__Kg

26. Talla__|__|__

27. Lactancia materna: Si ☐ 1 No ☐ 2

28. Duración|__|mes|__|meses

29. Desarrollo Psicomotor: _|__|__|__|__|__|__|__|__|__

30. Esquema de vacunación: Completo: Si ☐ 1 No ☐ 2

31. Reacción post vacunal: Si ☐ 1 No ☐ 2

32. Manifestaciones clínicas

Signos de inmunodeficiencia	Normal		Descripción
	Si	No	
Ocho o más episodios de otitis media aguda en un año	❑ 1	❑ 2	
Dos o más infecciones graves de senos peri nasales en un año	❑ 1	❑ 2	
Dos o más meses de tratamiento con antibióticos con poca mejoría	❑ 1	❑ 2	
Dos o más neumonías en un año	❑ 1	❑ 2	
Falta de ganancia de peso y talla	❑ 1	❑ 2	
Infecciones recurrentes de piel y tejidos blandos y abscesos de órganos	❑ 1	❑ 2	
Muguet o candidiasis cutánea persistente después del año de edad	❑ 1	❑ 2	
Necesidad de antibióticos intravenosos para curar las infecciones	❑ 1	❑ 2	
Dos o más infecciones graves (sepsis, meningitis, osteomielitis)	❑ 1	❑ 2	
Historia familiar de inmunodeficiencia	□ 1	□ 2	
Enfermedades infecciosas respiratorias	❑ 1	❑ 2	
Enfermedades infecciosas digestivas	❑ 1	❑ 2	
Enfermedades infecciosas en la piel y las mucosas	❑ 1	❑ 2	
Otras enfermedades infecciosas	❑ 1	❑ 2	

33. Evaluación clínica inicial

Categorías	Si	No
1 No tener enfermedades infecciosas bacterianas respiratorias, ni en la piel y no presentar enfermedades parasitarias. Puede manifestar hasta dos infecciones virales	□ 1	□ 2
2 Presentar hasta dos infecciones respiratorias y cutáneas de etiología bacteriana, una enfermedad parasitaria y dos enfermedades infecciosas virales.	□ 1	□ 2
3 Presentar más de dos infecciones bacterianas respiratorias o cutánea. Tener infección parasitaria recurrente aguda (IPRA) y más de dos infecciones virales.	□ 1	□ 2
4 Situación médica desfavorable, presenta complicaciones, enfermedades infecciosas mayores recurrentes e ingresos hospitalarios	□ 1	□ 2

Según lo marcado en la tabla anterior se incluirá como.

1 Evaluación satisfactoria □
2 Estable□
3 Igual□
4 Peor□

34. Exámenes de laboratorio iniciales

Exámenes de Laboratorio					
Hematología y química	Resultado				
		No realizado	Normal	Anormal	Fecha (Día/Mes/Año)
1. Hemoglobina	**|__||__|__|, |__|** g/l	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
2. Conteo global de leucocitos	**|__|__|, |__|** x10^9/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
3. Neutrófilos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
4. Linfocitos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
5. Eosinófilos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
6. ASAT	**|__|__|,|__|** U/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
7. ALAT	**|__|__|,|__|** U/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
8. Fosfatasa alcalina	|__|__|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
9. Creatinina	|__|__|__|.|__|__|µmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
10. Urea	__|__|__|.|__|__mmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
□3 disminuido □4 aumentado					
Pruebas de laboratorio de Microbiología					
11. Heces fecales	**|__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
12. Gram en Heces fecales	**__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
13. Coprocultivo	**__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
14. Exudado faríngeo	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
15. Exudado ótico	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
16. Exudado de piel	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
Pruebas de inmunología					
17. IgA	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
18. IgG	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
19. IgM	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**

20. Anti TT	**|__.|__||__**UI/mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
21. Anti TD	**|__.|__||__**UI/mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
22. LTCD5+CD3+CD4+	**|__|__|. |__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**_|__|/|__|__|/|__|__|**
23. LTCD45+CD3+CD8+	**|__|__|. |__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**_|__|/|__|__|/|__|__|**
24. LBCD45+CD19+	**|__|__|. |__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**_|__|/|__|__|/|__|__|**
25. LNKCD45+CD56+CD16+	**|__|__|. |__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**_|__|/|__|__|/|__|__|**
Pruebas de estrés oxidativo					
26. MDA	**|__.|__||__|** μmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
27. PAOP	**|__|__|.|__|||__|**μmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
28. SOD	**|__|__||__|.|__|__|** U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
29. CAT	**|__|__|.|__|__|**U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
30. FRAP	**|__.|__||__|** mMFe"/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
31. GPx	**|__|__||__||__|__|.|__||__|** U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**

Tipos de microorganismos		
	Si	**No**
Estreptococcus β hemolítico	□ *1*	□ *2*
Staphylococcus aureus	□ *1*	□ *2*
Estreptococcus pneumoniae	□ *1*	□ *2*
Pseudomona aeruginosa	□ *1*	□ *2*
Giardia lamblia	□ *1*	□ *2*
Entamoeba histolytica	□ *1*	□ *2*
Blastocystis hominis	□ *1*	□ *2*
Cryptosporidium parvum	□ *1*	□ *2*
Escherichia coli	□ *1*	□ *2*
Haemophilus influenzae	□ *1*	□ *2*
Levaduras	□ *1*	□ *2*
Infecciones virales	□ *1*	□ *2*
Otros microorganismos	□ *1*	□ *2*

EVALUACIÓN DE RESPUESTA

1 .Evaluaciones al mes

1. El paciente asistió a la evaluación: Si □ 1 No □ 2
2. Fecha de la evaluación: |__|__|/|__|__|/|__|__| (dd/mm/aa)

3. Exámenes de Laboratorio

Estudios de hematología y química	Resultado	No realizado	Normal	Anormal	Fecha (Día/Mes/Año)
Hemoglobina	**|__|__|. |__|** g/dl	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Conteo global de leucocitos	**|__|__|. |__|** x10^9/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Neutrófilos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Linfocitos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Eosinófilos	**__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
TGP	|__|__|,|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
TGO	|__|__|,|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Fosfatasa alcalina	|__|__|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Creatinina	|__|__|__|.|__|__|µmol/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Urea	|__|__|,|__| mmol/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
□3 disminuido □4 aumentado					
Pruebas de laboratorio de Microbiología					
1. Heces fecales	**|__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
2. Gram en Heces fecales	**__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
3. Coprocultivo	**__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
4. Exudado faríngeo	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
5. Exudado ótico	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
32. Exudado de piel	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
Pruebas de inmunología					
6. IgA	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
7. IgG	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
8. IgM	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
Pruebas de estrés oxidativo					
9. MDA	**|__.|__||__|** µmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
10. PAOP	**|__|__|.|__|||__|**µmol/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
11. SOD	**|__|__||__|.|__|__|** U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
12. CAT	**|__|__|.|__|__|**U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
13. FRAP	**|__.|__||__|** mMFe"/L	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
14. GPx	**|__|__||__||__|__|.|__||__|** U/ mL	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**

Evaluación clínica al mes

Categorías	Si	No
1 No tener enfermedades infecciosas bacterianas respiratorias, ni en la piel y no presentar enfermedades parasitarias. Puede manifestar hasta dos infecciones virales	□ 1	□ 2
2 Presentar hasta dos infecciones respiratorias y cutáneas de etiología bacteriana, una enfermedad parasitaria y dos enfermedades infecciosas virales.	□ 1	□ 2
3 Presentar más de dos infecciones bacterianas respiratorias o cutánea. Tener infección parasitaria recurrente aguda (IPRA) y más de dos infecciones virales.	□ 1	□ 2
4 Situación médica desfavorable, presenta complicaciones, enfermedades infecciosas mayores recurrentes e ingresos hospitalarios	□ 1	□ 2

Según lo marcado en la tabla anterior se incluirá como.

5 Evaluación satisfactoria □

6 Estable□

7 Igual□

8 Peor□

EVALUACIÓN DE RESPUESTA

2. Evaluación a los seis meses

1. El paciente asistió a la evaluación: Si □ 1 No □ 2
2. Fecha de la evaluación: |__|__|/|__|__|/|__|__| (dd/mm/aa)

3. Exámenes de Laboratorio

Estudios de hematología	Resultado		Fecha (Día/Mes/Año)		
		No realizado	Normal	Anormal	
Hemoglobina	**|__|__|. |__|** g/dl	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Conteo global de leucocitos	**|__|__|. |__|** x10^9/L	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Neutrófilos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Linfocitos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
Eosinófilos	**|__|__| %**	□ 1	□2	□3 □4	**|__|__|/|__|__|/|__|__|**
TGP	|__|__|,|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
TGO	|__|__|,|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Fosfatasa alcalina	|__|__|__| U/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Creatinina	|__|__|__|.|__|__|µmol/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
Urea	|__|__|,|__| mmol/L	□ 1	□2	□3 □4	|__|__|/|__|__|/|__|__|
□3 disminuido □4 aumentado					
Pruebas de laboratorio de Microbiología					
Heces fecales	**|__|__|__||__|__|_**	□ 1	□2	□3 □4	**__|__|/|__|__|/|__|__|**
Gram en Heces fecales	__|__|__||__|__|_	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
Coprocultivo	__|__|__||__|__|_	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
Exudado faríngeo	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
Exudado otico	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
Exudado de piel	**|__|__|__||__|__|__|**	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
Pruebas de inmunología					
IgA	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
IgG	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|
IgM	**|__.|__||__|** g/L	□ 1	□2	□3 □4	__|__|/|__|__|/|__|__|

Evaluación clínica a los 6 meses

Categorías	Si	No
1 No tener enfermedades infecciosas bacterianas respiratorias, ni en la piel y no presentar enfermedades parasitarias. Puede manifestar hasta dos infecciones virales	□ 1	□ 2
2 Presentar hasta dos infecciones respiratorias y cutáneas de etiología bacteriana, una enfermedad parasitaria y dos enfermedades infecciosas virales.	□ 1	□ 2
3 Presentar más de dos infecciones bacterianas respiratorias o cutánea. Tener infección parasitaria recurrente aguda (IPRA) y más de dos infecciones virales.	□ 1	□ 2
4 Situación médica desfavorable, presenta complicaciones, enfermedades infecciosas mayores recurrentes e ingresos hospitalarios	□ 1	□ 2

Según lo marcado en la tabla anterior se incluirá como.

9 Evaluación satisfactoria □

10 Estable□

11 Igual□

12 Peor□

Cumplimiento del tratamiento con O_3T

Edad:

ozonoterapia	CICLO: □ 1			OBSERVACIONES
	dosis mg/ml	Día SEMANA LMMJV	fecha	
S1	|__.|__||__|	□□ □ □□	__|__|/|__|__|/|__|__	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S2	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S3	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S4	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S5	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S6	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S7	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S8	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S9	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S10	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S11	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S12	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S13	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S14	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S15	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S16	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S17	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S18	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S19	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S20	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
CICLO 2				
S1	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S2	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S3	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S4	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S5	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__

S6	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S7	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S8	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S9	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S10	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S11	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S12	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S13	|__.|__||__|	□□ □ □□	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S14	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S15	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S16	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S17	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S18	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S19	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S20	|__.|__||__|	□□ □ □□	|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__

Cumplimiento del tratamiento con Hebertrans®

Edad:

Hebertrans®	DOSIS	FECHA	OBSERVACIONES
S1	|__.|__||__|	__|__|/|__|__|/|__|__	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S2	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S3	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S4	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S5	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S6	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S7	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S8	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S9	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S10	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S11	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S12	|__.|__||__|	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__|__

S13	**|__.|__||__|**	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S14	**|__.|__||__|**	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S15	**|__.|__||__|**	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__
S16	**|__.|__||__|**	_|__|/|__|__|/|__|_	|__|__|__|__|__|__|__|__|__

Eventos Adversos

¿El paciente presentó Eventos Adversos? : Sí □ 1 No □ 2

En caso de respuesta afirmativa complete el **Modelo de Eventos Adversos.**

En caso de presentarse eventos adversos serios o inesperados complete el Reporte Expedito

EVENTOS ADVERSOS

Tipo de EA	fecha	Grado según CTC	Resultado del EA	Gravedad	Actitud respecto al fármaco	Lote parara el Hebertrans
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	. |__|	|__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	|__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	|__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	|__|	. |__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	|__|	. |__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	. |__|	|__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|
|__|__|	|__|__|/|__|__|/|__|__|	|__|	|__|	|__|	|__|	|__|__|__|__|__|__|

Grado según la tabla: 1. Ligero 2. Moderado 3. Severo 4. Que amenaza la vida del paciente 5. Que causa la muerte

Resultados del evento adverso: 1. Efecto reversible; 2 Efecto irreversible.; 3. Muerte.

Gravedad: 1. Grave/serio, 2 No grave/No serio

Actitud respecto al fármaco: 1. Sin cambios, 2. Modificación de dosis, 3. Interrupción temporal, 4. Interrupción definitiva.

INTERRUPCION DE TRATAMIENTO

1. El paciente interrumpió el tratamiento Si □1 No□2

Completar en el momento que el paciente interrumpe tratamiento	
2. Fecha de interrupción del tratamiento: **|__|__|/ |__|__|/ |__|__|** *(dd/mm/aa)*	
3. Causa de interrupción del tratamiento *(Marque la más apropiada, solo una):*	
□1	Reacciones adversas severas o que amenazan la vida, en cualquier momento de ejecución del ensayo
□2	Deterioro del estado clínico del paciente.
□4	por irregularidades en el cumplimiento del protocolo de tratamiento
□5	Fallecimiento
□6	Abandono voluntario
□7	Aparición de alguno de los criterios de exclusión.

- En caso de que la interrupción sea por fallecimiento del paciente, complete el modelo de terminación.
- En caso de que la interrupción sea por otra causa, complete el modelo de terminación cuando fallezca el paciente o al finalizar el estudio.

Anexo 3

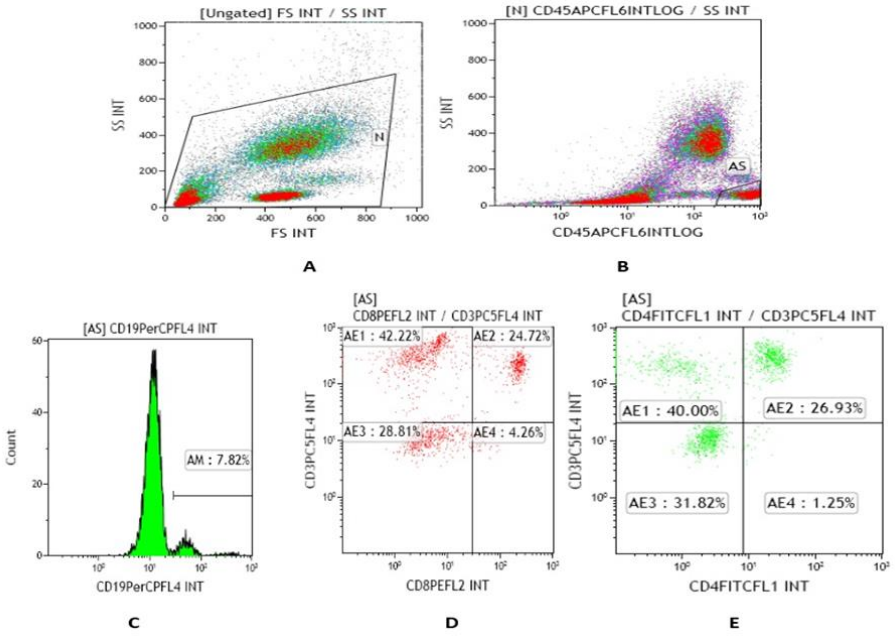

Figura 2. Patrón inmunofenotípico, por citometría de flujo, de la sangre periférica del paciente LHS con deficiencia absoluta de inmunoglobulina A. Secuencia de análisis: **A**: diagrama de puntos de células mononucleres, según el tamaño (FS) y la granularidad (SS). **B**: uso del Gate CD45APC/SS, que separa los linfocitos maduros (AS) del resto de las células.**C**: Histograma que muestra la expresión disminuída del antígeno CD19 (7,82 %) según los valores de referencia para el grupo de edad (10-19 %). **D** y **E**: diagrama de puntos de cuatro cuadrantes que muestra la coexpresión de los antígenos CD3 y CD8/CD4. D: Muestra coexpresión de CD3 y CD8. AE2: representa los linfocitos CD3+/CD8+ (24,72%). E: coexpresión de CD3 y CD4. AE2: representa los linfocitos CD3+/CD4+ (26,93%) disminuidos, según los valores de referencia para la edad (28-57%).

Anexo 4

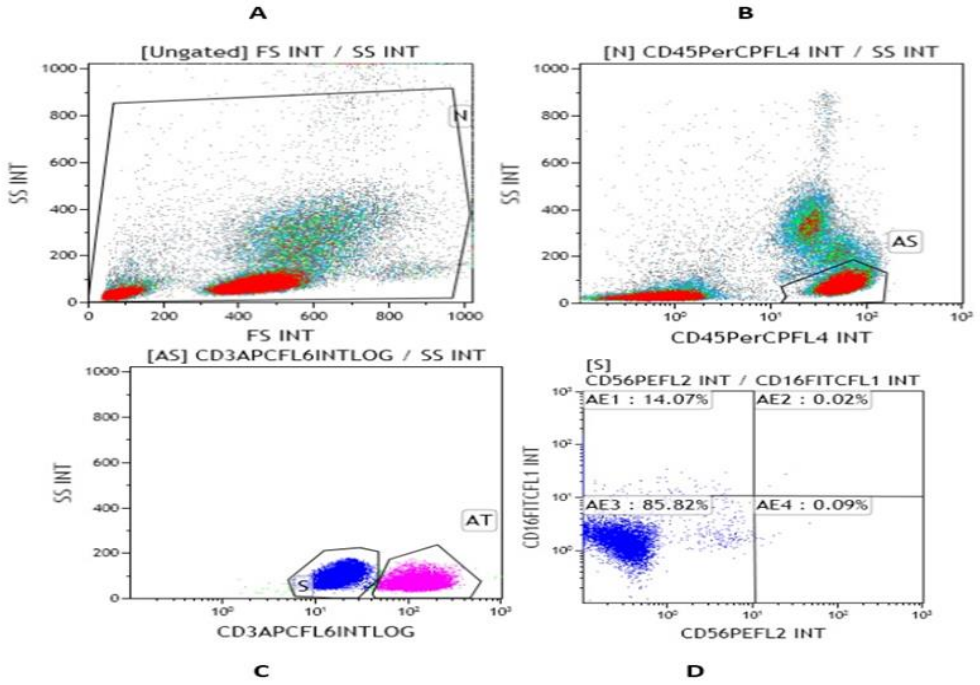

Figura 3. Secuencia de análisis para la determinación de las células asesinas naturales. A: patrón inmunofenotípico por citometría de flujo de la sangre periférica del paciente ACM. **B**: uso del Gate CD45PerCP/SS, que permite la separación de los linfocitos maduros (AS) del resto de las células. **C**: diagrama de puntos que muestra la separación de los linfocitos TCD3+ (AT: rosado) y las células CD3- (S: azul). **D**: diagrama de puntos de cuatro cuadrantes que muestra las células asesinas naturales, AE2: CD3-/CD16+/CD56+ que representan 0,02% del total de células contadas y están disminuidas según los valores de referencia para la edad del paciente (6-27%).