



70° CONGRESSO NAZIONALE

- NOI, ORGOGLIOSAMENTE MEDICI DI FAMIGLIA •
Fiducia, innovazione, competenza, organizzazione

6 - 11 ottobre 2014

Santa Margherita di Pula (CA) - Forte Village



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PAVIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA INTERNA E TERAPIA MEDICA

**OSSIGENO-OZONO TERAPIA
COMPRENSIONE DEI MECCANISMI DI AZIONE E POSSIBILITA'
TERAPEUTICHE**

Luigi Valdenassi

L'ozono, è una molecola molto instabile, che reagisce istantaneamente con altre molecole in soluzione acquosa.

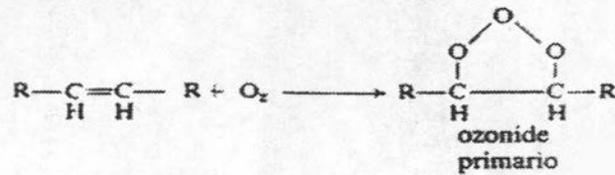
Allo stato gassoso la sua decomposizione è rappresentata dalla reazione:



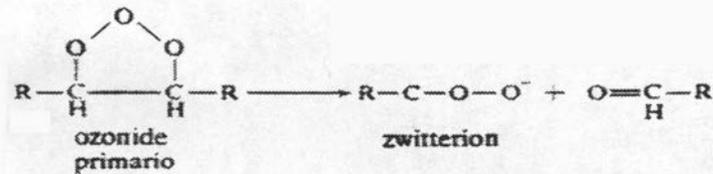
Nei liquidi biologici i substrati con i quali l'ozono di preferenza reagisce sono gli acidi grassi insaturi (si usa l'acronimo anglosassone PUFA) e i composti riducenti (cioè donatori di elettroni), come il glutathione ridotto (GSH) e le proteine ricche di cisteina.

L'ozono, reagendo con un doppio legame C=C di un acido grasso insaturo, dà il via ad una cascata di prodotti diversi quali gli *ozonuri* e gli *ozonidi* di Criegge se la reazione avviene in ambiente lipofilo, oppure il perossido di idrogeno e le aldeidi se la reazione avviene in acqua

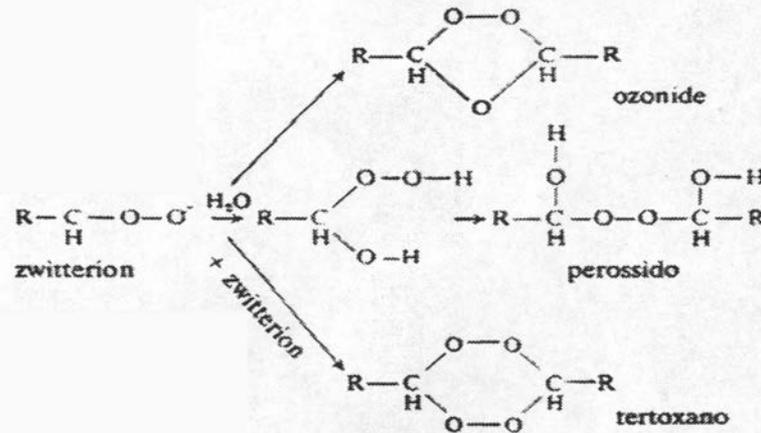
Marmo



A



B



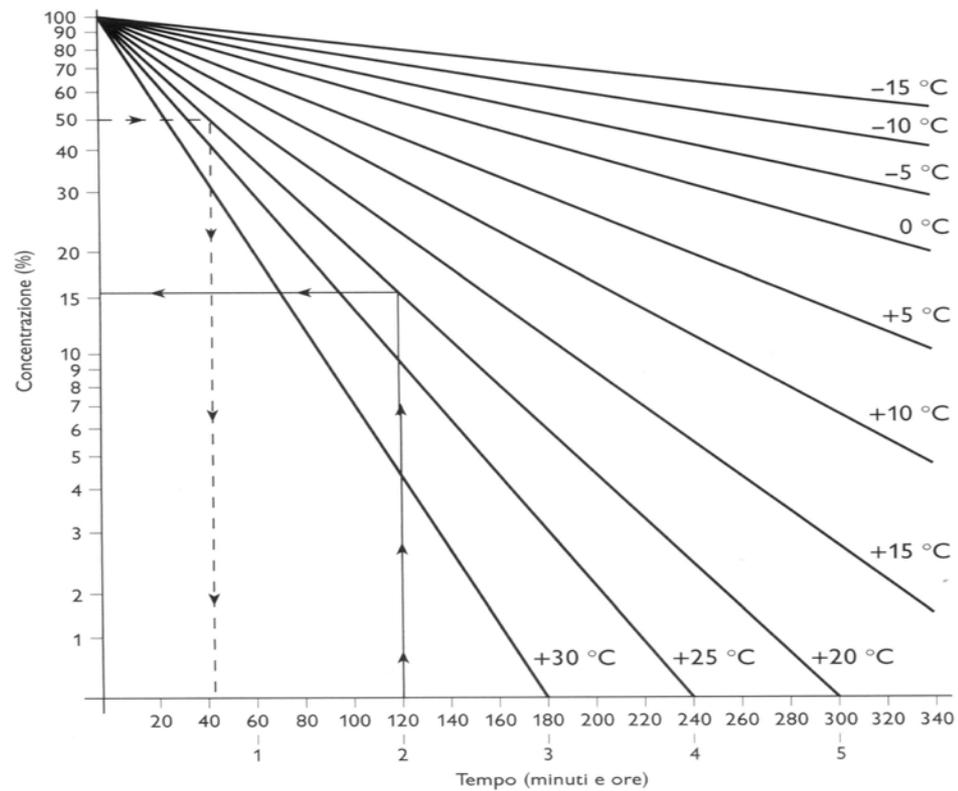
C

Meccanismo di Criegee di ozonolisi di sostanze organiche insature (contenenti un doppio legame carbonico). A) Formazione dell'ozonide primario molto instabile. B) L'ozonide primario si scompone dando origine allo zwitterion. C) Lo zwitterion, in presenza di acqua o di altri solventi reattivi, dà origine ai perossidi.

OZONIZZAZIONE DI 1 MOLE DI PUFA

1 MOLE DI H_2O_2

2 MOLIE DI ALDEIDE



L'emivita dell'O₃ si abbrevia con l'aumentare della temperatura. A + 20° è di 40 minuti.

Mentre l'ozono disciolto nelle soluzioni si decompone in pochi microsecondi, si formano diversi composti in gran parte derivati dalla perossidazione dei PUFA denominati da *Pryor et al. (1995)* con l'acronimo LOP, cioè lipid oxidation products, ed eventualmente, per un'eccessiva dose di ozono, dall'ossidazione di proteine, aminoacidi e acidi nucleici.

A causa dell'aumento di H_2O_2 nel plasma il gradiente formatosi tra acqua extracellulare e acqua intracellulare causa passaggio di H_2O_2 nell'acqua del citoplasma. Questo perché H_2O_2 non essendo ionizzato passa agevolmente la membrana cellulare.

L'ozono somministrato nel frattempo si esaurisce e, mentre la neoproduzione di H_2O_2 cessa, procede la sua riduzione causata dagli antiossidanti solubili e dagli enzimi (catalasi e GSH-Px)

EFFICACIA TERAPEUTICA DELL'OZONO

TERAPIA

- *Controllato e moderato stress ossidativo prodotto dalle reazioni dell'ozono con diversi componenti biologici.*

FORME RADICALICHE

Nella seconda metà del secolo scorso la ricerca sulle forme radicaliche ha fatto sì che questo termine diventasse sinonimo di molecola responsabile di eventi molecolari nocivi per la salute.

Nel nuovo secolo, nuove conoscenze hanno modificato in parte sostanziale tale concetto, conferendo ai radicali liberi una potenzialità di funzioni che permea quasi tutti i fenomeni biologici.

(Dröge, 2002)

EQUAZIONI CHE REGOLANO LA CATALISI

Leonor Michaelis, 1935

(fondatore della moderna enzimologia)

Le ossidoriduzioni biologiche che implicano scambi tra ossidanti e riducenti procedono mediante l'attività di intermediari radicalici: semichinoni

Le specie intermedie tra ossigeno e acqua sono i ROS (Reactive Oxygen Species)

In condizioni fisiologiche sono trattenute all'interno della membrana mitocondriale (e cloroplastica) come intermedi del processo enzimatico di attivazione dell'ossigeno.

Tranne una piccola quota che può aumentare in seguito a diversi stimoli.

Tale quota variabile è alla base dello stress ossidativo che deriva da un alterato equilibrio tra produzione di ROS e difese antiradicaliche

DANNO OSSIDATIVO DA RADICALI

Modificazioni chimiche irreversibili del bersaglio molecolare colpito indiscriminatamente rispetto al tipo di molecola e di gruppo chimico modificati

EFFETTI FISIOLOGICI DA RADICALI

Alterazioni chimiche reversibili e selettive, potenzialmente adatte a divenire parte attiva in meccanismi di regolazione metabolica.

EVOLUZIONE PROSPETTICA: RADICALI DI IMPORTANZA BIOLOGICA

Redox signaling:

Ruolo dei radicali nei segnali intercorrenti tra cellule e tessuti per la regolazione delle funzioni degli organismi

(Forman, Torres, Fukuto, 2002)

- ROS *Reactive Oxygen Species*
- RNS *Reactive Nitrogen Species* (capostipite NO)

La maggior parte degli effetti degli RNS si esplica a livello della regolazione fisiologica delle funzioni dell'organismo.

Spesso si producono insieme ed hanno effetto simili e sinergici.

- RONs *Reactive Oxygen and Nitrogen Species*

(Li e Moore, 2007)

Ruolo dell'NO come modulatore dei segnali fisiologici nel sistema cardiovascolare in particolare quelli regolanti la vasodilatazione per effetto del rilassamento della muscolatura liscia

(Furchgott, Ignarro, Murad – 1998)

Ossido Nitrico

Ozono

Molecole bifronte per la duplicità di effetti:

Danno ossidativo

Regolazione fisiologica

ROS a basse concentrazioni possono intervenire come mediatori fisiologici dell'inizio di diversi processi funzionali



www.HelloCrazy.com

ROS – emivita brevissima

LOPs – più stabili e attivi durante l'emoinfusione. Avrebbero un ruolo cardine nel produrre l'attività di messaggeri

Molteplicità d'azione dell'ozono

OZONO TERAPIA (MODERATO STRESS OSSIDATIVO)

Attivazione Nrf2 (Nuclear Related Factor 2: presente nella protezione contro le patologie neurodegenerative: Alzheimer, Parkinson)

Soppressione NF κ B (Fattore di Trascrizione Nucleare KB)

Attivazione HIF1 α (fattore inducibile mediante ipossia 1 α efficace nelle patologie vascolari)

STRESS OSSIDATIVO GRAVE

- *NFKB (Fattore di Trascrizione Nucleare KB)*



COX2, PGE2, Citochine

Risposta infiammatoria e danno tissutale

**STRESS OSSIDATIVO DA
RADICALI LIBERI DELL'OSSIGENO**

PEROSSIDAZIONE LIPIDICA

OSSIDAZIONE E DEPLEZIONE DEL GSH

OSSIDAZIONE DEI TIOLI PROTEICI

ALTERAZIONI DELLA OMEOSTASI IONICA

DANNO AL DNA

ALTERAZIONI CITOSCHELETRICHE

ALTERAZIONI MITOCONDRIALI

DEPLEZIONI DI ATP

AUMENTO DELLA PERMEABILITÀ
DELLA MEMBRANA PLASMATICA

MORTE CELLULARE

STRESS
EMOR
CELLUL

STRESS OSSIDATIVO MODERATO

- *Nrf 2 (Nuclear Related Factor 2- Fattore Nucleare Eritroide 2)*



ARE (Antioxidant Responsive Elements)



SOD, GP_x, GST_r, CAT, HO-1, NQO-1 (NADPH-
Quinone Ossido Reduttasi)

ORMESI

Funzione adattativa

Risposta bifasica dose-dipendente

Esistono risposte adattative o ormetiche a qualunque tipo di perturbazioni

Gli organismi sembrano pre-adattati a diversi stimoli nocivi

In tutti i sistemi biologici sono presenti meccanismi di controllo omeostatico e ormetico.

Attuando risposte autonome a cambiamenti di stato indotti da agenti esogeni.

Le risposte ormetiche in genere mostrano modesta stimolazione alle basse dosi e una inibizione alle alte dosi.

L'ingresso modesto ma critico di H₂O₂ negli eritrociti è contrastato da GSH che in parte si ossida a GSSG

Il rapporto GSH/GSSG è alterato ma si corregge prontamente in tre minuti circa:

- eliminazione di GSSG
- riduzione di GSSG mediante GSH reduttasi

Stress ossidativo induce apoptosi

Nrf2 induce HO-1 (emeossigenasi 1) che protegge le cellule dall'apoptosi

H₂O₂ induce apoptosi della muscolatura liscia vasale

Nrf2 inducendo HO-1 protegge le stesse cellule

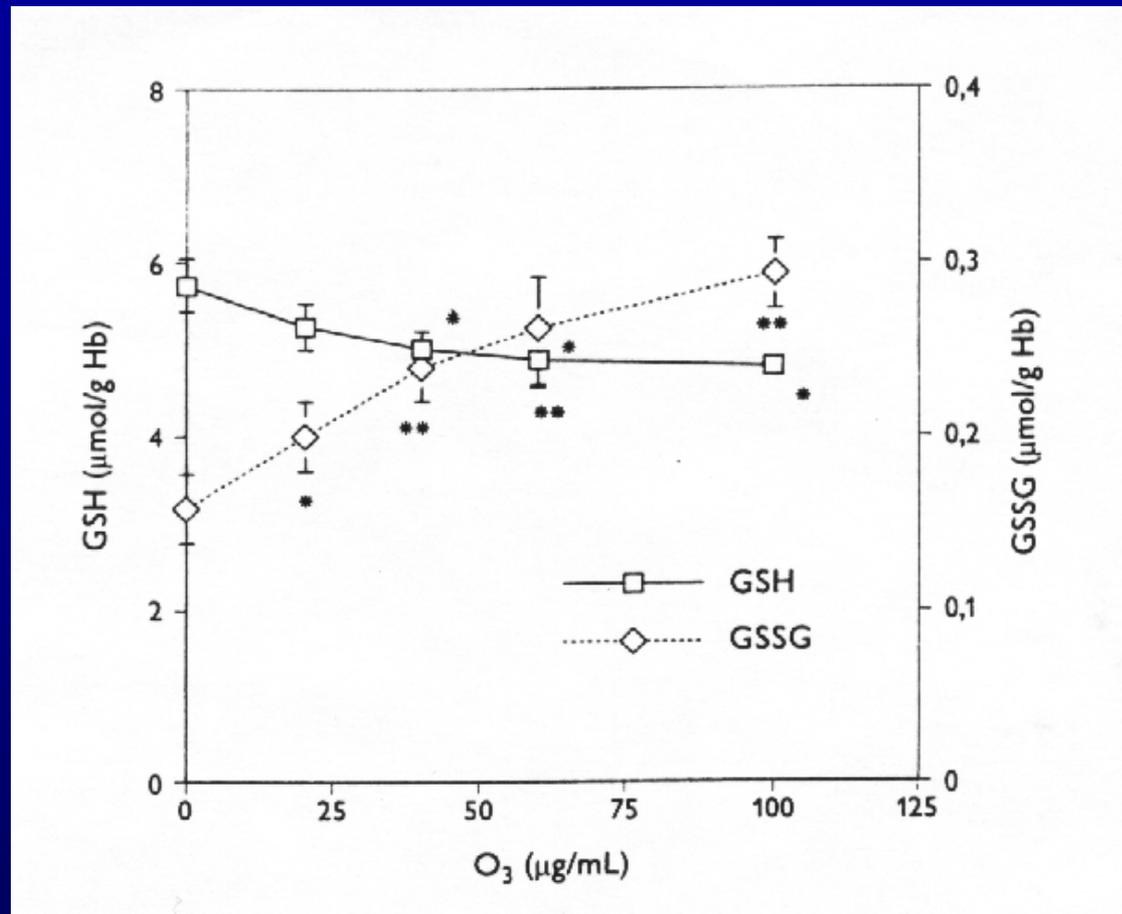
(Brunt K.B. et al.- Artheroscler. Thromb. Vasc. Biol., 2006)

EME OSSIGENASI

Enzima che avvia la degradazione a pigmenti biliari del gruppo porfirinico dell'Hb.

Aumenta nello stress ossidativo come fosse una risposta antiossidante.

Tale azione è mediata dal CO (monossido di carbonio) che è capace di inibire la reazione proinfiammatoria tipica dello stress ossidativo mediante effetti specifici sui geni che producono i mediatori proteici dell'infiammazione.



Questo diagramma dimostra come il GSH intraeritrocitario, ossidandosi in presenza di O₃ può evitare il danno cellulare. Il sangue umano era esposto a concentrazioni di O₃ fino a 100 µg/mL per mL di sangue. L'ossidazione del GSH genera GSSG che potrà essere successivamente ridotto a GSH (Shinriki et al., 1998).

Il declino del GSH intraeritrocitario è modesto (al massimo del 20%) e, entro 15-30 minuti, il livello si ripristina indicando un'ottima funzionalità del sistema redox. E' evidente che la cascata dei ROS generata dopo la solubilizzazione dell'ozono nel plasma ha una azione lesiva minima.

Modelli sperimentali di dolore neuropatico:

Iperalgesia

Allodinia

Iperespressione di geni pro-apoptotici

—————> corticali

Iperespressione di geni pro-infiammatori

Neuropatia indotta in topi mediante legatura e
taglio parziale del nervo sciatico

(SNI – Spared Nerve Injury)

(metodo chirurgico di : *Decostred e Woolf, 2000*)

Animale sottoposto a SNI mostra circa 15
giorni dopo:

sviluppo di iperalgesia termica

sviluppo di allodinia meccanica

animale di controllo: nessuno sviluppo

Intervento sottocutaneo con O_2/O_3 a basso dosaggio:

riduce lo sviluppo dell'allodinia meccanica, non modifica la soglia nocicettiva allo stimolo termico.

L'SNI induce aumento significativo dei livelli di esposizione dei geni caspasi-1, caspasi-8 e caspasi-12 a livello corticale frontale.

Il trattamento con ozono riduce i livelli di mRNA del gene caspasi-1 e normalizza i livelli di regolazione dei geni caspasi-8 e caspasi-12.

Significativa importanza dell'ozono come agente di blocco dell'espressione delle caspasi regolatorie coinvolte nei processi di morte cellulare, stress ed infiammazione nella corteccia limbica cerebrale.

Fattori di crescita rilasciati dopo ozono terapia:

PDGF – fattore di crescita di derivazione piastrinica

6FGF – fattore di crescita di derivazione fibroblastica

HGF – fattore di crescita di derivazione epatocitaria

EGD – fattore di crescita di derivazione epidermica

VEGF – fattore di crescita di derivazione endoteliale

CASPASI – cisteine proteasi che agiscono come molecole effettrici finali comuni nelle diverse forme di morte cellulare vengono ridotte dal trattamento con O_3 .

Dopo ozonoterapia:

Alcuni fattori aumentano

Alcuni fattori si riducono

Ciò spiega l'attività su diverse condizioni:

Emoreologia

Vascolarizzazione

Cicatrizzazione

Epitelizzazione

Ozono come smart drug o nootropo.

I nootropi lavorano aumentando il rilascio di agenti neurochimici (neurotrasmettitori, enzimi e ormoni) migliorando l'apporto di ossigeno al cervello o stimolando la crescita nervosa.

Neurotrasmettitori principali:

Acetilcolina

Dopamina

Norepinefrina

Serotonina

*American Journal of Physiology, Health and
Circulation Physiology*

Trattamento di ossigeno iperbarico aumenta di otto volte il numero di cellule staminali circolanti. Ciò avviene mediante l'aumento della sintesi di ossido nitrico nel midollo.

Il movimento o la mobilitazione delle cellule staminali può essere scatenato da un'ampia gamma di stimoli come agenti farmaceutici e trattamenti di ossigeno iperbarico. Ovviamente senza gli effetti collaterali associati ai farmaci.

La conversione tra GSH e GSSG è associata alla ossidazione del glucosio 6 fosfato e del 6 fosfogluconato a ribaloso 5-fosfato.

Tale ossidazione è catalizzata da 2 enzimi:

Glucosio 6 fosfato deidrogenasi G6PD

6 fosfogluconato deidrogenasi 6 PGD

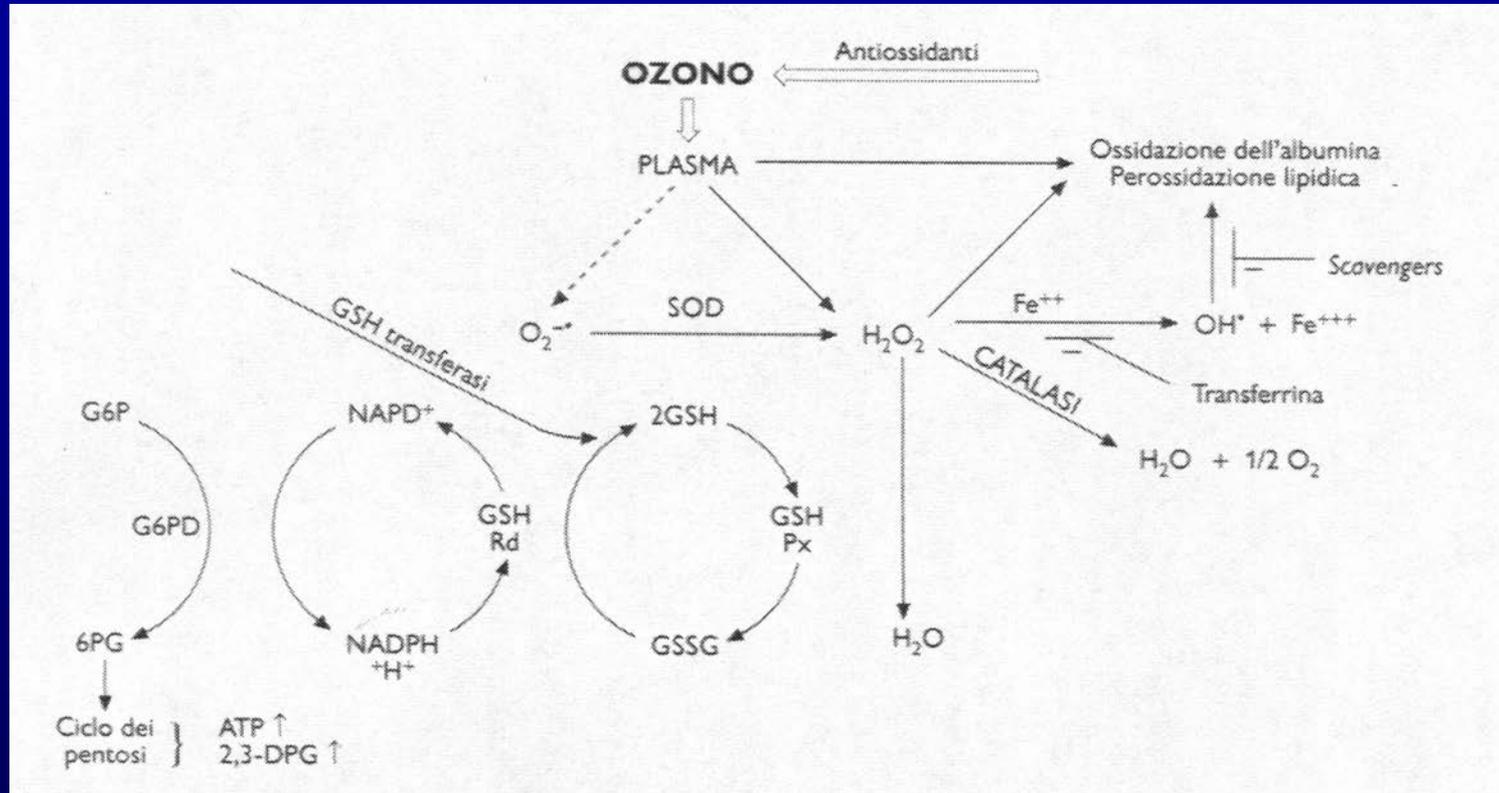
Durante la fase ossidativa il ciclo dei pentosofosfati genera 2 molecole di NADPH (nicotinamide adenindinucleotide fosfato ridotto).

Il NADPH è un composto riducente che protegge l'eritrocita dal danno ossidativo

Non si sono rilevati danni a carico di enzimi quali Na/K-ATPasi, acetilcolinesterasi, SOD, GSH-Px, GSH reduttasi e catalasi, suggerendo che il sistema antiossidante protegge adeguatamente (fino alla concentrazione di 100 $\mu\text{g/mL}$ di ozono) la globina e i vari enzimi impedendone la denaturazione (Shinriki et al., 1998). Se le aldeidi generate durante l'ozonizzazione avessero formato degli addotti con queste proteine, avremmo dovuto osservare una riduzione dell'attività enzimatica.

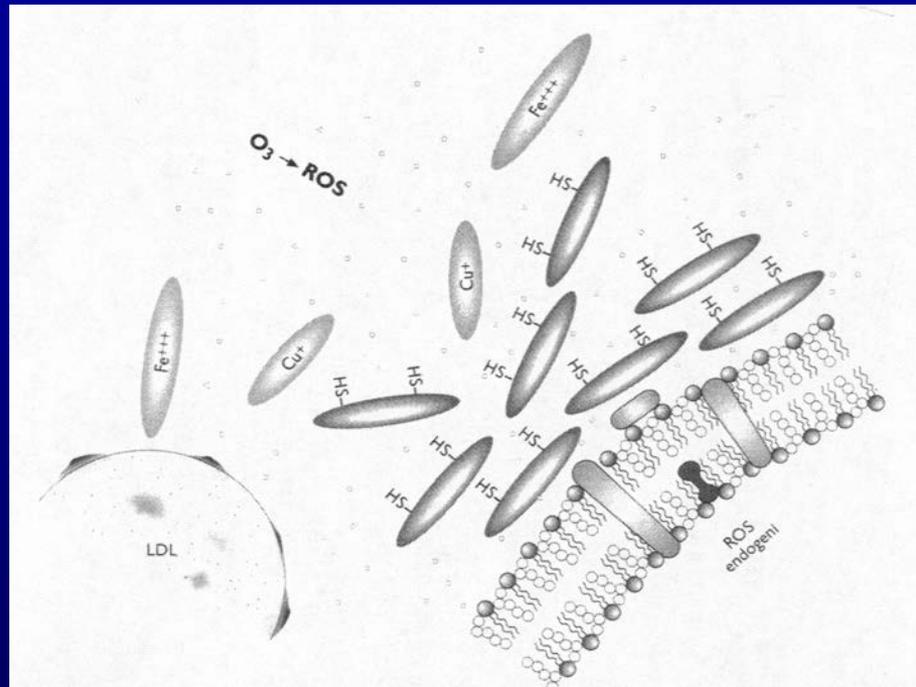
Se questi ultimi composti possono essere usati come biomarcatori di tossicità, i radicali perossilici, gli idroperossidi, gli isoprostani e alcune aldeidi potrebbero a bassi livelli plasmatici avere un potenziale ruolo di messaggeri (*Madden et al., 1993; Serhan 1994; Serhan et al., 1996; Morrow e Roberts, 1997; Parola et al., 1999*).

MODIFICAZIONI BIOCHIMICHE



La complessa serie di modificazioni biochimiche evocate durante l'esposizione del sangue umano all'O₃. Questo si discioglie nell'acqua del plasma e istantaneamente reagisce con una serie di substrati ossidabili e con gli antiossidanti solubili come acido urico, acido ascorbico, e albumina. La formazione di un leggero eccesso di H₂O₂ diffondendo nelle cellule, può attivare numerose vie metaboliche. L'eccesso di H₂O₂ è prontamente ridotto dal sistema antiossidante intracellulare.

OZONIZZAZIONE DEL SANGUE ATTUANDO UNO “STRESS OSSIDATIVO CALCOLATO E TRANSITORIO” CON 7-8 MG O₃



Contenuto di antiossidanti in 100 ml di sangue:

- acido ascorbico - 1,5 mg
- acido urico - 4,5 mg
- glucosio - 80,0 mg
- albumina - 2700 mg
- bilirubina - 0,8 mg
- cisteina, GSH, ecc.

Uno schema per immaginare la molteplicità dei substrati reagenti con l'ozono disciolto nell'acqua del plasma. Piccoli punti, quadrati e rettangoli indicano le molecole degli antiossidanti idrosolubili (acido urico, ascorbico, glucosio, cisteina, ecc.). Le grandi molecole albuminiche, ellissoidi, contengono molti gruppi —SH esposti e si dispongono come una nube protettiva sulla membrana eritrocitaria, in cui è visibile lo strato bimolecolare costituito dai fosfolipidi e dal colesterolo. Molecole quali transferrina e ceruloplasmina legano Fe³⁺ e Cu⁺. Parte di una molecola lipoproteica è visibile sul quadrante inferiore sinistro. In contrapposizione all'ozono come fugace ossidante esterno abbiamo l'incessante produzione dei ROS endogeni. Al confronto, l'attacco dell'ozono è transitorio e ben controllabile.

Un'altra molecola che può formarsi durante la reinfusione del sangue ozonizzato a contatto con l'endotelio vasale è il monossido di azoto (NO•). Le cellule endoteliali contengono costitutivamente la NO sintetasi, in quanto la produzione di NO• è pressoché continua come fattore fisiologico dilatante (antagonista delle endoteline, leucotriene LTB4, trombossano A2, angiotensina II, ecc.) e regolatore del tono vasale (*Michel e Feron, 1997*).

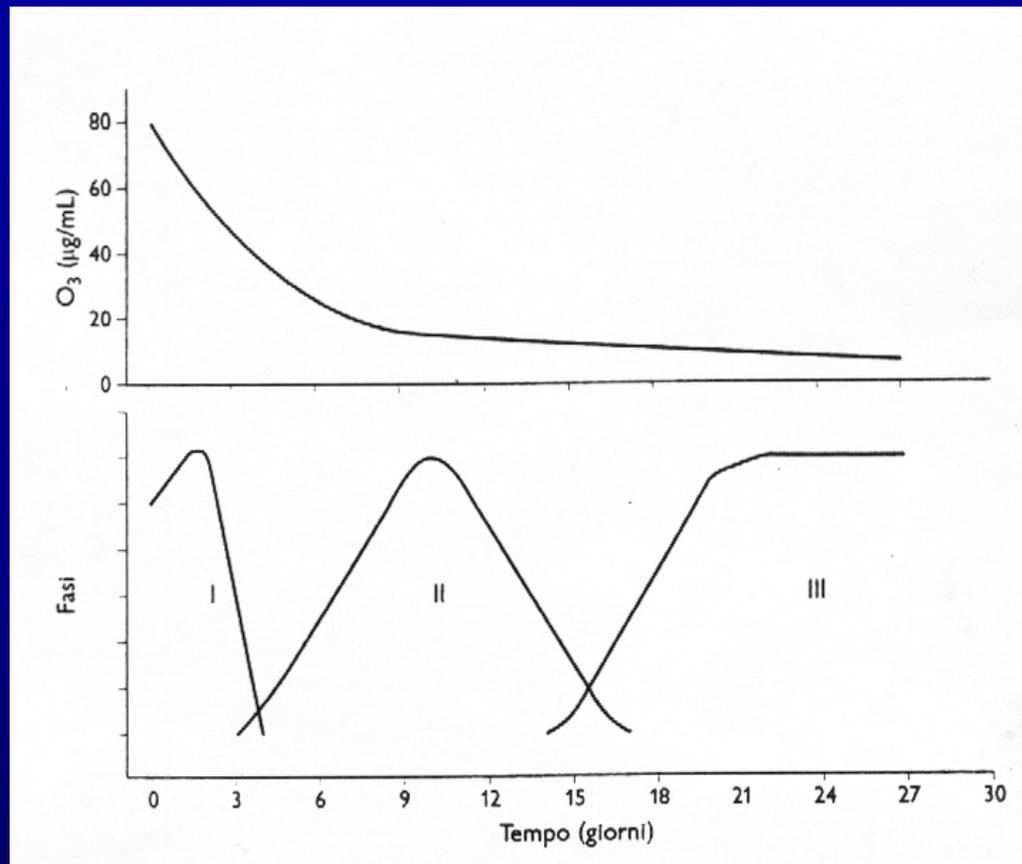
Su colture di cellule endoteliali umane esposte brevemente a plasma ozonizzato è stata evidenziata una maggiore produzione di NO che può far pensare ad una vera e propria induzione di NO sintetasi. Tale enzima trasforma la L-arginina in L-citrullina con liberazione di NO, che agendo sui recettori delle cellule muscolari lisce attiva la guanilato ciclasi.

Il nitrossido e il principale secondo messaggero che esso genera, il GMPc hanno un ruolo fondamentale nel controllo fisiologico della risposta immunitaria e nella trasmissione neuromorale centrale e periferica.

La presenza di H_2O_2 stimola la formazione di VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) fattore di stimolo della neoangiogenesi utile sia nella formazione di circoli collaterali che nel tessuto di granulazione e cicatrizzazione.

In condizioni di danneggiamento sul microcircolo mediante attivazione di diversi mediatori chimici, coagulazione, formazione di complemento e cascata dei fattori di crescita si generano cellule infiammatorie che si accumulano in sede lesionale consumando un'eccessiva quantità di O_2 e creando un ambiente ipossico ideale per la sovrainfezione batterica.

L'endotelio in questa fase produce minore quantità di fattore di attivazione del plasminogeno tissutale (tPA) e maggiori quantità degli inibitori dello stesso: PAI-1 e PAI-2. Si determina così un deficit progressivo del potenziale fibrinolitico (concausa di fenomeni trombotici).



Le tre fasi del processo di cicatrizzazione di un'ulcera torpida.

I Fase – infiammazione

II Fase – granulazione o ricostruzione che procede per circa 2 settimane. L'ozono a concentrazioni molto basse può stimolare questo processo attivando la proliferazione cellulare e la sintesi di collagene III/I, acido ialuronico e condrotin-solfato.

III Fase - rimodellamento del tessuto con lo scopo della *restitutio ad integrum*. I cheratinociti raggiungono la confluenza e si ha la completa repitelizzazione.

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE DELL'OZONO

Aumento della glicolisi

- La demolizione aerobica del glucosio libera energia utilizzata per la sintesi di ATP.
- Nelle patologie degenerative ed infiammatorie e nel muscolo scheletrico sottoposto a sforzo violento aumenta la richiesta di ATP.

- Aumenta quindi la velocità dei processi ossidativi mitocondriali. Questo soltanto in parte serve a compensare la maggior richiesta di ATP.

- L'ozono, accelerando il processo di glicolisi, garantisce una costante riossidazione del NADH conducendo ad una aumentata sintesi di ATP.

•La somministrazione di ozono induce, a basse concentrazioni, una riduzione della viscosità ematica globale e dell'aggregabilità piastrinica.

•Tali modificazioni eritrocitarie sono testimoniate da un aumento della filtrabilità eritrocitaria nei capillari più piccoli, dove le emazie invece di muoversi disordinatamente si allineano e procedono lungo l'asse del vaso disponendosi a pila (*effetto Fahraeus-Lindquist*), aumentano la deformabilità facilitando così gli scambi metabolici.

L'ozono reagisce con i doppi legami degli acidi grassi insaturi di membrana; ciò a livello eritrocitario ne influenza il metabolismo causando demolizione di carboidrati e relativa produzione di 2.3 DPG.

L'ozono interagendo con gli acidi grassi poliinsaturi (PUFA), con i composti riducenti (GSH) e con le proteine ricche di cisteina, crea prodotti di perossidazione lipidica (LOP).

I LOP aumentano la via glicolitica eritrocitaria stimolando la formazione di 2,3 DPG e aumentando la p50st (indice del rilascio di ossigeno in periferia). Stimolano inoltre l'eritropoiesi con eritrociti maggiormente dotati per variazioni della composizione fosfolipidica di membrana.

La p_{50st} può essere interpretata come una misura indiretta della concentrazione di 2,3 DPG negli eritrociti, perché aumenti o diminuzioni della stessa implicano, rispettivamente, aumenti o diminuzioni della concentrazione di 2,3 DPG.

Incrementati i valori di p_{50} indicano uno spostamento della curva di dissociazione dell'ossigeno verso destra a causa della diminuzione dell'affinità dell'Hb per l'ossigeno stesso. La bassa affinità facilita la dissociazione dell'HbO₂ a livello delle cellule dei tessuti periferici.

La spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS, Near Infrared Spectroscopy) è stata indicata negli “*Annals of the New York Academy of Sciences*” come una tecnologia tra le più promettenti nel monitoraggio finalizzato alla neuroprotezione

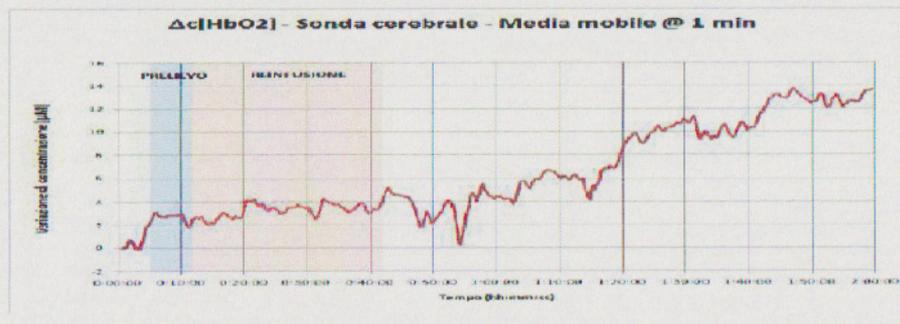
L'emoglobina ossigenata (HbO_2) e l'emoglobina deossigenata (Hb) hanno spettri di assorbimento differenti nel NIR. Tale caratteristica permette di misurare separatamente le due forme di Hb e quindi la saturazione in ossigeno dell'Hb nei tessuti studiati.

MIGLIORAMENTO DELL'OSSIGENAZIONE CEREBRALE DOPO OZONOTERAPIA ESAME EFFETTUATO CON APPARECCHIO NIMO PER OSSIMETRIA TISSUTALE

Ozonizzatore ad alta precisione Multiossigen PM95

TEST #2 - GORLE - 13/07/2011

PARAMETRO	DESCRIZIONE
Paziente	DONNA, ETA' / / , PESO / /
Posizione sonda cerebrale	Zona frontale dx
Posizione sonda miscolare	Tibiale anteriore dx
S/N Strumento	N01R
Tattamento	Prelievo e re-infusione in seguito a trattamento con ozono
Protocollo seguito	
00:01:00 - 00:01:20	Test di apnea
00:05:00 - 00:11:37	Prelievo di sangue _____ mg
00:11:37 - 00:42:00	Reinfusione
00:42:00 - 01:57:00	Monitoraggio
01:57:00 - 01:57:24	Test di apnea
01:59:00 - 01:59:24	Test di apnea



L'interpretazione del test riguarda essenzialmente i seguenti punti:

- In seguito al trattamento con ozono si nota un aumento significativo della concentrazione di emoglobina ossigenata
- L'effetto è riscontrabile solo dopo almeno un'ora dall'inizio del trattamento
- Contemporaneamente l'emoglobina non ossigenata rimane pressoché costante indicando così un aumento dell'ossigenazione cerebrale a parità di consumo di ossigeno

MIGLIORAMENTO DELL'OSSIGENAZIONE CEREBRALE E CONSEGUENTE MIGLIORAMENTO DEL MICROCIRCOLO CEREBRALE DOPO OZONOTERAPIA

Esami effettuati con NIMO per ossimetria tissutale e immagini tramite PET. Ozonizzatore ad alta precisione certificato Multioxygen PM95

TEST #2 - GORLE - 11/07/2011

PARAMETRIC	DESCRIZIONE
Faziente	DONNA, ETA' / PESO
Posizione sonda cerebrale	Zona frontale dx
Posizione sonda muscolare	Tibiale antero-infr
S/N Strumento	NO25
Intervento	Presevo re infusione in seguito a trattamento con ossio
Protocollo seguito	
0001:00 - 0001:20	Test di apnea
0001:00 - 0011:37	Prelevati sangue _____ 11g
0011:37 - 0012:00	Rinfusione

$\Delta c[HB02]$ - sonda cerebrale - media mobile @ 1 min



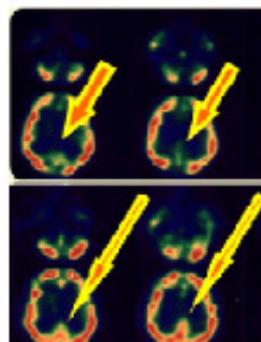
L'interpretazione del test riguarda essenzialmente i seguenti punti:

- In seguito al trattamento con ossio si nota un aumento significativo della concentrazione di emoglobina ossigenata
- L'effetto è riscontrabile solo dopo almeno un'ora dall'inizio del trattamento
- Contemporaneamente l'emoglobina non ossigenata rimane pressoché costante indicando così un aumento dell'ossigenazione cerebrale a parità di consumo di ossigeno
- Quindi una situazione migliorata nella funzionalità in quanto viene meglio captato l'ossigeno presente. Il tutto si traduce in:
 - miglioramento del microcircolo cerebrale
 - aumento dell'attendenza
 - miglioramento delle attività cognitive e della memoria
 - diminuzione della spasticità o infiammazione neurotrascoloric
 - Anti aging (anti invecchiamento).

SIGOT ringrazia

Prof. *Martino Franzini*, Prof. *Vincenzo Simoneci*, Prof. *Fraancesco Valera*,
 Prof. *Luigi Verdenesi*, Dott. *Stefano Porroli*, Dott. *Valeria Lironi* e Prof. *L. Giuseppe*
 Bibliografia scientifica a richiesta su www.ossigenoossio.it

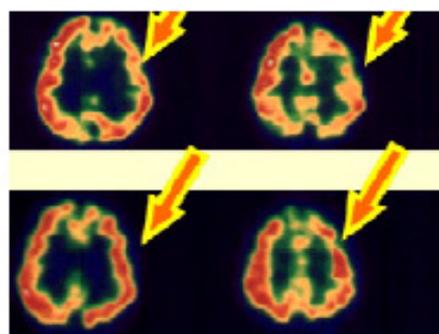
Donna 52 anni



Basale

Dopo 21 sedute

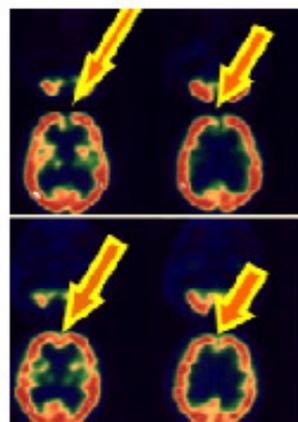
Uomo 67 anni



Basale

Dopo 16 sedute

Donna 83 anni



Basale

Dopo 16 sedute

ATTIVITA' SUL SISTEMA IMMUNITARIO

Dati di laboratorio hanno evidenziato un ruolo induttivo modulante da parte dell'ozono sulla produzione di:

- interferone (IFN) α , β e γ
- fattore di necrosi tumorale (TNF α)
- interleuchina (IL)1,2,4

(Bocci et al., 1997)

- Campioni di sangue incubati con la miscela O_2O_3 hanno evidenziato un incremento della produzione da parte dei leucociti di chemochine ed in particolare di interferone γ (IFN γ) e di transforming growth factor (TGF- β 1).

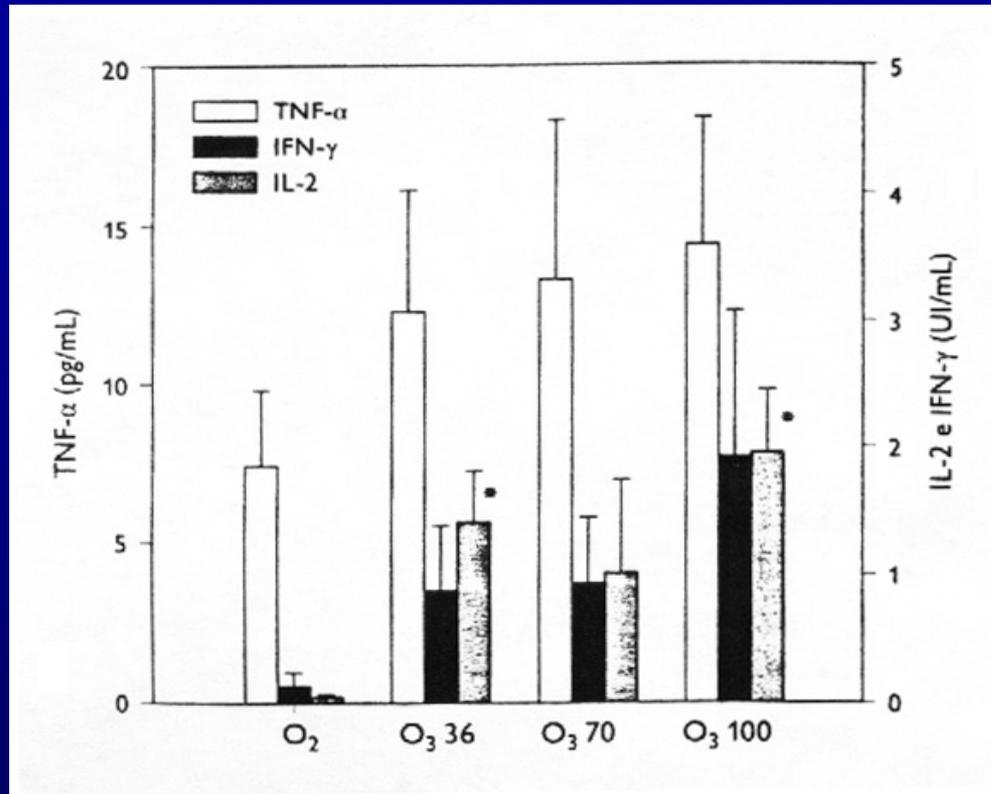
- Questo fenomeno potrebbe dipendere:

- dall'azione diretta dell' O_3

- dalle attivazioni geniche che la perossidazione lipidica ed i suoi prodotti esercitano sui diversi tipi

cellulari. *Bocci V. "Physicochemical and biological properties of interferons and their potential uses in drug delivery systems" Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst." 9-91, 133. 1992*

Diversi studi sulle cellule mononucleate, cioè linfociti e monociti, hanno dimostrato la produzione di IFN- γ (Bocci e Paulesu, 1990), e accertato il rilascio di IFN- β , di altre citochine, cioè l'interleuchina (IL) 2,6,8, del cosiddetto fattore della necrosi tumorale (TNF- α), del fattore di crescita β (TGF- β) e di una granulopoietina (GM-CSF) (*Paulesu et al., 1991; Bocci et al., 1993a,b; 1994b; 1998b,c*).

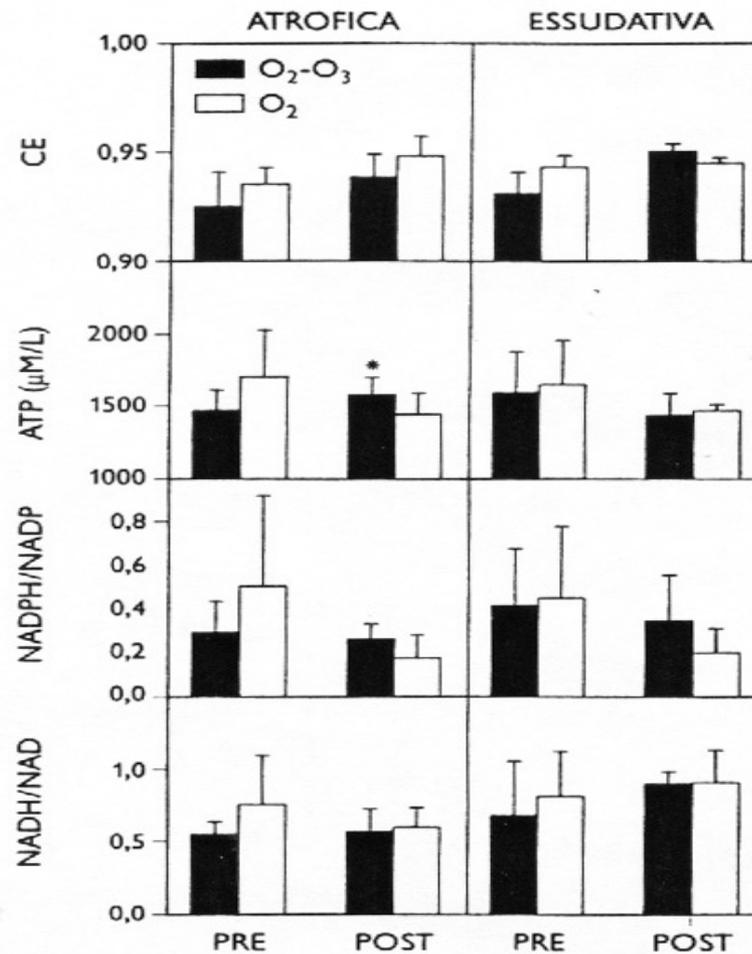


Effetto di crescenti concentrazioni di O₃:36,70 e 100 µg/mL per mL di sangue sulla produzione di TNF-α, IFN-γ e IL-2 in campioni di sangue di 3 donatori dopo incubazione a 37° C in aria-CO₂ (pH 7,4) per 9 ore. Le differenze significative (P<0,05) sono indicate con l'asterisco rispetto al controllo (solo O₂).

L'IFN è una proteina prodotta da cellule epiteliali, da linfociti durante uno dei tanti possibili contatti delle nostre cellule con agenti estranei (induttori) quali virus, tossine ed anche agenti ossidanti quali acqua ossigenata, periodati e gattalosio ossidasi



Le attivazioni osservate suggeriscono un potenziamento, nei campioni di sangue, delle difese immunitarie aspecifiche.



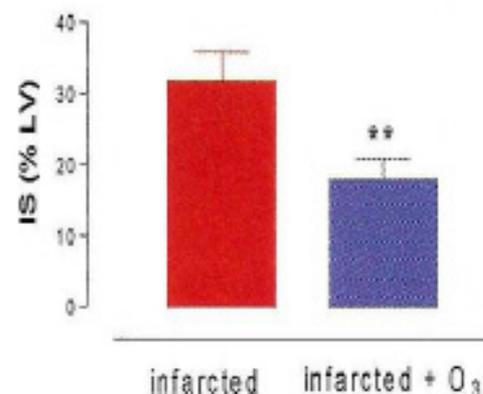
Modificazioni dei livelli di ATP, della carica energetica (CE) e dei rapporti NADPH/NADP e NADH/NAD in pazienti con la forma atrofica o essudativa della maculopatia degenerativa senile prima e dopo trattamento con 13-14 sedute di autoemoterapia con solo O_2 oppure con O_2-O_3 .

Dall'analisi della figura si evidenzia che l'ATP è aumentata al termine del ciclo terapeutico, indicando un aumento della sintesi non negli eritrociti immediatamente durante l'ozonizzazione, ma soltanto a seguito di una lenta immissione in circolo di eritrociti funzionalmente più attivi prodotti dal midollo in risposta a mediatori ancora sconosciuti.

Si può pensare che durante la terapia aumentino le esigenze biosintetiche ed energetiche così da attivare la glicolisi eritrocitaria (*Chow e Tappel, 1973; Buckley et al., 1975; Freeman et al., 1979; Hernandez et al., 1995*).

Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct

O₃ riduce l'estensione dell'infarto



**P<0.01 vs infarcted

IS (infarct size)= **estensione del tessuto necrotico**
in rapporto al peso totale del ventricolo sinistro (IS/LV)
non perfuso - e non colorato in Blue-
dopo iniezione di Blue di Evans (1ml al 2%)

C. Di Filippo¹, R. Marfella², P. Capodanno³, F. Ferraraccio⁴, L. Coppola², M. Luongo³, L. Mascolo³, C. Luongo³,
A. Capuano¹, F. Rossi¹ and M. D'Amico¹

¹ Department of Experimental Medicine, Section of Pharmacology "L. Donatelli", Second University of Naples, Via Costantinopoli 16,
80138 Naples, ITALY, e-mail: michele.damico@unina2.it

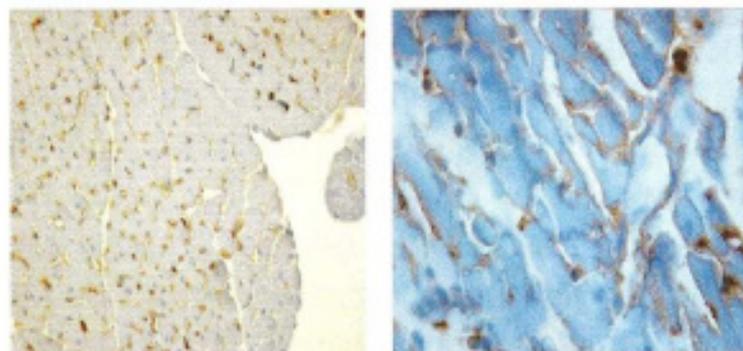
² Department of Geriatrics and Metabolic Diseases Second University of Naples, Italy

³ Department of Anaesthesiological, Surgical and Emergency Sciences, Second University of Naples, Italy

⁴ Department of Clinical, Public and Preventive Medicine Second University of Naples, Italy

Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct

l'immunoistochimica per la Caspase-3 (indice di cellule apoptotiche) viene ridotta dal pretrattamento con O_3



Cuore infartuato

Cuore infartuato + O_3

Conclusioni

Il pre-trattamento con miscela O_2O_3 ha un effetto protettivo sull'infarto acuto del miocardio, forse attraverso una modulazione esercitata sui network ossidativo, infiammatorio, immunitario e apoptotico.

Potrebbe costituire una strategia terapeutica per evitare (limitare) l'insorgenza delle alterazioni cellulari provocati dalla sequenza ischemia-riperfusione.



il trattamento con ossigeno-ozono determina

Incremento

deformabilità-filtrabilità

eritrocitaria

Riduzione

viscosità plasmatica

ed ematica globale

Riduzione

fibrinogeno plasmatico

allungamento tempo

trombina

Oxygen-ozone therapy and haemorheological parameters in peripheral chronic arterial occlusive disease

L. COPPOLA, G. VERRAZZO, R. GIUNTA, *C. LUONGO, *A. SAMMARTINO, **R. RAGONE, **D. VINCENTI, A. GRASSIA, A. TIRELLI

TROMBOSI & ATEROISCLEROSI: VOL. 3 - N. 2 - 1992

Variazioni della viscosità ematica e dell'aggregazione piastrinica indotte dall'ozono medicale a diverse concentrazioni: studio *in vitro*

L. Coppola, G. Verrazzo, *C. Luongo, *A. Sammartino, L. Misso, R. Varano, R. Giunta, A. Grassia, **R. Ragone, A. Tirelli. *Rend. Atti Accad. Sci. Med. Chir.* 1993, 147: 155-167



Undersea & Hyperbaric Medicine, Vol. 22, No. 1, 1995

Hyperbaric oxygen, oxygen-ozone therapy, and rheologic parameters of blood in patients with peripheral occlusive arterial disease

G. VERRAZZO, L. COPPOLA, C. LUONGO, A. SAMMARTINO, R. GIUNTA, A. GRASSIA, R. RAGONE, and A. TIRELLI

R. Giunta · A. Coppola · C. Luongo · A. Sammartino
S. Guastaffiero · A. Grassia · L. Giunta · L. Mascolo
A. Tirelli · L. Coppola

Ann Hematol (2001) 80:745-748

Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease

Etiopatogenesi
del
Dolore Rachideo

L'affermazione: “l’ernia del disco genera dolore perché comprime la radice nervosa” ha assunto un valore quasi dogmatico e pertanto accettato acriticamente.

Molte persone convivono con la propria ernia discale diagnosticata casualmente.

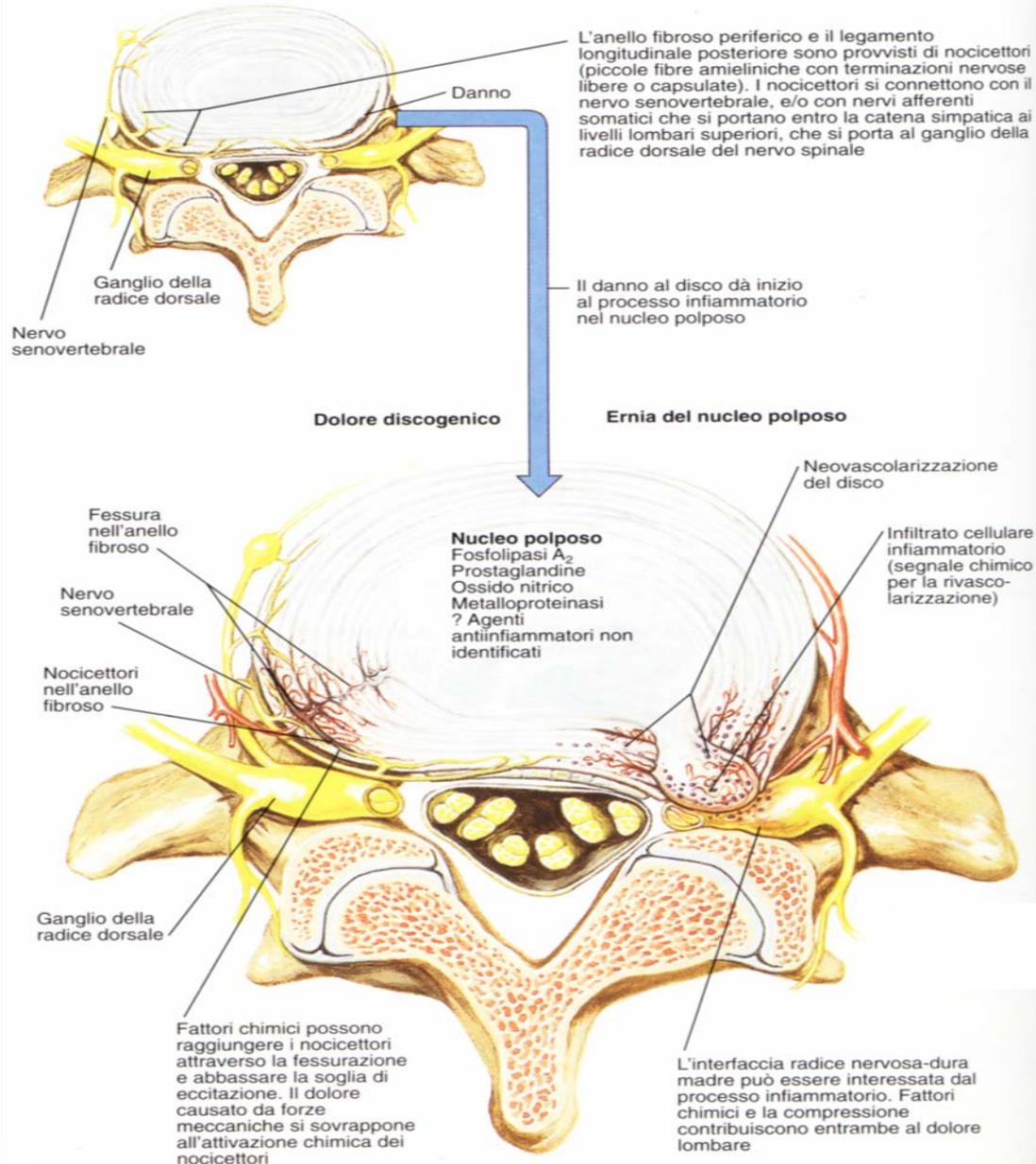
Molte persone convivono con la propria ernia discale tra un attacco algico e l'altro, pur nella persistenza della compressione nervosa.

Non è possibile, nel 50% dei casi stabilire una correlazione tra la dimensione dell'ernia e l'entità della sintomatologia dolorosa a parità di ampiezza del canale vertebrale.

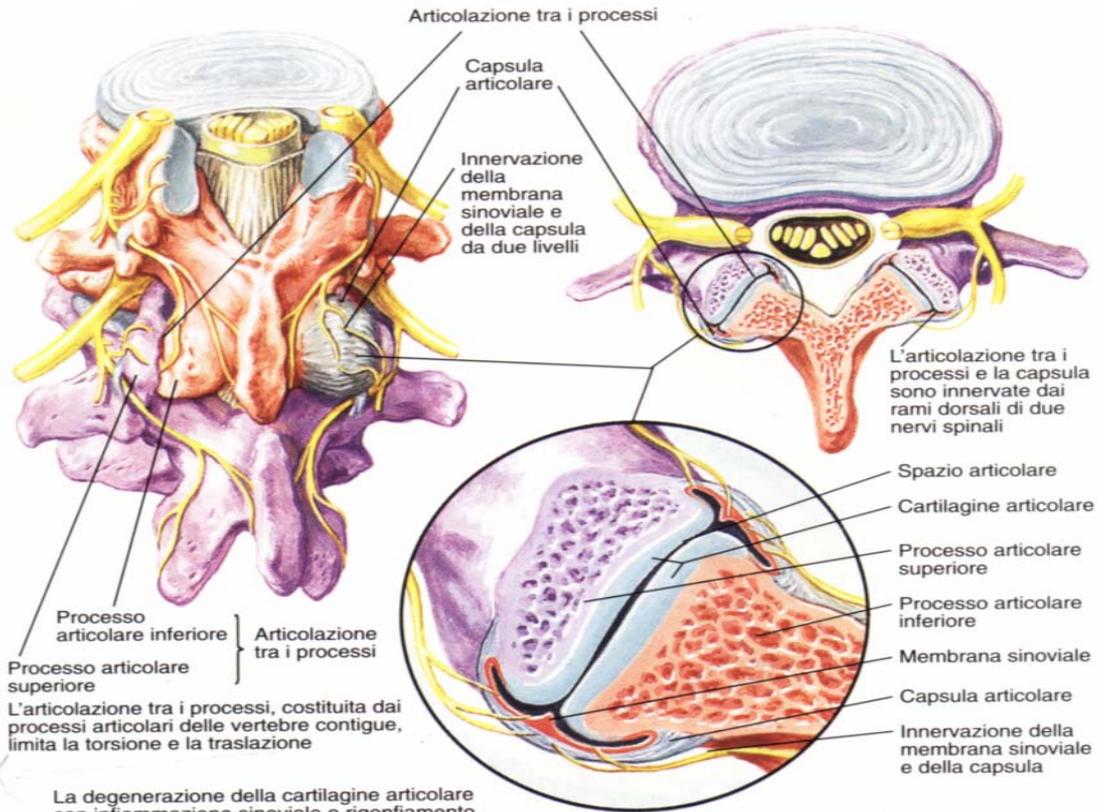
In casi numericamente non trascurabili la terapia medica o alcune terapie chirurgiche microinvasive (ozono terapia intramuscolare o intradiscale) risolvono il sintomo dolore senza nessuna variazione strutturale della propria ernia discale.

In casi numericamente non trascurabili, le terapie chirurgiche pur rimuovendo la compressione discale non risolvono il sintomo dolore.

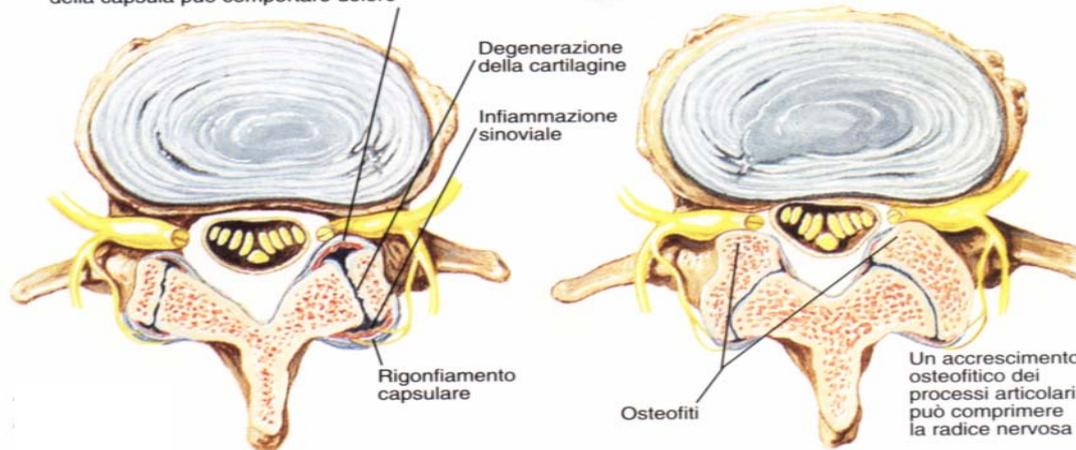
Ruolo dell'infiammazione nel dolore lombare



Articolazioni tra i processi articolari



La degenerazione della cartilagine articolare con infiammazione sinoviale o rigonfiamento della capsula può comportare dolore



FATTORI PATOGENETICI DEL DOLORE RADICOLARE

- Meccanici *diretti*
indiretti
- Infiammatori

FATTORI MECCANICI DIRETTI

In relazione all'assenza di nocicettori nella guaina e nel contesto del nervo questi sono legati a:

- Compressione del ganglio spinale (nelle ernie intra ed extraforaminali)
- Deformazione e stiramento dei legamenti e dell'anulus
- Deformazione e stiramento delle fibre nervose con frammentazione della guaina mielinica e possibile insorgenza di anomalie di conduzione

FATTORI MECCANICI INDIRECTI

Sono definiti come vasculomediati e possono essere suddivisi in:

- Ischemici, con disturbi trofici del nervo dovuti a compressione sugli afferenti arteriosi e sul microcircolo del fascio nervoso e conseguente demielinizzazione anossica secondaria delle fibre nervose.
- Da stasi venosa, con edema e disturbi trofici del nervo da blocco parziale o totale del reflusso venoso (specie nelle ernie intraforaminali).

COMPONENTE INFIAMMATORIA

L'infiammazione neurale e perineurale gioca un ruolo preminente nella patogenesi del dolore radicolare (questo spiega i benefici effetti della terapia corticosteroidea)

- Reazione infiammatoria immunomediata
- Reazione infiammatoria secondaria a fattori biumorali legati al tessuto discale

Sono ben note evidenze sperimentali che dimostrano come il materiale discale estruso dalla sua sede naturale causi fenomeni infiammatori di tipo immunitario.

- Un'ipotesi accreditata si riferisce al disco intersomatico che è segregato dal punto di vista umorale, rispetto al sistema immunitario fino a quando è contenuto nella struttura fibrocartilaginea dell'anulus.
- Una volta erniato, esso verrebbe riconosciuto come “non self” dal sistema immuno-competente, stimolando una reazione negli altri tessuti di tipo prevalentemente cellulo-mediato.

Ulteriori evidenze sperimentali sono:

- il reperimento di macrofagi con espressione del gene IL 1 β , caratteristica delle reazioni autoimmuni.
- La riduzione dell'iperalgia conseguente a leucopenia farmaco-indotta in condizioni sperimentali.

Kawakami M, et al.: Role of leukocytes in radicular pain secondary to herniated nucleus pulposus. Clin. Orthop. 376: 268-77, 2000

Fosfolipasi A2 (PLA2)

- Il materiale discale erniato contiene livelli molto alti di PLA2.
- La PLA2 è un potente induttore della reazione infiammatoria in quanto la sua azione enzimatica sull'acido arachidonico porta alla produzione di mediatori chimici maggiori di infiammazione quali le prostaglandine ed i leucotrieni.
- Inoltre, la PLA2 può danneggiare direttamente le fibre nervose attaccando i fosfolipidi di membrana del nervo e della guaina perineurale.

Metalloproteinasi (MMPs)

c'è una produzione di questi enzimi che, attaccando il tessuto discale, incrementa la reazione infiammatoria

Prostaglandina E2 (PGE2)

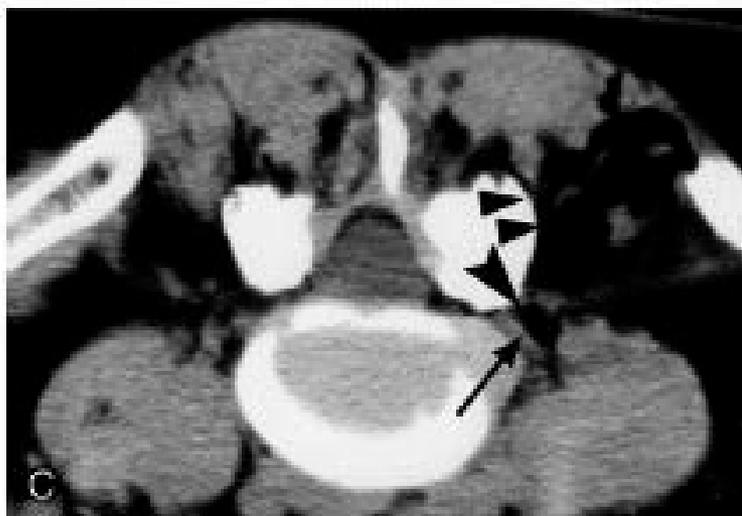
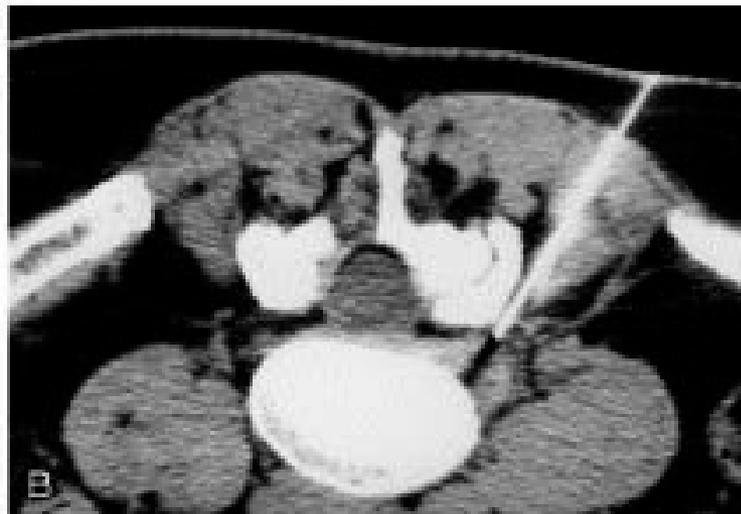
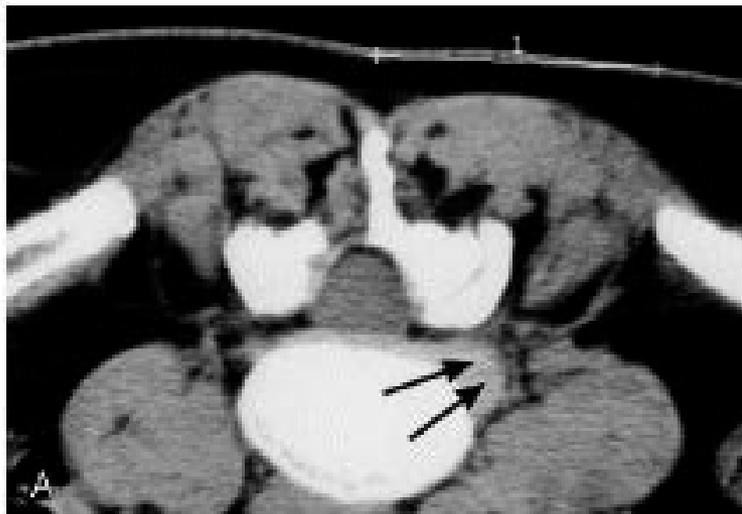
induttore potente della reazione infiammatoria; essa è prodotta direttamente dal tessuto discale o anche con l'intervento enzimatico della PLA2; lo stesso discorso vale per l'**interleukina 6 (IL6)**.

Una evidenza speculativa dell'importanza di questo meccanismo è l'alto livello di anticorpi anti-pso P27 (che è un marker per i processi infiammatori di origine autoimmune) ritrovati nel liquor di pazienti con lombalgia e sciatica.

Zwart JA et al.: Higher levels of antibodies against the psoriasis-associated antigen pso P27 in cerebrospinal fluid from patients with low back pain and sciatica. SPINE 24(4): 373-7, 1999



Distribuzione della miscela gassosa a livello muscolare e in corrispondenza del forame di coniugazione dopo 6 sedute con Tecnica Classica.



**A, L4-L5 ernia discale
intraforaminale destra
(frece)**

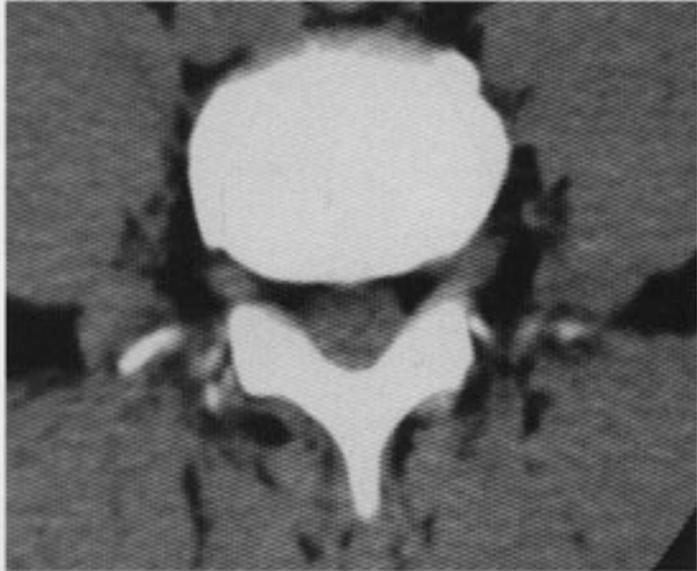
**B, Corretto posizionamento
dell'ago**

**C, Distribuzione della miscela
gassosa nell'area erniata e
nelle faccette articolari**

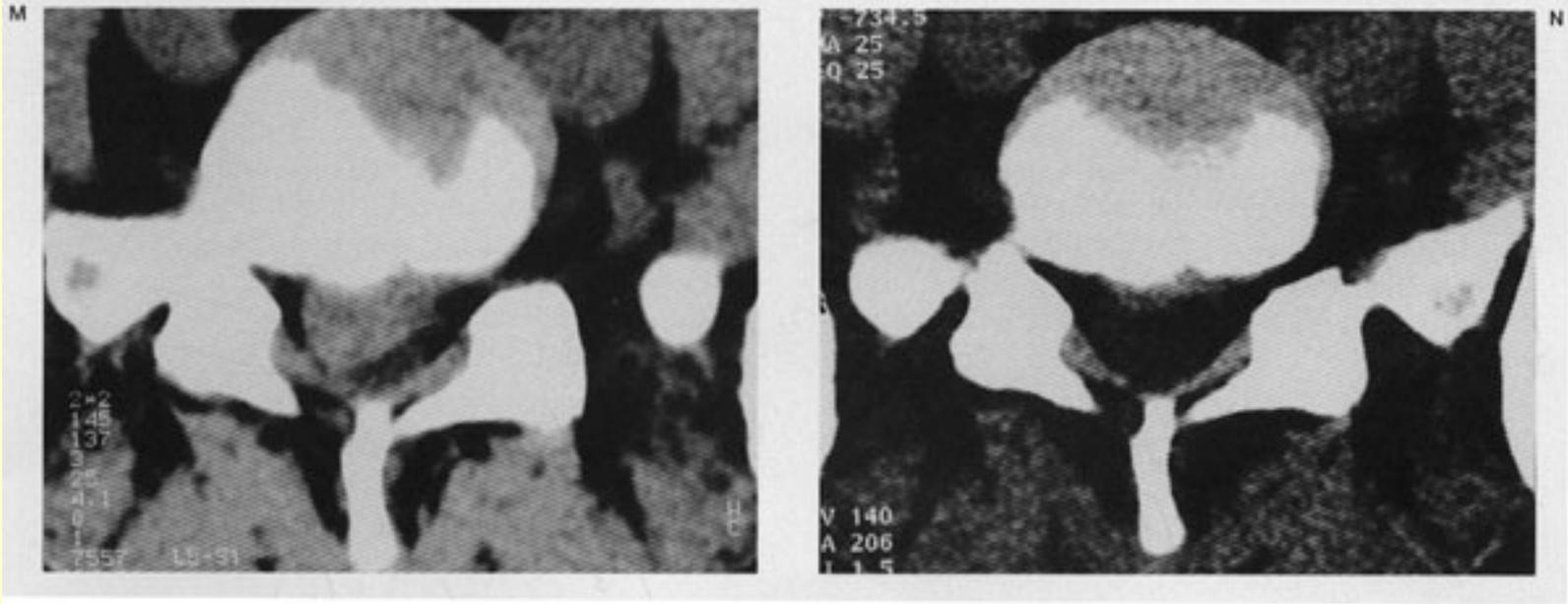
E



F



Risultati dopo ossigeno-ozono terapia: ernia intraforaminale sinistra L4-L5



M, N) ernia espulsa destra L5-S1

AP -30.0
LR -24.0
AX
LR-24°
AP+06°
5.00mm

QNP

2.5
0
cm

R
H

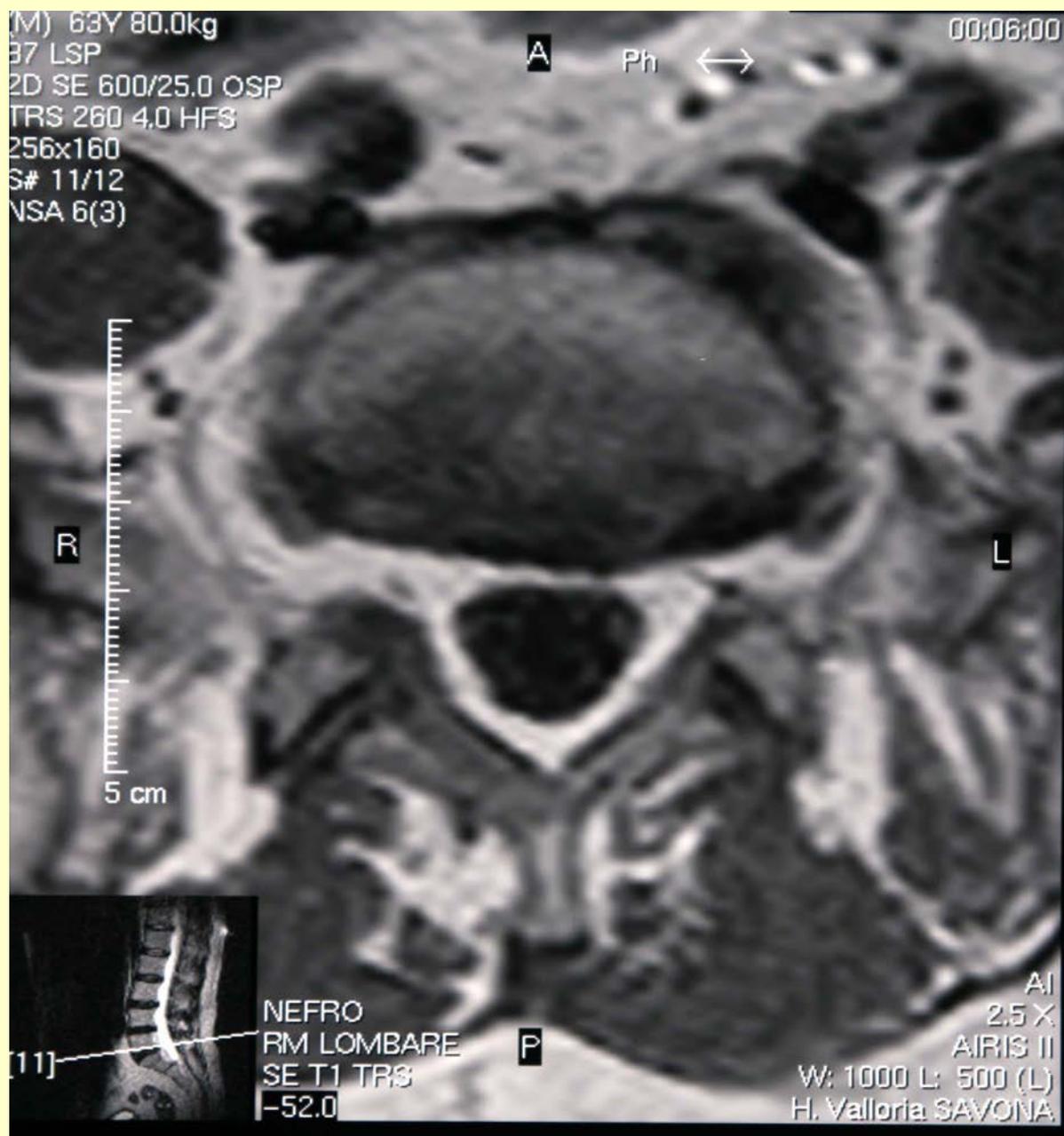
L

TR: 4000
TI: 100
TE: 16
Multi: 11/ 14
ECHO: 1/ 1
FOV: 20cm
NEX: 4
MAT: 192H/256V
05min37sec



MAG: 1.4 x= -0.14cm y= +0.29cm PHL
WW384 WL138

T.M.A. GENOUR



ATTIVITA' DELL'OSSIGENO OZONO SULLA PATOLOGIA DISCALE

- neutralizzazione dei ROS endogeni con produzione locale di enzimi antiossidanti;
- inibizione del rilascio di proteinasi dai macrofagi e dai polimorfonucleati neutrofili;
- aumentato rilascio di antagonisti o di recettori solubili in grado di neutralizzare la serie di citochine proinfiammatorie quali Il-1, Il-2, Il-8, Il-12, IL-15, IFN- γ , TNF- α ;
- aumentato rilascio di citochine immunosoppressive quali TGF- β 1, IL-10, (IFN- β 1) in grado di inibire eventuali cloni citotossici.

La terapia con ozono induce una rapida riduzione del dolore articolare e dell'edema migliorando la mobilità e la funzione articolare. Questo avverrebbe mediante:

- *inibizione della sintesi della prostaglandine pro-infiammatorie*
- *inibizione della liberazione di bradichinina o di composti algogeni*



Grazie per l'attenzione