Istituto San Celestino®

Manuale d'utilizzo e protocolli

REDATTO DA
ISTITUTO SAN CELESTINO®

Indice dei contenuti

1.	*Ozono: nozioni generali*	*6*
1.1.	*Funzioni dell'ozono*	*9*
2.	*Meccanismo d'azione dell'ozono*	*11*
2.1.	*Gli effetti biologici indotti dai ROS e LOPs*	*16*
2.1.1.	*Attivazione dei ROS*	*16*
2.1.2.	*H_2O_2 e LOPs come messaggeri biologici dell'ozono*	*20*
2.2.	*Come giustificare l'ozono nella pratica clinica?*	*24*
2.3.	*Interazione tra ozono e sangue*	*27*
2.4.	*Effetti dell'ozono sul sistema vascolare*	*29*
3.	*Proprietà dell'ozono*	*31*
3.1.	*Proprietà antimicrobiche dell'ozono*	*31*
3.2.	*Proprietà antivirali dell'ozono*	*33*
3.3.	*Proprietà sporicide, fungicide e protozoocide dell'ozono*	*35*
3.4.	*Attività antinfiammatoria e antiossidante dell'ozono*	*37*
4.	*L'ozonoterapia nella pratica clinica*	*38*
4.1.	*L'ozonoterapia nelle patologie infettive*	*40*
4.2.	*L'ozonoterapia nel trattamento di virus erpetici*	*40*
4.3.	*L'ozonoterapia nel trattamento di infezioni da Rhinovirus*	*41*
4.4.	*L'ozonoterapia nei tumori metastatici*	*41*
4.5.	*L'ozonoterapia nei trattamenti analgesici*	*42*
4.6.	*L'ozonoterapia nelle patologie articolari*	*44*
4.7.	*L'ozonoterapia nel trattamento delle ernie discali*	*46*
4.8.	*L'ozonoterapia nelle patologie ischemiche*	*47*
4.9.	*Uso dell'ozono in odontoiatria*	*48*
4.10.	*Effetti dell'ozonoterapia sul microcircolo*	*48*
4.11.	*L'ozonoterapia nelle ulcere*	*49*
4.12.	*L'ozonoterapia nelle disbiosi intestinali*	*51*
5.	*Vie di somministrazione dell'ozonoterapia*	*53*
5.1.	*Vie di somministrazione, dosi e volumi*	*54*

5.2. Somministrazione per via endovenosa 55
5.3. Somministrazione per via parenterale 55
5.4. Somministrazione per via rettale 56
5.5. Uso topico 58
6. Acqua e olio ozonizzati 60
7. Reazioni di ozonizzazione 69
7.1. Solubilità dell'ozono nell'acqua e preparazione dell'acqua iperozonizzata 69
7.2. Serie di reazioni chimiche tra ozono e una molecola di PUFA secondo Criegée e Pryor 70
8. Protocolli per trattamenti domiciliari di ozonoterapia 79
PROCEDIMENTO PER OTTENERE L'ACQUA IPEROZONIZZATA 80
8.1. Infezioni oculari 82
8.1.1. Protocollo per il trattamento delle infezioni oculari 83
8.2. Infezioni orofaringee e del cavo orale 84
8.2.1. Trattamento delle infezioni orofaringee e del cavo orale 85
8.3. Infezioni delle vie respiratorie 86
8.3.1. Trattamento delle infezioni respiratorie 87
8.3.2. Lavaggi nasali in caso di tampone positivo per COVID-19 88
8.3.2.1. Trattamento in caso di positività al tampone per COVID-19 89
8.4. Infezioni gastroduodenali 90
8.4.1. Trattamento delle infezioni gastroduodenali 91
8.5. Infezioni urogenitali 92
8.5.1. Trattamenti per le infezioni urogenitali 93
8.6. Alterazioni intestinali 94
8.6.1. Trattamento delle disbiosi e forme di alterazioni 95
8.6.2. Trattamento delle disbiosi e forme di alterazioni 96
8.7. Infezioni rettali 97
8.7.1. Trattamento delle infezioni rettali 98
8.8. Infezioni cutanee 99
8.8.1. Trattamento delle infezioni cutanee con acqua ozonizzata 100

8.8.2 Trattamento delle infezioni cutanee con olio ozonizzato 101
8.9. Infezioni ulcerative 102
8.9.1. Trattamento delle infezioni ulcerative 103
8.9.2 Produzione di sacchetti in plastica o PLD con aria ozonizzata 104
9. Protocolli per la disinfezione di alimenti 105
9.1. Trattamento dell'ozono sugli alimenti 106
10. Protocolli per la disinfezione dell'aria 108
10.1. Protocollo per la sanificazione di piccoli spazi 110
10.2. Protocollo per la sanificazione degli ambienti domestici 113
10.3. Protocollo per la sanificazione degli ambienti lavorativi 114
10.3.1. Certificazione ambientale 115
10.4. Prevenzione contro il nuovo Coronavirus 116
10.4.1. Protocollo di sanificazione delle superfici con acqua iperozonizzata come prevenzione da COVID-19 117
10.4.2. Protocollo di sanificazione degli ambienti con aria ozonizzata come prevenzione da COVID-19 118
11. Controindicazioni 119
12. Raccomandazioni 119
13. Ozon Medical M5 120
Bibliografia 121

1. Ozono: nozioni generali

L'ozono (dal greco ὄζω, "emanante un odore") è una molecola naturale e instabile.

Il gas puro ha un colore azzurro chiaro e un odore pungente. La molecola è composta da tre atomi di ossigeno (O_3) e il suo peso molecolare, confrontato con la molecola diatomica dell'ossigeno (32,00) è 48,00. La struttura dell'ozono è ciclica, con una distanza di 1.26 Å tra gli atomi, posti in diversi stati mesomerici in equilibrio dinamico. La solubilità in 100 mL di acqua a 0° C di entrambi, ozono e ossigeno, è rispettivamente di 49,0 mL e 4,89 mL; l'ozono è 10 volte più solubile dell'ossigeno nell'acqua.

A temperatura e pressione atmosferica ambiente l'ozono è un gas incolore che però si avverte per l'odore pungente che è percettibile anche in concentrazioni minime (< 0,03 ppm). Il suo peso è maggiore di quello dell'aria (circa 1,5 volte); è un normale costituente dell'atmosfera e la sua presenza varia per quantità a seconda dell'altitudine, raggiungendo un massimo a 20-25 km dalla terra e un minimo a livello del mare. La formazione dell'ozono nell'atmosfera è dovuta all'azione dei raggi ultravioletti e delle scariche elettriche sull'ossigeno.

L'ozono si forma dall'ossigeno puro mediante un processo endotermico che richiede alti gradienti elettrici (da 5 a 13 megavolt):

$$3\ O_2 \Leftrightarrow 2\ O_3 - 68{,}400\ \text{cal.}$$

La reazione è reversibile e, pertanto, l'ozono si decompone spontaneamente. L'emivita della molecola di ozono dipende anche dalla temperatura: a 20°C la concentrazione di ozono si dimezza in 40 minuti, a 30°C in 25 minuti, a -50°C dopo 3 mesi.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

L’ozono è, rispetto all’ossigeno, 1,6 volte più pesante e 10 volte più solubile nell’acqua (49.0 mL in 100 mL d’acqua a 0°C), caratteristica importante per comprendere la rapidità delle reazioni. Sebbene l’ozono non sia una molecola radicalica (cioè con elettroni spaiati nell’orbita periferica), nella scala chimica degli ossidanti risulta al terzo posto dopo il fluoro e il persolfato.

Nella stratosfera, compresa tra circa i 12 e i 20 km dalla superficie terrestre, esiste uno strato di ozono molto importante, dal momento che tale gas assorbe la maggior parte della radiazione ultravioletta (UV) proveniente dal sole (principalmente i raggi UVB e UVC), consentendo lo svolgersi della vita sulla superficie terrestre in assenza di agenti mutageni e cancerogeni, quali i raggi UV. Lo strato di ozono nella stratosfera si è formato grazie ai cianobatteri; non appena la concentrazione di ossigeno ha iniziato ad aumentare nell’atmosfera terrestre circa 2,3 miliardi di anni fa, l’emissione solare di UV ha catalizzato la produzione di ozono, in modo da poter controllare le radiazioni UV e proteggere i sistemi biologici sulla Terra.

Le reazioni di formazione di ozono nella stratosfera fanno parte di un meccanismo, definito ciclo di *Chapman*, dal nome dello scopritore che nel 1930 propose il seguente meccanismo, in grado di spiegare i fenomeni osservati: inversione termica, presenza dell’ozono nella stratosfera e filtro dei raggi UV-B.

La reazione di *inizio* riguarda la fotolisi dell’ossigeno molecolare, che avviene nelle ore diurne negli strati alti della stratosfera dove la radiazione solare è poco filtrata.

L’ossigeno molecolare assorbe un fotone UV-C nella banda centrata a 150 nm che si estende fino a 250 nm e passa a uno stato elettronico eccitato O_2^-, cioè uno stato che ha un eccesso di energia e quindi risulta reattivo al punto di rompere la molecola per formare il radicale $O^\bullet$.

$$O_2 + hv\ (\text{UV-C}, \lambda<240\ \text{nm}) \rightarrow O_2^- \rightarrow 2\ O^\bullet$$

L’ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l’inalazione.

La fase successiva è la fase di *propagazione*, in cui l'atomo radicalico di ossigeno reagisce con l'ossigeno molecolare e reagendo con essa i gas che si trovano nell'ambiente aumentano la loro energia cinetica, con conseguente formazione di ozono.

$$O^{\bullet} + O_2 \rightarrow O_3$$

Nell'ultima fase di *schermatura* dei raggi UV si riporta alla formazione dell'ossigeno molecolare e del radicale di ossigeno atomico, producendo calore. Questa reazione filtra i raggi UV e permette di riscaldare il nostro pianeta.

$$O_3 + hv\ (\text{UV-C, UV-B, } \lambda<300\ \text{nm}) \rightarrow O_2^{-} + O^{-\bullet}$$

Il ciclo continua con la fase di propagazione oppure può chiudersi con la formazione di due molecole di ossigeno e può essere comunque riattivato da radiazioni solari UV-C con lunghezza d'onda inferiori ai 240 nm. La diminuzione di ozono può essere dovuta all'aumento di CFC nell'atmosfera.

Il ciclo di Chapman però produce troppo O_3 rispetto a quello misurato, infatti è presente una quarta reazione che da una molecola di ozono e una di ossigeno atomico forma 2 molecole di ossigeno molecolare che è appunto la giustificazione al fatto che l'O_3 misurato è meno rispetto a quello dedotto dai primi tre punti del ciclo.

$$O + O_3 \rightarrow 2\ O_2$$

Lo strato protettivo di ozono nella stratosfera è pressoché costante, in conseguenza di un equilibrio dinamico tra la reazione di formazione dell'ozono e la sua naturale dissociazione. Questo equilibrio è stato nell'ultimo secolo minato dal crescente aumento degli agenti inquinanti, prevalentemente ossido nitrico (NO) e clorina derivati dai clorofluorocarburi (CFC), dispersi nell'ambiente. Nelle grandi metropoli, l'ozono mescolato ad altre sostanze forma lo smog fotochimico, che è diventato il principale agente nocivo per polmoni, occhi, naso e in minor misura per la pelle.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Lo smog fotochimico è particolarmente dannoso per la mucosa respiratoria. I fluidi di rivestimento del tratto respiratorio, che possono ammontare solo a 20-40 mL dispersi come film acquoso su uno spazio alveolare di circa 70 m^2, vengono sopraffatti da questa miscela di forti ossidanti.

Sulla base di tali riscontri patologici, si è diffusa l'idea che l'ozono sia un agente esclusivamente tossico per l'organismo umano. Tuttavia alcuni studi scientifici su leucociti umani, che in determinate circostanze produrrebbero ozono, può in parte spiegare come questa molecola possa risultare invece utile in alcune situazioni fisiologiche e patologiche. Il possibile effetto terapeutico dell'ozono viene supportato dal fatto che anche altre 3 molecole gassose, il monossido di carbonio (CO), l'NO e l'acido solfidrico (H_2S), a concentrazioni fisiologiche possono sorprendentemente comportarsi come effettori essenziali, mentre sono tossici ad alte concentrazioni. Pertanto, è la concentrazione di una molecola che trasforma un agente da terapeutico a tossico.

L'ozono reagisce con i liquidi biologici coinvolgendo diversi substrati che interagiscono in diverse vie metaboliche. L'ozono è una molecola instabile e determina reazioni di tipo ossidativo che vanno a stimolare il sistema antiossidante intracellulare. L'ozono ha inoltre azione antibatterica e antivirale; grazie al suo potere ossidante determina la formazione dei ROS (specie reattive dell'ossigeno) con azione antimicrobica e antivirale.

1.1. Funzioni dell'ozono

L'ozono ha un alto potere antiossidante e svolge azione antimicrobica (Vedi Paragrafo 3.1).

Tra le sue funzioni rientra un potente effetto di sterilizzazione e ossidazione. L'ozono è antiossidante dovuto al suo alto potenziale redox e favorisce la disintossicazione. Le scorie acide vengono eliminate dal corpo con più facilità.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

È in grado di indurre ossidazione chimica ed è quindi in grado di eliminare batteri, virus, parassiti e composti dannosi per la salute.

Molte industrie utilizzano l'ozono per la preparazione e la conservazione di cibi e bevande, perché permette di eliminare i metalli pesanti, i pesticidi e gli insetticidi, gli ormoni e antibiotici che potrebbero essere presenti in alcuni alimenti. Inoltre elimina la carica batterica contaminante. L'ozono pertanto garantisce la salubrità delle derrate alimentari, non rilasciando alcuna traccia di tossicità.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

2. Meccanismo d'azione dell'ozono

A contatto con i liquidi biologici, come liquido sinoviale, liquido interstiziale, plasma e liquidi mucosali, l'ozono si dissolve rapidamente nella componente acquosa.

A temperatura normale e pressione atmosferica standard, a causa dell'alta solubilità l'ozono si dissolve nei liquidi biologici ma, a differenza dell'ossigeno, non stabilisce un equilibrio con l'ozono che resta in fase gassosa. Questo comportamento deriva dall'alta affinità dell'ozono per i doppi legami carbonio=carbonio.

Essendo un potente agente ossidante, l'ozono reagisce immediatamente con determinate molecole presenti nei liquidi corporei, in particolare con gli acidi grassi polinsaturi (PUFA), legati all'albumina e presenti nella grande maggioranza dei lipidi e dei fosfolipidi, nonché con antiossidanti, proteine, ecc. Infatti, i fosfolipidi e il colesterolo presenti nelle membrane cellulari e/o nelle lipoproteine, sono protette da antiossidanti e molecole ricche di PUFA.

La reazione dell'ozono con le diverse molecole implica numerosi processi che avvengono simultaneamente. La maggior parte di questi processi si compie nella reazione di addizione degli acidi grassi polinsaturi a doppi legami carbonio=carbonio, nota come *Reazione di Criegée* (Vedi Paragrafo 7.2), una delle reazioni chimico molecolari più rapide in natura (velocità di milioni di moli/L al secondo) e molto ben descritta in letteratura. Tale reazione, il cui prodotto iniziale è denominato "ozonide primario", in condizioni fisiologiche di idrofilia, in presenza di acqua, produce la rottura e la riorganizzazione dei suoi atomi, producendo aldeidi e un particolare α-idrossiidroperossido di struttura differente a seconda degli acidi grassi iniziali.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

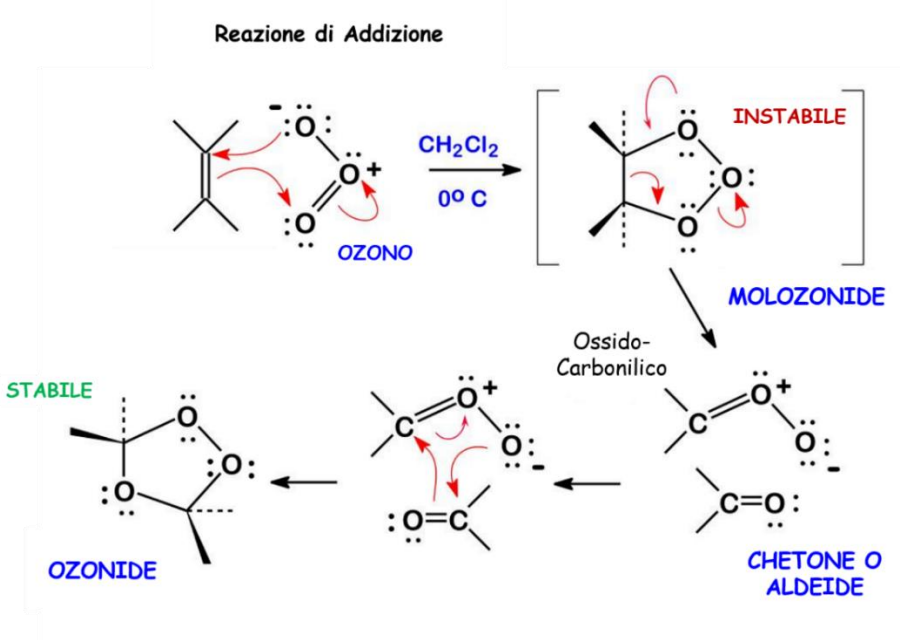
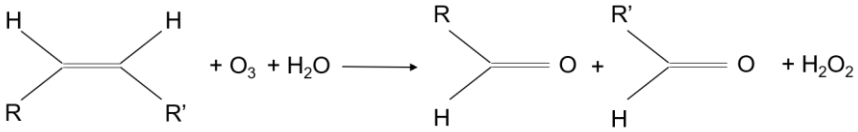


Figura 1: reazione di addizione con formazione di ozonide stabile.

Una parte di ozonidi primari può anche portare, in misura minore, a una reazione parallela con diretta formazione di aldeidi e H_2O_2.



Tali reazioni terminano rapidamente con l'esaurimento dell'ozono. In tal modo, lo stress ossidativo prodotto può essere ben controllato. Questa è una differenza sostanziale dalla reazione di perossidazione lipidica, che di solito avviene in modo radicale e più rapidamente; una volta iniziata, essa può diffondere molto rapidamente e ampiamente,

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

fino a ossidare un grande numero di molecole lipidiche e molti altri tipi di molecole in modo non controllato.

Le reazioni dell'ozono vanno a completamento in pochi secondi e generano una quantità di α-idrossi-idroperossido, aldeidi e perossido di idrogeno (H_2O_2), in concentrazione pari alla dose di ozono somministrata.

I prodotti di lipoderossidazione lipidica (LOPs) vengono immediatamente neutralizzati dagli antiossidanti presenti nei vari tessuti.

Lo studio di Bocci et al., 2002, hanno ben evidenziato come soltanto una piccola quantità di LOPS e ROS riescano a sopravvivere nel plasma o nei liquidi interstiziali dopo il contatto con l'ozono e, nel caso del plasma, si verifica l'ossidazione di molti antiossidanti, quali glutatione, acido ascorbico e acidi urici, gruppi sulfidrilici (-SH), proteine e glicoproteine, ma tali molecole di solito ritornano molto rapidamente alla loro forma ridotta.

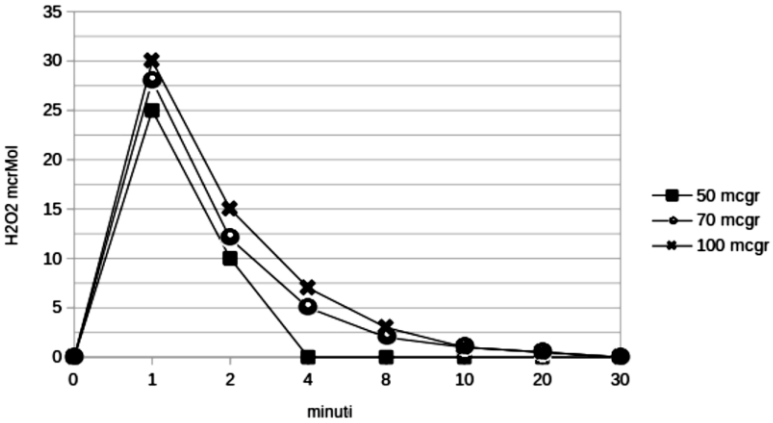


Figura 2: Il perossido d'idrogeno prodotto da diverse concentrazioni di ozono in campioni di plasma è neutralizzato da antiossidanti plasmatici in pochi minuti (Bocci et al., 2002).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

La quantità di antiossidanti è diversa tra un tessuto e l'altro e giustifica la diversa dose di ozono da usare nelle varie vie di somministrazione e nelle varie patologie (Vedi Paragrafo 5). Si può quindi affermare che a differenza degli effetti riferiti negli studi riguardanti la tossicità dell'ozono nelle vie respiratorie e sul tessuto polmonare, dove i sistemi antiossidanti naturali sono praticamente assenti, tutti gli altri metodi applicativi, data l'abbondanza di sistemi antiossidanti naturali, possono essere utilizzati in terapia in quanto i sistemi naturali di protezione neutralizzano rapidamente la temporanea condizione di stress ossidativo che segue alla somministrazione terapeutica di ozono.

Come si può conciliare la produzione di composti tossici con l'idea che tali composti esercitino importanti effetti biologici e terapeutici?

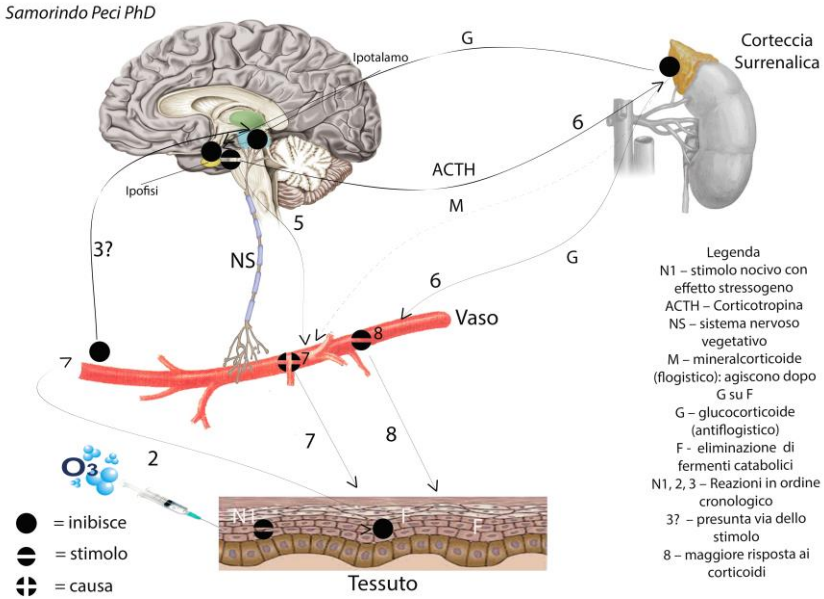


Figura 3: Il criterio di inibizione e di stimolo nel sistema neurovegetativo e neuroendocrino. L'immagine illustra come l'ozono che entra in circolo influenza e interviene in vari meccanismi biologici. Immagine del PhD Peci S.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Esaminiamo come prima cosa il comportamento e la farmacodinamica del H_2O_2, che in termini pratici è il ROS più importante. Non appena l'ozono si discioglie nell'acqua plasmatica e reagisce con i PUFA, la concentrazione di H_2O_2 inizia ad aumentare, ma altrettanto rapidamente diminuisce, poiché le molecole diffondono rapidamente all'interno degli eritrociti, dei leucociti e delle piastrine, attivando numerose vie biochimiche.

L'aumento della concentrazione intracellulare del H_2O_2 non è tossico per la cellula, poiché, allo stesso tempo, ha luogo una riduzione nel plasma e nell'acqua intracellulare, grazie alla presenza di potenti enzimi antiossidanti, come la catalasi (CAT), la glutatione-perossidasi (GSH-Px) e il GSH. Per qualche secondo, il gradiente chimico tra il plasma e la concentrazione intracellulare di H_2O_2 è stato stimato essere in un range tra 1 a 4-5 μM equivalenti a circa il 10% della concentrazione plasmatica, che evita ogni tossicità (Antunes e Cadenas, 2000; Stone e Collins, 2002; Stone e Yang, 2006; Forman, 2008).

La presenza transitoria di H_2O_2 nel citoplasma agisce come uno dei messaggeri chimici dell'ozono e il suo livello è critico: deve essere oltre una certa soglia per essere efficace, ma non troppo alto per non essere nocivo. Negli studi effettuati su sangue umano (200 mL) esposto a concentrazioni di ozono che variano tra 20 e 80 μg/mL (corrispondente a dosi totali tra 4.000 e 16.000 μg di O_3 per seduta su 200 mL di sangue, ossia da 4 a 16 mg per seduta), il processo di generazione del H_2O_2, diffusione e riduzione è sempre stato transitorio (Bocci et al., 1993a, b, 1998a, b) e anche Halliwell et al. (2000a, b) ritengono che la molecola sia realmente fisiologica nell'organismo.

H_2O_2 è riconosciuto come molecola di segnale intracellulare capace di attivare la tirosin chinasi, che fosforila il fattore di trascrizione NFkB, permettendo la sintesi di un certo numero di differenti proteine (Baeuerla et al., 1994; Barnes et al., 1997). Fondamentalmente, H_2O_2

lavora ossidando la cisteina (Rhee et al., 2000), e molti Autori hanno stabilito che esso agisce sulle cellule ematiche mononucleari (Bocci et al.1998a; Reth et al., 2002), sulle piastrine (Bocci et al, 1999a), sulle cellule endoteliali (Valacchi et al., 2000) e sugli eritrociti (Bocci et al., 2002).

2.1. Gli effetti biologici indotti dai ROS e LOPs

I liquidi biologici rappresentano la fase critica in cui O_2 e O_3 devono inizialmente disciogliersi in base alle leggi dei gas. La differenza sostanziale è che l'ossigeno può equilibrarsi e diffondere all'interno dei compartimenti cellulari, mentre l'ozono reagisce istantaneamente sia con i PUFA, sia con diversi composti idrofili (ad esempio acido urico, acido ascorbico, GSH, cisteina, ecc.) e lipofili (come Vitamina E, β-caroteni, bilirubina, ecc.) che, cedendo elettroni, neutralizzano più o meno completamente la dose di ozono che entra nella cellula.

L'azione dei composti generati dall'ozono può distinguersi in due fasi: la prima è dovuta ai ROS che si degradano con estrema rapidità. Il composto più rilevante è il H_2O_2, che aumenta istantaneamente nel plasma ed essendo un composto non ionizzato, attraversa facilmente le membrane cellulari e penetra nel citoplasma delle cellule ematiche. La determinazione del gradiente di concentrazione tra plasma e liquido citoplasmatico ha rilevato che la quantità intracellulare di H_2O_2 scende al 10%: è sufficiente una concentrazione di alcune micromoli per attivare contemporaneamente alcuni fondamentali processi biochimici in eritrociti, leucociti e piastrine. Questi processi sono ben regolati dalla concentrazione intracellulare di antiossidanti, quali GSH ed enzimi antiossidanti quali CAT e GSH-Px, che bloccano potenziali danni ossidativi a enzimi e acidi nucleici.

2.1.1. Attivazione dei ROS

Il plasma e i liquidi interstiziali rappresentano i compartimenti cellulari che contengono le biomolecole che, per prime, reagiscono con

l'ozono. In rapporto alla dose è stata determinata una modesta riduzione della capacità antiossidante del plasma (dal 12% al 25%), seguita dalla sua rapida reintegrazione totale dovuta all'efficienza dei sistemi riducenti intracellulari.

I ROS comprendono numerosi radicali, come l'anione superossido ($O_2^{-\bullet}$), l'ossido nitrico ($NO^{\bullet}$), il perossinitrito ($O{=}NOO^-$), i summenzionati radicali idrossilici e altri composti, come il H_2O_2 e l'acido ipocloroso (HClO). Tutti gli elementi sono potenzialmente citotossici; fortunatamente, essi hanno una breve emivita (di solito, una frazione di secondo) e sia il plasma che le cellule possiedono antiossidanti capaci di neutralizzarli, se le loro concentrazioni non superano la capacità antiossidante. Questo concetto dà rilievo al motivo per cui la dose di ozono debba essere accurata e ben calibrata in relazione alla capacità antiossidante del sangue, al fine di innescare successivamente reazioni utili senza causare alcun danno.

I ROS che entrano negli eritrociti sono quasi immediatamente ridotti in acqua e in idroperossidi mediante il GSH. Negli eritrociti, l'immediata ossidazione del GSH, con conseguente riduzione di H_2O_2 ad acqua (Mendiratta et al., 1998a, b), comporta un temporaneo squilibrio del rapporto glutatione ridotto/ossidato (GSH/GSSG) che viene rapidamente corretto dalla riduzione del GSSG tramite la GSH-reduttasi (GSH→Rd) e tramite il NADPH. Tale coenzima agisce come donatore di elettroni in numerose reazioni biochimiche e permette il recupero del GSSG dal GSH; NADP ossidato è ridotto dopo attivazione attraverso la via dei pentoso-fosfati, di cui la glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PDH) è l'enzima chiave. Questa serie di interazioni biochimiche favorisce un aumento della glicolisi, un'aumentata disponibilità di ATP, NADPH e di 2,3- difosfoglicerato (2,3-DPG). Lo spostamento a destra della curva di dissociazione dell'ossiemoglobina comporta un aumentato rilascio di ossigeno nei tessuti ischemici, a causa di un lieve calo del pH intracellulare (effetto Bohr) e/o un aumento dei livelli di 2,3-DPG. Usando l'ozono entro il prestabilito ambito terapeutico, esso non reagisce con i fosfolipidi delle membrane

eritrocitarie, che rimangono integre. Infatti l'emolisi oscilla tra 0,2 e 0,5 % e i livelli di metemoglobina, K^+ e degli enzimi intracellulari rimangono costanti. In questa situazione è molto improbabile che gli eritrociti rilascino Fe^{2+}, che potrebbe catalizzare la formazione del radicale idrossile.

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

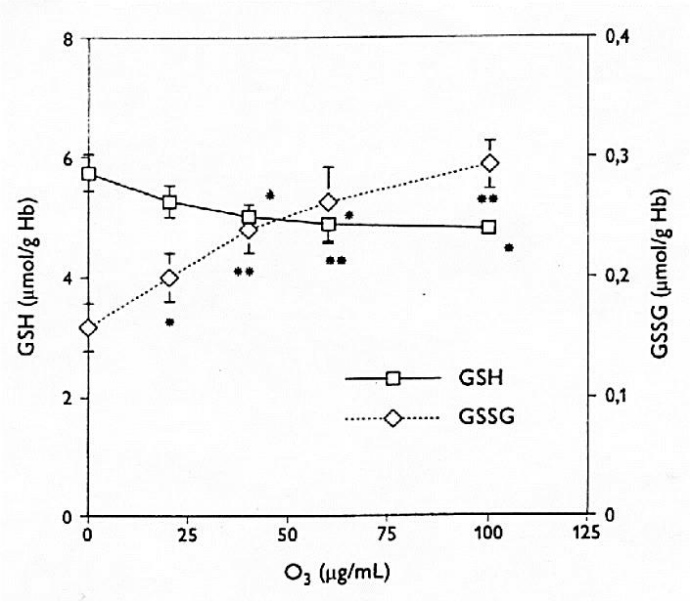


Figura 4: Questo diagramma mostra come il GSH intraeritrocitario, ossidandosi in presenza di O_3, può evitare il danno cellulare. Il sangue umano era esposto a concentrazioni di O_3 fino a 100 µg/mL di sangue. L'ossidazione del GSH genera GSSG che viene successivamente ridotto a GSH (Shinriki et al., 1998).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Nei leucociti, l'ozonizzazione del sangue stimola l'attività fagocitaria dei neutrofili, mentre nei linfociti, anche il minimo ingresso intracitoplasmatico del H_2O_2 attiva due (tirosina)-protein-chinasi con la conseguente fosforilazione della proteina inibitrice IkB. Questa, dissociandosi dal complesso trimerico NFkB, permette all'eterodimero p50-p65 di spostarsi nel nucleo e di legarsi a siti specifici del DNA per regolare l'espressione di molti geni. L'NFkB, uno tra i più importanti fattori di trascrizione, è modulato sia dal GSH e altri composti riducenti che dal H_2O_2, responsabile della produzione di numerose citochine (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-15, IFN-ß, TNF-α) aventi un ruolo fondamentale nelle risposte immunitarie e infiammatorie.

Questo processo ha evidenziato come l'ozono, inducendo un temporaneo aumento di H_2O_2 intracellulare, svolga un'importante azione immunomodulante nel sangue. Vari studi clinici hanno evidenziato come l'azione dell'ozono risulti potenziata dalla ripetizione dei trattamenti di ozonoterapia, perché i linfociti attivati ex vivo, rientrando dopo la reinfusione del sangue nei microambienti linfoidi, iniziano a rilasciare in vivo differenti citochine, che attivano altri linfociti con il risultato di una progressiva amplificazione immunitaria; fenomeno noto come *effetto priming*. Questo lento processo, capace di immunomodulare la produzione fisiologica di numerose citochine, risulta privo di effetti collaterali.

Nelle piastrine, dosi oculate di ozono e quindi di ROS favoriscono il moderato rilascio di ATP e di fattori di crescita quali PDGP (platelet derived growth factor) TGF-β (transforming growth factor beta), bFGF (basic fibroblast growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), EGF (epidermal growth factor) e VEGF (vascular endothelial growth factor), tutti molto importanti e in grado di spiegare perché il trattamento parenterale con ozonoterapia e locale con olio ozonizzato di ulcere croniche, nei diabetici e nei pazienti con arteriosclerosi, permette un miglioramento della vascolarizzazione e la rapida cicatrizzazione delle ulcere.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

La prima fase di attivazione dovuta ai ROS si è quindi rapidamente conclusa ex vivo ma i LOPs sono rimasti attivi e a loro spetta la seconda fase di attivazione in vivo, allorché il sangue ozonizzato viene reinfuso e rientra nella circolazione generale.

2.1.2. H_2O_2 e LOPs come messaggeri biologici dell'ozono

Valutiamo ora brevemente gli effetti biologici dei LOPs. È facile immaginare come questi composti diffusibili, durante i 15-20 minuti della reinfusione, entrino innanzitutto in contatto con la vasta superficie del letto endoteliale e, dopo avere oltrepassato i capillari, si diluiscano nel liquido interstiziale e prendono contatto con le cellule dell'organismo.

In questa fase l'ozono, pur essendo scomparso in brevissimo tempo ex vivo, continua a trasmettere una varietà di segnali in diversi tessuti. I LOPs, molecole potenzialmente tossiche, grazie all'enorme diluizione, parziale neutralizzazione ed escrezione, diventano messaggeri chimici cruciali in grado di informare le cellule che l'intero organismo è ora sottoposto a ripetuti e ben graduati stress ossidativi acuti.

I LOPs generati dopo l'ozonizzazione di una grande varietà di PUFA sono eterogenei e, in breve, sono rappresentati da una varietà di α-idrossi-idroperossidi nel carbonio terminale (ROOHOH) e un complesso misto di aldeidi a basso peso molecolare, prevalentemente malondialdeide (MDA) e alchenali, tra cui 4-idrossi-2,3 trans-nonenale (4-HNE) considerato da molti l'elemento chiave nella trasduzione del segnale cellulare. Impiegando accurate concentrazioni di ozono in relazione al volume di sangue e alla capacità antiossidante possiamo controllare la quantità prodotta di LOP, innescando una serie di reazioni biochimiche di efficacia antiossidante e protettiva per la cellula.

Questi composti, quando sono testati su colture cellulari o esaminati nel contesto del delicato sistema respiratorio, sono tossici anche a

concentrazioni di 1 μM. Sorprendentemente, a concentrazioni submicromolecolari (0,01-0,5 μM) testate in differenti tipi cellulari, essi possono stimolare la proliferazione e modulare alcune importanti funzioni biochimiche. Queste scoperte portano a credere che la tossicità dei prodotti lipidici ozonizzati dipenda dalle concentrazioni finali e dalla localizzazione tissutale, per cui essi possono agire come segnali sia dannosi che utili (Dianzani et al., 1998; Parola et al., 1999; Bosch-Morell et al., 1999; Larini et al., 2004; Aldini et al., 2006, 2008).

Uno studio di Yamamoto ha posto l'attenzione sul ruolo della degradazione enzimatica e della captazione epatica, chiarendo che la tossicità dei LOP in vivo è irrilevante a causa dei seguenti processi:

- Formazione di prodotti con 4-idrossilnonenale (4-HNE). 4-HNE è per lo più attaccato alla molecola di albumina Cys 34, GSH e cisteina. Queste molecole attraverso la circolazione trasferiscono facilmente il 4-HNE nel citoplasma di molte cellule. Il citoplasma cellulare contiene un fattore di trascrizione inattivo chiamato Nrf2, legato a un fattore inattivo più grande contenente gruppi SH chiamato Keap-1, ricco di cisteina; quando è attaccato a Cys 273 o Cys 288 di Keap-1, 4-HNE rilascia la molecola chiave Nrf-2. Ciò porta all'espressione di diversi enzimi antiossidanti: SOD, GPx, GST, CAT (Aldini et al., 2006).
- Diluizione (fino a 150-200 volte) di questi composti nel sangue e nei liquidi corporei che avviene rapidamente; meccanismo con cui viene abbattuta la loro concentrazione a livelli normali, farmacologici e non tossici. Ovviamente la dose di ozono deve essere entro il range terapeutico.
- Neutralizzazione dei LOP dovuta alla capacità antiossidante dei liquidi corporei e delle cellule.
- Detossificazione dai LOP dovuta all'interazione di miliardi di cellule dotate di enzimi detossificanti, come perossidasi,

aldeidi e alcol-deidrogenasi, aldoso-reduttasi e GSH-transferasi (GSH-T) (Siems et al., 2003; Awasthi et al., 2005).

- Escrezione dei LOP nelle urine e nella bile dopo detossificazione epatica ed escrezione renale (Alary et al., 2003).
- Bioattivita' senza tossicità. Come detto prima, le concentrazioni submolecolari dei LOP possono agire come messaggeri fisiologici capaci di riattivare un sistema biologico alterato.

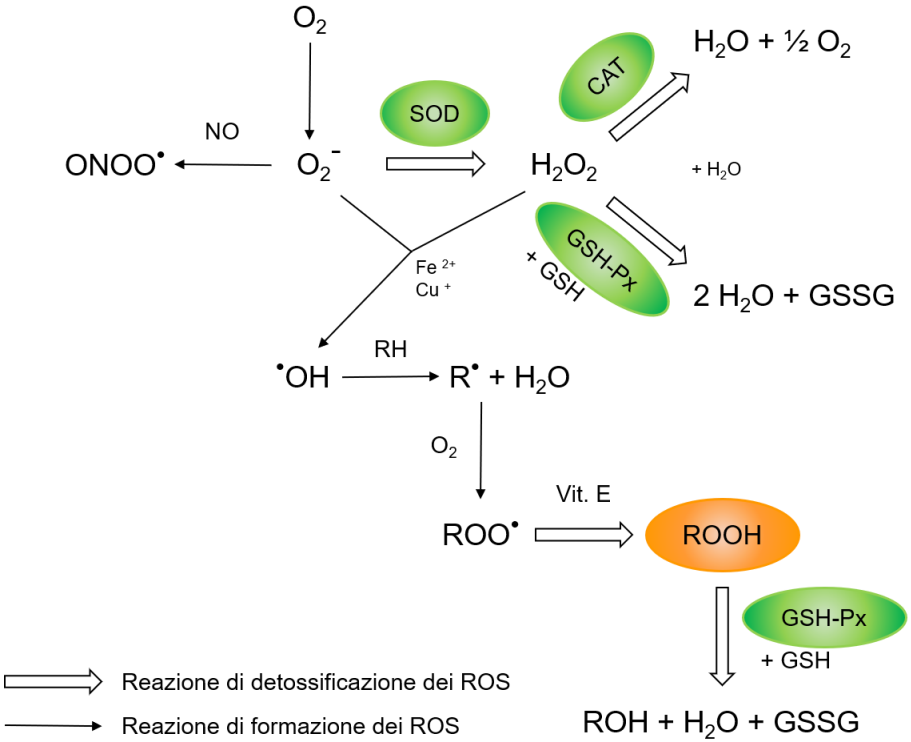


Figura 5: Lo stress ossidativo è naturale e fisiologico, e un loro eccessivo incremento può verificarsi costantemente durante i processi vitali e le molteplici attività umane, nello stesso modo in cui i meccanismi e le sostanze

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

antiossidanti sono responsabili della loro neutralizzazione, ristabilendo i loro valori al livello basale.

Dal punto di vista farmacocinetico, tracce di LOP possono raggiungere gli organi e in particolare il midollo osseo e il sistema nervoso centrale. I LOP sono estremamente importanti poiché essi informano le cellule riguardo il minimo e stimato stress ossidativo al quale segue una risposta adattativa.

Riguardo agli eritrociti, i LOP possono influenzare la linea eritroblastica, producendo così delle cellule con caratteristiche biochimiche migliorate, che entrano in circolo, dopo diversi trattamenti, e che inevitabilmente rimpiazzeranno gli eritrociti generati prima della terapia. Ciò significa che, dopo prolungata ozonoterapia, la popolazione di eritrociti non comprenderà solo cellule di diversa età, ma anche eritrociti con differenti capacità biochimiche. Nel corso dell'ozonoterapia è stato misurato un aumento marcato di G-6PD e altri enzimi antiossidanti nei giovani eritrociti (Bocci et al., 2004). Il processo di attivazione cellulare è molto dinamico e non è perpetuo, poiché le cellule ematiche hanno una ben precisa aspettativa di vita e limitata memoria biochimica, e pertanto il vantaggio terapeutico deve essere mantenuto con terapie periodiche.

Riassumendo, quando il sangue umano è esposto a dosi terapeutiche di ossigeno e ozono, entrambi i gas si disciolgono nel plasma a seconda della loro solubilità, pressione parziale e temperatura. Mentre l'ossigeno stabilisce un equilibrio tra la fase gassosa e il plasma, l'ozono, dieci volte più solubile, non può stabilire un equilibrio, poiché reagisce immediatamente con PUFA e antiossidanti presenti nel plasma, e viene totalmente consumato. La reazione genera prodotti dell'ossidazione lipidica (LOPs) e il perossido d'idrogeno (tra altri possibili ROS), che possiamo denominare "metaboliti dell'ozono". Il successivo aumento della concentrazione di H_2O_2 genera un gradiente che causa il rapido trasferimento nelle

cellule ematiche dove, in pochi minuti, attiva numerosi processi biochimici e simultaneamente il perossido di idrogeno ridotto ad acqua da un sistema antiossidante intracellulare molto efficiente (GSH, CAT, GSH-Px). Questa fase fondamentale corrisponde a un lieve, controllato, acuto e transitorio stress ossidativo, necessario all'attivazione biologica, senza concomitante concentrazione tossica, quando la dose di ozono è compatibile con la capacità antiossidante ematica, che in confronto è molto superiore a quella indotta.

Mentre i ROS sono responsabili degli effetti biologici immediati nel sangue, i LOPs sono effettori chiave tardivi, quando il sangue ozonizzato ex vivo torna in circolo dopo la reinfusione. Quando l'ozono è applicato localmente, sia i ROS che i LOPs esercitano i loro effetti nei tessuti.

I LOPs possono raggiungere ogni organo, in particolare il midollo osseo dove, dopo aver indotto la stimolazione del nucleo cellulare (NFkB e Nrf-2), per mezzo della variazione intracellulare di H_2O_2 e di GSH, possono indurre l'adattamento allo stress ossidativo acuto ripetuto. A causa della terapia prolungata, l'attività dei LOPs terminerà con l'over regolazione degli enzimi antiossidanti, la comparsa di proteine dello stress ossidativo e probabile rilascio di cellule staminali, che rappresentano i fattori cruciali che spiegano alcuni degli effetti straordinari dell'ozonoterapia. Recenti articoli del gruppo di Bocci (Pecorelli et al., 2013), confermati da Re (Re et al., 2014) hanno dimostrato il coinvolgimento della modulazione di Nrf-2 successiva a trattamento con ozono nell'uomo, capace di indurre vantaggi, e non danni, per la salute.

2.2. Come giustificare l'ozono nella pratica clinica?

Durante i processi infiammatori e degenerativi, si ha l'attivazione dei fagociti, cellule che inglobano e digeriscono microrganismi, corpi estranei, altre cellule dello stesso organismo destinate alla morte, e degli enzimi proteolitici, oltre che un'eccessiva formazione di O_2^-.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Tutto questo comporta un aumento del danno ossidativo, che tende a perdurare.

Tutte le patologie sono accompagnate da una maggiore formazione di ROS e quindi da un aumentato stress ossidativo dovuto allo squilibrio tra un eccesso di ROS e un difetto di antiossidanti. Elevati livelli plasmatici e tissutali dei prodotti della lipoperossidazione sono stati riscontrati in patologie infiammatorie acute e croniche, nelle malattie autoimmuni, nelle gravi ustioni, nel diabete, nell'ateriosclerosi, nel danno da riperfusione post-ischemico, nelle patologie neurodegenerative e nell'invecchiamento.

Mentre l'attività antisettica dell'ozono è un'indiscutibile e validissima proprietà, non vi è alcun dubbio che l'ozono sia uno dei più potenti ossidanti. Quindi perché viene utilizzato nella terapia di alcune patologie?

Nel corpo umano, si è sviluppato nel corso dell'evoluzione un sistema antiossidante come un sistema critico di difesa per la prevenzione, la neutralizzazione e la riparazione dei danni indotti dai ROS.

1. La dose di ozono (concentrazione per volume di gas) deve essere precisa e delimitata entro un ambito determinato sperimentalmente.
2. L'esposizione all'ozono deve essere estremamente transitoria; pertanto, pur inducendo uno stress ossidativo, questo deve essere calcolato e molto breve.
3. Lo squilibrio transitorio nel rapporto ROS/sistema antiossidante deve essere adeguato ad attivare dei messaggeri e sviluppare effetti biologici, ma non eccessivo da soverchiare il sistema antiossidante intracellulare.

L'ozono reagisce in modo diverso con piastrine, eritrociti, globuli bianchi, capillari, lipoproteine, antiossidanti e proteine plasmatiche, componenti che esercitano funzioni biologiche differenti.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

In rapporto alle concentrazioni di ozono (espresso come µg/mL di gas per mL di sangue), si attivano selettivamente eritrociti, globuli bianchi e/o piastrine, pertanto gli effetti biologici risulteranno selettivi per patologie differenti (ischemie, infezioni, ecc).

Durante la fase di esposizione del sangue all'ossigeno-ozono (O_2-O_3), l'ozono si scioglie gradatamente nell'acqua del plasma e reagisce in pochi millisecondi con i diversi substrati, tra cui gli antiossidanti e i PUFA. I ROS prodotti incontrano le molecole idrosolubili antiossidanti presenti nel plasma e vengono in gran parte neutralizzati. Il continuo aumento di H_2O_2 nel plasma determina un rapido passaggio di H_2O_2 nell'acqua citoplasmatica, con un continuo flusso di H_2O_2 verso il citosol, per cui la cellula mette in atto tutti i meccanismi contro il danno ossidativo. Si crea pertanto una situazione estremamente dinamica, in cui all'inizio prevale la sintesi e successivamente la riduzione dell'H_2O_2. Se l'incremento transitorio di H_2O_2 nel citoplasma è adeguato, cioè sopra la soglia di attivazione, alcuni bersagli sensibili all' H_2O_2 innescheranno delle risposte biochimiche con conseguenti effetti biologici.

Ogni individuo ha un suo proprio corredo di antiossidanti che varia durante le 24 ore. La concentrazione di ozono di 20 µg/mL può essere considerata la minima efficace, ma se un soggetto ha un livello di antiossidanti molto elevato (>1,8 mM) può essere insufficiente, perché probabilmente la generazione di H_2O_2 non supererà la soglia di attivazione di alcuni meccanismi biologici.

Tuttavia, pur nella complessità dei sistemi biologici e nella diversità di ciascun individuo, per quanto riguarda l'autoemoterapia si possono trarre le seguenti conclusioni:

- Al di sotto della concentrazione di 20 µg/mL con la GAET risulta improbabile attivare delle risposte biologiche e un eventuale effetto terapeutico è ascrivibile a un effetto placebo.
- Le concentrazioni attive di ozono variano in un range tra 20 e 80 µg/mL. La variabilità dipende da diversi fattori, quali

l'assetto genetico, correndo antiossidante, età, ecc. Attualmente non si avvalla l'uso di concentrazioni superiori a 80 µg/mL, che tendono a causare un aumento dell'emolisi e un'eccessiva produzione di ROS.

- Il range di concentrazione di ozono crea una "finestra terapeutica" al di sotto della quale si può avere un effetto placebo e al di sopra possono esserci effetti tossici.
- Le concentrazioni di ozono dovranno essere selezionate in base alla patologia da trattare.

Una volta selezionato l'intervallo di concentrazioni, conviene iniziare dalla concentrazione più bassa e salire gradualmente verso la massima.

2.3. Interazione tra ozono e sangue

Il sangue esposto all'ozono è sottoposto a un lieve e transitorio stress ossidativo assolutamente necessario per attivare le funzioni biologiche senza indurre effetti dannosi. Lo stress deve essere adeguato ad attivare i meccanismi fisiologici, ma non eccessivo tale da superare il sistema antiossidante intracellulare e provocare danno, sebbene tale soglia sia molto alta.

La risposta terapeutica ottenuta da ripetuto stress ossidativo può essere concepita come effetto precondizionante, capace di ristabilire un equilibrio in grado di stimolare il sistema redox alterato da cause patologiche.

Gli studi condotti da Bocci nel 2011 hanno permesso di chiarire i meccanismi di azione dell'ozono nel trattamento di patologie da stress ossidativo cronico e gran parte di questi studi riguardano l'interazione tra le molecole di ozono ed il sangue.

Abbiamo precedentemente visto che, mettendo a contatto l'ozono con il sangue, una parte della dose di ozono viene neutralizzata dagli

antiossidanti presenti nel plasma e la reazione con i PUFA dà origine a una serie di effetti biologici e terapeutici.

Per il sangue, nelle persone con uno stato antiossidante standard (TAS), le concentrazioni sotto 15 μg/mL sono completamente tamponate dagli antiossidanti del plasma e non producono LOPs o H_2O_2. Inoltre, dopo l'ozonizzazione del sangue, la capacità antiossidante misurata nel plasma decresce non più del 30% dopo circa 5 minuti, e ritorna a valori normali nei successivi 15 minuti, grazie alla rapida riduzione di antiossidanti ossidati per l'intervento degli eritrociti. Tale risultato mette in evidenza come anche un'alta dose di ozono (16.000 μg per 200 mL di sangue venoso) non supera mai la capacità antiossidante plasmatica, non causando alcun danno alle cellule (Bocci et al., 2011). Quindi, dal contatto del sangue con l'ozono si formano quantità micromolari di ROS e LOPs, responsabili dell'effetto terapeutico dell'ozono.

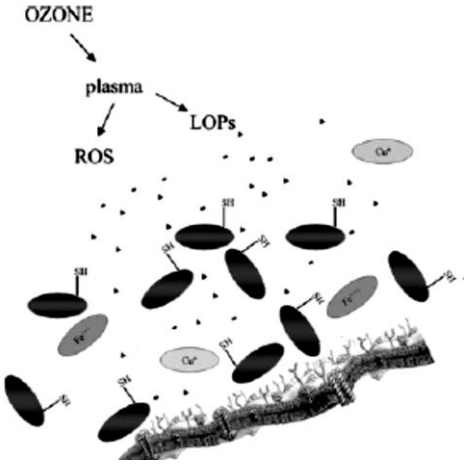


Figura 6: Lo schema (Bocci et al., 2011) aiuta ad immaginare la molteplicità dei substrati che reagiscono con l'ozono disciolto nell'acqua plasmatica. I piccoli cerchi, triangoli e quadrati simbolizzano gli antiossidanti idrosolubili presenti in 100 mL di sangue umano (4,5 mg/dL di acidi urici, 1,5 mg/dL di acido ascorbico, 80 mg/dL di glucosio ecc.). Grandi molecole di albumina

(4000 mg/dL) che espongono gruppi –SH formano una nuvola sopra la membrana cellulare e la proteggono. Le molecole come la transferrina e la ceruloplasmina legate a Fe^{3+} e a Cu^{+} prevengono la formazione di OH^{-}. L'addizione esogena di 4-8 mg di ozono a 100 mL di sangue è transitoria e controllata dagli antiossidanti. Al contrario, la produzione di ROS endogeni è continua e può essere solo controllata tramite gli antiossidanti enzimatici intracellulari.

È stato stimato che le dosi di ozono che potrebbero essere considerate eccessive per un soggetto medio siano nell'ordine the oltre 30.000 µg di O3 a seduta. Quindi possiamo affermare che le concentrazioni di ozono utilizzate in un range di 20-60 microgrammi/ml di gas sono terapeutiche senza risultare tossiche. Questi dati si riferiscono al trattamento terapeutico attraverso contatto con sangue.

2.4. Effetti dell'ozono sul sistema vascolare

Il sangue ozonizzato entra in contatto con il sistema vascolare.

In condizioni normali, l'endotelio assicura l'omeostasi cardiovascolare, evitando che lo strato muscolare liscio sottostante vada incontro a proliferazione e vasocostrizione eccessive per quel fine equilibrio che si realizza con le complesse interazioni tra $NO^{\bullet}$, prostacliclina, serotonina, acetilcolina da un lato, e $O_2^{-\bullet}$, endoteline, trombossano A_2, vasopressina, noradrenalina e angiotensina II dall'altro.

Questo delicato equilibrio si rompe in condizioni patologiche e l'endotelio perde la sua normale funzione protettiva, cominciando a secernere composti vasocostrittori, procoagulanti, antifibrinolitici e chemioattrattanti e innescando una serie di processi che porteranno all'occlusione vasale. Dal momento che sappiamo che LDL e glucosio (tramite il processo di glicosilazione delle proteine) sono molto sensibili all'ossidazione, si impone sempre sotto uno stretto controllo del processo di ozonizzazione del sangue, che teoricamente dovrebbe

tendere a bloccare il circolo vizioso mediante liberazione di vasodilatatori.

Diversi studi scientifici hanno permesso di comprendere che:

- L'endotelio risponde allo stimolo del plasma ozonizzato. Al momento della reinfusione, l'ozono, come tale, scompare e gli stimoli chimici sono rappresentati da tracce di H_2O_2.
- La liberazione di $NO^{\bullet}$, nitrosiolici, ecc. potrebbe indurre una vasodilatazione nei distretti ischemici. L'adattamento allo stresso ossidativo cronico durante una prolungata ozonoterapia, dovrebbe favorire nel tempo una maggiore liberazione locale di CO, che al pari dell'$NO^{\bullet}$, regola la produzione di GMP ciclico (cGMP) tramite la guanilato ciclasi.
- La superficie endoteliale che per prima entra in contatto con i ROS è quella polmonare. Se la reinfusione durante GAET è abbastanza lenta (circa 15-20 min) non si osservano effetti collaterali.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

3. Proprietà dell'ozono

Sui vari microrganismi l'ozono risulta uno dei più efficaci disinfettanti, agendo in basse concentrazioni e in tempi relativamente brevi. Grazie al suo alto potere ossidante, l'ozono ossida i componenti cellulari della parete delle cellule batteriche penetrando dentro la cellula. Una volta entrato, ossida tutte le componenti essenziali (enzimi, proteine, DNA, RNA), portando la cellula batterica a morte.

L'ozono inoltre inattiva i virus che sono presenti su ogni tipo di superficie: nei liquidi, nell'aria inglobati in piccoli granelli di polvere e nell'acqua. L'efficacia virucida dell'ozono si manifesta in presenza di sostanze organiche.

3.1. Proprietà antimicrobiche dell'ozono

L'ozono agisce con vari meccanismi che in alcuni casi avvengono simultaneamente:

- disattivazione dei virus attraverso ozono, ozonidi e perossidi
- intolleranza al perossido delle cellule infette
- azione diretta sui batteri, con distruzione della capsula batterica o fungina
- immunizzazione.

L'azione battericida è pertanto dovuta al contatto diretto con i microrganismi, che determina la distruzione della capsula in seguito a processi ossidativi causati dal gas e/o dai perossidi.

L'azione battericida è resa possibile dall'affinità dell'ozono per i componenti lipoproteici della capsula che riveste i batteri e dall'insufficiente capacità di difesa della cellula batterica dall'ossidazione dell'ozono.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

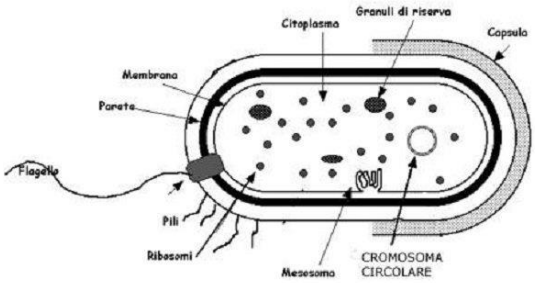


Figura 7: Componenti della cellula batterica.

Inoltre l'ozono, dopo aver distrutto l'integrità della capsula, determina un'apertura del DNA plasmidico circolare, diminuendo la replicazione batterica.

La FDA (Food and Drug Administration) certifica che l'ozono è il miglior agente in grado di distruggere i microrganismi patogeni e tutti gli agenti inquinanti.

Le acque superficiali possono essere ambiente di proliferazione di microrganismi quali *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhimurium*, *Aeromonas hydrophilus*, *Legionella pneumophila* e sono relativamente frequenti anche i cianobatteri produttori di enterotossine e neurotossine e altri microrganismi tra batteri, virus e protozoi che spesso si combinano tra loro nei "biofilm", e che a loro volta proteggono i microrganismi che li compongono. Disinfezione significa depurazione del mezzo fino a renderlo incapace di causare malattie Infettive per esseri umani che entrano In contatto con il mezzo stesso (soprattutto t'acqua). Sui vari germi, l'ozono risulta uno dei più efficaci disinfettanti, agendo in concentrazioni pari a frazioni di ppm ed In tempi relativamente brevi.

Pertanto i vantaggi dell'ozono rispetto agli altri antisettici sono:

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

- Migliore sterilizzazione per infezioni fungine, batteriche, parassitarie e virati (rispetto al cloro è 120 volte più efficiente
- Conservazione delle caratteristiche dell'acqua
- Assenza di produzione di sottoprodotti dannosi e di trialometani (THM)
- Utilizzo della metà dei dosaggi rispetto al cloro
- Miglior rapporto costo/beneficio rispetto agli altri disinfettanti

Caratteristiche	Cloro Libero	Clorammine	Clo_2	Ozono	Raggi UV
Efficacia su batteri	moderata	moderata	ottima	ottima	buona
Efficacia su virus	moderata	bassa	ottima	ottima	buona
Efficacia su spore	molto bassa	nulla	molto bassa	discreta	non rilevata
Residuo in rete	sì	sì	sì	no	no
Formazione THM	sì	rara	in funzione della purezza	no	no
Altri sottoprodotti	sì	non noti	cloriti, clorati	aldeidi, chetoni	non noti
Dosi tipiche (mg/L)	2-10	0,5-3	1-5	1-5	normale
Esercizio e rischi	alta cautela	normale	forti cautele	cautela	buona

Tabella 1: Confronto delle caratteristiche fondamentali tra i comuni disinfettanti (Viviani G. - Università di Palermo)

3.2. Proprietà antivirali dell'ozono

Il meccanismo di azione dell'ozono sui virus non è sicuramente quello di una distruzione, come nel caso dei batteri, ma di un'inattivazione; l'azione dell'ozono consiste in una ossidazione e conseguente inattivazione dei recettori virali specifici utilizzati per la creazione del legame con la parete della cellula da invadere. Viene così bloccato il

meccanismo di riproduzione virale a livello della fase di invasione cellulare.

L'attività virucida dell'ozono si esplica rapidamente in seguito a ozonizzazione. Anche a basse concentrazioni, con elevata umidità, l'ozono ha una elevata azione disinfettante virucida in aria.

L'International Ozone Association (www.iao-pag.org) conferma l'efficacia dell'ozono per l'inattivazione di molti virus anche se non è a conoscenza di ricerche specifiche su SARS-CoV-2.

L'azione sui virus con envelope (rivestimento protettivo) consiste in un'ossidazione che rende inattivo il recettore presente sulla superficie virale, impedendo così il contatto tra virus e cellula bersaglio, determinando un arresto del meccanismo di riproduzione virale a livello della prima fase di invasione cellulare

Per i virus privi di envelope l'ozono, penetrando nella cellula bersaglio aumenta la concentrazione di perossido nella cellula infetta, determinandone la dissoluzione prima della replicazione virale, oppure il perossido introdotto nella cellula agisce sinergicamente con quelli già presenti distruggendo qualsiasi microrganismo vi sia penetrato.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

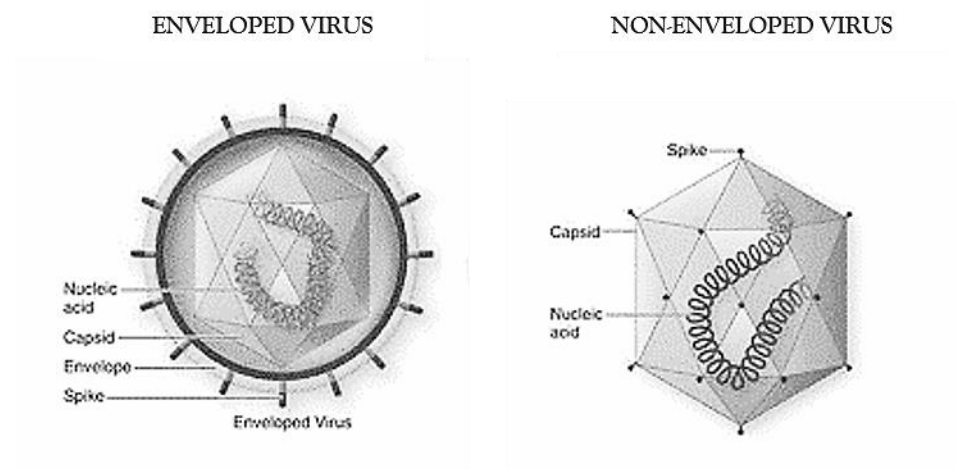


Figura 8: Virus con envelope e virus nudi

L'ossigeno-ozonoterapia viene utilizzata da tempo nel campo antivirale per la capacità dell'ozono di modulare dose e tempo dipendente la sintesi delle immunoglobuline, in particolare te lgM della fase acuta, esercitando, quindi, una attivazione delle cellule immunocompetenti e una difesa antinfettiva complementare a quella specifica. Sulla sensibilità dei all'ozono sono stati effettuati vari studi, le ricerche dimostrano che i virus provvisti di membrana, sono nettamente più s di quelle che ne sono sprovvisti.

3.3. Proprietà sporicide, fungicide e protozoocide dell'ozono

In aggiunta all'attività battericida e virucida dell'ozono vi sono le sue proprietà sporicide, fungicide e protozoocide.

Negli anni Ottanta, approfondite ricerche scientifiche hanno dimostrato l'efficacia di questo gas su bacilli sporigeni quali il *B. Cereus*, il *B. Megaterium*, i clostridi, ecc. Da allora l'ozono è stato approvato come sporicida ad uso sicuro e viene utilizzato come

disinfettante da aggiungere all'acqua in bottiglia, per l'acqua destinata al congelamento del pollame, per la conservazione delle uova e in tutti i processi alimentari che richiedono l'inattivazione di eventuali spore.

Per quanto riguarda l'effetto protozoocida dell'ozono, ricordiamo che in Europa, le malattie più note dovute a questi parassiti sono: l'amebiasi, la toxoplasmosi e la malaria. Sia *Giardia spp* che *Cryptosporidium spp* sono presenti nelle acque fluviali. Questi protozoi causano infezioni intestinali e gastroenteriti. Le filtrazioni comuni non sono in grado di garantire l'eliminazione dei protozoi, al contrario l'ozono risulta attivo contro il *Cryptosporidium* a concentrazioni molto basse e in tempi brevi, mentre la Giardia è sensibile a concentrazioni di ozono ancora minori.

		Tempo		Tempo		Tempo
BATTERI	*Streptococcus haemolyticus*	9''	*Streptococcus lactis*	14''	*Shigella dysenteriae*	1'
	Staphylococcus aureus	10''	*Staphylococcus albus*	10''	*Brucella albortus*	1'
	Listeria monocytogenes	11''	*Pyogenes aureus*	10'	*Proteus vulgaris*	13''
	Pseudomonas fluorescens	10''	*Salmonella typhi*	3'	*Legionella pneumophila*	9'
	Escherichia coli	1'	*Mycobacterium fecalis*	20'	*Sarcina lutea*	44''
	Bacillus subtilis	18''	*Vibrio cholerae*	20'	*Serraia marcenses*	10''
	Micrococcus sphaeroides	25''	*Spirillum rubrum*	10''	*Acinetobacter baumanni*	5'
VIRUS	*Haemophilus Influenzae*	10''	*Ebola*	20'	*Sars-CoV2*	20'
	Virus respiratorio sinciziale	21'	*Epatite A*	20''	*Virus enterici*	98'
	Mosaico del tabacco	12'15''	*Coxsakie*	2'	*Poliovirus tipo 1*	10'
	Batteriofago f2	10'	*Rotavirus*	10'		

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

SPORE E FERMENTI	*Aspergillus flavus*	2'45''	Aspergillus glaucus	2'26''	*Oospora lactis*	18''
	Aspergillus niger	9'10''	*Penicillium roqueforti*	45''	*Mucor rocemosus (A, B)*	1'
	Penicillium digitarum	2'26''	*Penicillium expansum*	36''	*Spore di B. subtilis*	36''
	Rhizopus nigricans	6'06''	*Saccharomyces cerevisiae*	22''	*Saccharomyces SP.*	29''
PROTOZOI	*Paramecium*	5'30''	*Giardia lambia*	1'30''	*Nemotode (uova)*	36''
	Criptosporidum	5'	*Naeglaria gruberi*	2'5''		

Tabella 2: tempo di distruzione dei patogeni mediante ozono.

3.4. Attività antinfiammatoria e antiossidante dell'ozono

L'ozono blocca i meccanismi infiammatori modulando la sintesi delle prostaglandine, diminuendo i mediatori pro-infiammatori e incrementando quelli con attività anti-infiammatorie. Questo determina un'importante azione antiflogistica, utilizzando meccanismi privi di effetti collaterali a differenza dei farmaci antiinfiammatori steroidei e non.

L'ozono inoltre esercita attività antiossidante. Una volta somministrato ai pazienti, induce un forte stress ossidativo nei tessuti, riduce i radicali liberi grazie a una potente azione antiossidante.

L'ozono infatti induce nel tessuto linfoide la produzione di citochine e interleuchine (IL-1 e IL-6) grazie a una azione immunostimolante, migliora l'ossigenazione dei tessuti, in particolare del microcircolo a livello del cuore, del cervello, del fegato, dei reni e dei polmoni e determina l'ossidazione delle proteine della capsula del virus impedendo il suo ingresso nelle cellule e, quindi, impedendone la replicazione.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

4. L’ozonoterapia nella pratica clinica

Per ossigeno-ozonoterapia si intende l'utilizzo della miscela di gas ossigeno-ozono (O_2-O_3) per il trattamento sintomatologico ed eziologico di numerose patologie. Oltre all'utilizzo del gas, l'ozonoterapia può essere eseguita attraverso l'utilizzo di acqua ed olio ozonizzato, che derivano dalla reazione tra l’ozono e rispettivamente acqua e olio vegetale.

L'ossigeno-ozonoterapia rappresenta una pratica terapeutica oramai ampiamente utilizzata in Italia e nel mondo.

L’ozono è costituito da una molecola con tre atomi di ossigeno in una struttura ciclica e instabile tanto da avere una breve emivita (40 minuti a + 20°C) per cui deve essere preparato e usato estemporaneamente utilizzando ossigeno medicale. L’ozono medicale è una miscela di ozono in ossigeno, entro un range di concentrazione di ozono approssimativamente tra 0,5 e 5%. La dose totale è equivalente al volume di gas (mL) moltiplicato per la concentrazione di ozono (µg/mL) (Bocci et al., 2000).

Attualmente sono presenti in letteratura numerose pubblicazioni scientifiche che ne evidenziano il meccanismo di azione a livello biochimico e fisiopatologico.

Da un punto di vista clinico, l'ossigeno-ozonoterapia mostra prove di efficacia attestate da metanalisi, revisioni sistematiche e studi clinici randomizzati e controllati. Nel caso del trattamento della patologia discale è stato raggiunto un livello di prova di efficacia 1A e nel trattamento della patologia articolare un livello 1B, ed in tali ambiti patologici questi risultati ci consentono di proporre l'ossigeno-ozonoterapia quale medicina basata sulle evidenze nella cura integrata delle patologie muscoloscheletriche (Giurazza et al., 2017).

L’ossigeno-ozonoterapia utilizza una miscela di ossigeno (O_2) e ozono (O_3) a scopo terapeutico. La peculiarità dell’ozonoterapia è l’assenza

di effetti collaterali, se l'utilizzo avviene mediante apparecchiature idonee e certificate.

Anni di ricerca scientifica hanno dimostrato che dall'ozonoterapia derivano numerosi benefici. Questa, infatti, concorre al riequilibrio metabolico del paziente, migliora l'utilizzo dell'ossigeno corporeo e corregge le ischemie circolatorie; inoltre consente un riequilibrio dell'acqua corporea, disintossica da tossine e radicali liberi e ha azione antalgica e immunostimolante.

L'ozono agisce a un livello elementare su molti componenti ematici capaci di esercitare le più svariate funzioni. Si possono distinguere otto aree:

- patologie infettive
- disfunzioni immunitarie
- patologie articolari e il problema del "mal di schiena»
- malattie autoimmuni
- patologie ischemiche
- patologie neurodegenerative
- malattie vasculo-degenerative in oculistica
- altre possibili patologie.

Terapia intensiva	Neurologia
Chirurgia	Reumatologia
Urologia	Gerontologia
Ginecologia	Oncologia
Ortopedia	Epatologia
Odontoiatria	Gastroenterologia
Angiologia	Infettivologia
Dermatologia	

Tabella 3: Applicazioni mediche dell'ozonoterapia

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico. Evitare l'inalazione.

4.1. L'ozonoterapia nelle patologie infettive

L'ozono svolge un ruolo importante nelle infezioni batteriche e in quelle causate da virus, funghi e protozoi. Esso sviluppa diversi tipi di ROS ($O_2^{-\bullet}$, $OH^{\bullet}$, $NO^{\bullet}$, H_2O_2, e HOCI) agisce ossidando qualunque componente cellulare. I leucociti polimorfonucleati neutrofili e i macrofagi riproducono in modo esemplare schemi ossidativi molto simili per difenderci dalle infezioni.

Con la sempre maggiore resistenza da parte dei batteri agli antibiotici e ai chemioterapici e la conseguente inefficienza delle terapie antibiotiche, l'uso dell'ozono è diventato sempre più importante perché è in grado di evitare il fenomeno della resistenza, in particolare negli anaerobi.

Le concentrazioni di ozono sono altrettanto importanti; devono essere battericide e non devono essere istolesive e impedire il processo di cicatrizzazione. Nel primo stadio di infezione, in presenza di pus, tessuto necrotico e batteri che hanno colonizzato il tessuto, si usano concentrazioni di ozono anche di 80 µg/mL per detergere ed eliminare l'infezione. Successivamente le concentrazioni di ozono decrescono progressivamente da 80 a 5 µg/mL per attivare il metabolismo locale, la sintesi della matrice intercellulare, la proliferazione cellulare e la produzione di citochine (PDGF, TGF-β, bFGF, KGF, EGF, ecc.) favorenti la cicatrizzazione e il rimodellamento del tessuto (Amato et al., 2000; Mawsouf et al., 2004).

4.2. L'ozonoterapia nel trattamento di virus erpetici

L'ozonoterapia topica nei pazienti con herpes zoster è utile per alleviare il dolore, abbreviare il decorso e migliorare l'efficacia clinica senza evidenti reazioni avverse.

La somministrazione viene effettuata attraverso la tecnica dell'insufflazione. L'assorbimento pare essere ottimale e dà buoni

risultati clinici, che confermano l'efficacia della tecnica stessa (Konrad et al., 1995; 2001).

L'ozonoterapia condotta nel rispetto dell'impostazione teorica corretta e nell'osservanza della tecnica idonea appare, da sola o in associazione ad altri mezzi, un valido supporto terapeutico per la sua azione virucida e immunostimolante senza particolari rischi.

4.3. L'ozonoterapia nel trattamento di infezioni da Rhinovirus

I *Rhinovirus* sono una virus appartenenti al genere *Enterovirus*, che penetrano per via aerea, localizzandosi e moltiplicandosi nelle mucose nasali. Sono responsabili del comune raffreddore, ma anche di bronchioliti e asma.

Come annunciato nel Paragrafo 3.2, l'ozono è in grado di inattivare i virus. I *Rhinovirus* sono virus privi di envelope; in questo caso l'ozono penetra nella cellula bersaglio e aumenta la concentrazione di perossido nella cellula infetta, determinandone la dissoluzione prima della replicazione virale. Pertanto l'ozonoterapia è utile anche nel trattamento di infezioni da *Rhinovirus* (Jörres et al., 1996).

In questi casi l'ossigeno-ozonoterapia si applica tramite l'insufflazione nasale con proprietà antisettiche, antiflogistiche, antivirali, emoreologiche e trofico-tissutali.

4.4. L'ozonoterapia nei tumori metastatici

Fermo restando che i cardini della medicina convenzionale rimangono la chirurgia, la radioterapia, la chemioterapia, l'ormonoterapia e l'immunoterapia, l'ozonoterapia si sta rivelando utile come supporto ai trattamenti tradizionali.

I possibili meccanismi di azione dell'ozonoterapia sono multidirezionali e sono riassumibili come segue.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

- Effetto diretto dell'ozono, dei ROS e dei LOP sulle cellule tumorali. Un effetto diretto citocida si potrebbe ottenere con iniezioni intratumorali (melanomi, carcinomi cutanei, vescicali, ecc.) oppure tramite embolizzazione delle metastasi epatiche.
- Effetto immunogenico. Potrebbe attuarsi tramite la lisi di alcune cellule neoplastiche presenti nel plasma durante l'esposizione a O_2-O_3. Antigeni tumorali riscontrati in frammenti di membrana potrebbero funzionare come immunogeni se si riuscisse a sbloccare lo stato di anergia indotto dal tumore (Elgert et al., 1998).
- Miglioramento dell'ossigenazione e del metabolismo tissutali. L'iperossigenazione potrebbe comunque esercitare un effetto positivo se inibisse il rilascio del VEGF e delle angiopoietine e di conseguenza la neoangiogenesi, indispensabile all'espansione delle metastasi (Brown et al., 1998).
- Induzione dello stato di tolleranza all'ozono. È assai più probabile che l'adattamento si verifichi nelle cellule normali più che nelle cellule neoplastiche già sottoposte a un persistente stress ossidativo con l'ipotetica conseguenza che queste ultime, diventando ancora più suscettibili al danno ossidativo, potrebbero andare incontro ad apoptosi.

4.5. L'ozonoterapia nei trattamenti analgesici

I mediatori del dolore derivano da lipidi, come acido arachidonico, eicosanoidi e prostaglandine, proteine, come NGF (nerve growth factos), e da altre molecole, come glutammato, serotonina e bradichinina.

Un ruolo particolare nelle reazioni infiammatorie viene svolto da:

- Fosfolipasi A2, che oltre alla formazione di prostaglandine e leucotrieni attacca i fosfolipidi delle membrane neurali;
- Metalloproteasi, che amplificano la risposta infiammatoria.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Il dolore cronico è indotto da stimoli di varia natura (chimici, meccanici) e attiva su nocicettori periferici o su fibre afferenti, oppure entro il SNC. Gli impulsi nervosi dolorifici non partono esclusivamente dal nocicettore periferico, ma qualsiasi compressione o distorsione meccanica cronica della fibra nervosa dovuta a un'ernia discale espulsa evoca scariche nervose e di conseguenza parestesia e dolore riferiti al dermatomero corrispondente alla cute del nervo compresso.

L'insorgenza ectopica del potenziale di azione in prossimità del neurone del ganglio delle radici dorsali procede in senso centripeto con la fibra di primo ordine lungo il midollo spinale. Le vie ascendenti originano dai neuroni di secondo ordine, procedono nel tronco cerebrale e dopo la decussazione proiettano al talamo controlaterale (tratto spinotalamico), alla formazione reticolare (tratto spinoreticolare) e alla formazione reticolare del mesencefalo (tratto spinomesencefalico). Infine, la fibra di terzo ordine (fascio talamocorticale) giunge a livello corticale e permette la percezione del dolore. , La compressione cronica della radice nervosa comporta una sensibilizzazione dei nocicettori (prevalentemente di tipo C, polimodali) responsabili dell'iperalgesia, una condizione nella quale si osserva allodinia, cioè una riduzione della soglia per l'evocazione del dolore e un aumento dell'intensità del dolore in seguito alla presentazione di uno stimolo nocivo pur di intensità sottoliminale. per tale motivo i nocicettori possono anche esibire una scarica spontanea, che si traduce nel fenomeno del dolore spontaneo. Sia dalle fibre Aδ sia quelle C si libera il glutammato, un neurotrasmettitore eccitatorio che provoca l'insorgenza di potenziali sinaptici rapidi nei neuroni degli strati superficiali del corno compressione dorsale. La determinata dal corpo estraneo causa inoltre un danno tissutale con conseguente processo infiammatorio.

La variabilità della risposta agli stimoli dolorifici suggerisce l'esistenza di sistemi modulatori sia a livello spinale sia del SNC, capaci di regolare la sensibilità al dolore. L'iniezione di O_2-O_3 in pressione positiva e forte stimolazione dei nocicettori dei muscoli paravertebrali,

può provocare l'inibizione dei neuroni nocicettivi del midollo spinale tramite la liberazione di peptidi oppioidi, instaurando un tipo di inibizione locale.

Inoltre, i ROS generati nel sito di iniezione causano un danno ossidativo diretto sui nocicettori o sulle loro fibre, provocando un marcato innalzamento della soglia di attivazione. Ciò può comportare un blocco della sintesi e della secrezione di sostanza P, un neuropeptide implicato nella modulazione del dolore, e il contemporaneo rilascio di endorfine.

4.6. L'ozonoterapia nelle patologie articolari

Le articolazioni sono strutture altamente complesse, in cui si sono integrate perfettamente funzioni di supporto meccanico e ammortizzante con funzioni di stabilizzazione, contenzione e facilitazione del movimento, nonché di riduzione dell'attrito legato atto stesso movimento.

Le malattie articolari sono numerose e riconducibili a quattro categorie fondamentati.

1. Malattie in cui prevale la componente infiammatoria, spesso gravi e a rapida evoluzione come l'artrite reumatoide e la gotta;

2. Malattie in cui prevale la componente degenerativa, di solito meno gravi e a più lenta evoluzione, di cui l'artrosi con le sue varie localizzazioni ne rappresenta l'esempio più frequente e significativo;

3. Malattie traumatiche acute e croniche con i vari aspetti di gravità immediata e a distanza e con i vari gradi di compromissione funzionale:

4. Altre malattie nelle quali si possono includere le malattie così dette aspecifiche come le tendiniti acute e croniche calcificate.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

La medicina tradizionale affronta e cura queste malattie con una terapia di base che agisce su uno o più dei meccanismi patogenetici detta patologia dopo una latenza di vari mesi.

L'ozonoterapia ormai si è ricavata uno spazio importante come terapia integrativa e spesso risolutiva nelle varie malattie.

Attualmente si sta consolidando nel trattamento di disturbi muscolo-scheletrici, come artrite reumatoide, sindrome delle faccette articolari lombari, borsite subacromiale, sindrome del tunnel carpale, artrosi, borsite dell'anca, capsulite adesiva della spalla, osteoartrite del ginocchio e disturbo dell'articolazione temporo-mandibolare. (Seyam et al., 2018; Oliviero et al., 2019; Haghighat et al., 2020).

Tartari et al. nel 2020 hanno condotto uno studio per verificare l'influenza della terapia con ozono su un modello sperimentale di artrite reumatoide (RA): 30 ratti Wistar maschi sono stati assegnati in modo casuale a 2 gruppi, controllo (C) e trattamento (T), e suddivisi in controllo (C12, C48, C72) e gruppi di trattamento (T12, T48, T72). L'AR è stata indotta dalla somministrazione di collagenasi più l'adiuvante completo di Freud nella regione dell'articolazione del ginocchio. Gli animali sono stati trattati con ozono terapia (iniezione di 1 mL di O3 nel ginocchio per es.). Secondo l'assegnazione del gruppo: T12, 2 h; T48, 2 e 24 h; e T72, 2, 24 e 48 ore dopo l'induzione dell'AR. I diversi gruppi di animali sono stati sottoposti a eutanasia rispettivamente 12, 24 o 72 ore dopo l'induzione dell'AR. I livelli di essudato sinoviale di IL-10, IL-12p70, TNF-α, INF-γ e MCP-1 sono stati valutati mediante citometria a flusso ed è stata condotta l'analisi istopatologica della cartilagine del ginocchio. L'ozono terapia riduce efficacemente l'infiammazione, riducendo IL-12 e TNF-α e aumentando l'IL10. L'O3 non ha influenzato statisticamente i livelli di INF-γ o MCP-1. Risultati più espressivi sono stati ottenuti con il gruppo T72, cioè trattato 2, 24 e 48 ore dopo l'induzione dell'AR, il che indica che il trattamento con ozono a lungo termine è più efficace di una singola applicazione acuta. L'ozono terapia ha ridotto efficacemente

l'infiammazione con effetti, almeno in parte, mediati dalla riduzione delle citochine proinfiammatorie e dall'attivazione delle citochine antinfiammatorie IL-10.

La quantità di miscela di ossigeno ozono varia da soggetto a soggetto e da articolazione ad articolazione e la concentrazione di miscela di ossigeno-ozono espressa in µg/mL di ossigeno, varia a seconda della gravità della patologia.

La pratica clinica impiega infiltrazioni intrarticolari in vari distretti corporei, quali spalla, gomito, ginocchio, articolazione temporo-mandibolare e articolazione coxo-femorale.

4.7. L'ozonoterapia nel trattamento delle ernie discali

Per quel che riguarda il trattamento delia lombosciatalgia da ernia discale con ossigeno-ozonoterapia, i risultati scientifici nella pratica clinica oscillano tra l'85% e il 95% di esiti positivi; inoltre i tempi di attesa sono pressoché inesistenti e il trattamento può essere iniziato anche in fase acuta, riducendo così ulteriormente i tempi di guarigione e l'assunzione di farmaci; la durata media della terapia è di 12-15 sedute con cadenza 2/3 volte a settimana, quindi 5-6 settimane.

Sulla base di quanto sopra esposto, sull'esperienza clinica e sulle conoscenze provenienti dalla ricerca di base, possiamo affermare che l'Ossigeno-ozonoterapia è ormai parte integrante di un autentico e serio progetto riabilitativo. (Apuzzo et al., 2oo3).

Attualmente la terapia viene eseguita seguendo due modalità:

- iniezione diretta di O_2-O_3 nello spazio intradiscale e/o intraforaminale;
- iniezione di O_2-O_3 nei muscoli paravertebrali all'altezza del metamero corrispondente alla discopatia.

I risultati clinici ottenuti fino ad oggi sono promettenti, sebbene in molti casi, il miglioramento clinico non è congiunto alla riduzione o

scomparsa dell'ernia (Andreula et al., 2003; Buric et al., 2004; Perri et al., 2016).

4.8. L'ozonoterapia nelle patologie ischemiche

L'ossigeno-ozonoterapia protegge le cellule muscolari cardiache dal danno ischemico. La sua azione protettiva nei confronti della cardiopatia ischemica è essenziale nella prevenzione dell'infarto al miocardio, degli attacchi di angina pectoris, nella riabilitazione dei pazienti colpiti da infarto al miocardio (Wasser et al., 2013).

Il gruppo di ricerca di Frosini ha condotto uno studio preliminare preclinico, utilizzando preparati istologici di cervello ippocampali e corticali di ratto, soggetti a privazione di ossigeno-glucosio. La miscela gassosa di ossigeno e ozono è risultata essere efficace nel riparare i danni ai tessuti cerebrali, supportando la valutazione di questo approccio in studi clinici ben progettati su pazienti con ictus (Frosini et al., 2012).

L'ozonoterapia riduce inoltre il rischio di recidiva di infarto al miocardio e della, nel rallentare l'evoluzione della cardiopatia ipertrofica e della miocardiosclerosi verso lo scompenso cardiaco.

Gli effetti dell'ossigeno-ozonoterapia sono:

- Miglioramento del microcircolo del miocardio, con aumento della cessione di ossigeno alle fibrocellule miocardiche dovuto a maggiore rilascio di ossigeno da parte dei globuli rossi, vasodilatazione periferica per rilascio ossido nitrico, riduzione della viscosità ematica, miglioramento della reologia del sangue.
- Aumento sistemico della produzione di energia nelle cellule cardiache per attivazione della fosforilazione ossidativa mitocondriale con aumento della produzione di ATP.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

- Miglioramento della via metabolica glicolitica negli eritrociti. L'aumento della concentrazione ossigeno e di ATP nelle zone di ipossia.
- L'attivazione del metabolismo negli eritrociti determina aumento dei livelli di 2,3-difosfoglicerofosfato (2,3-DPG) con aumento della disponibilità di ossigeno a livello delle fibrocellule miocardiche dovuto ad uno spostamento verso destra della curva di dissociazione HbO2.
- Vasodilatazione dovuta a un aumento del rilascio di ossido nitrico e prostaciclina.
- Rilascio di fattori di crescita da piastrine.

Di grande importanza è l'aumento della produzione sistemico di enzimi antiossidanti che rallentano i processi degenerativi ed infiammatori cellulari.

4.9. Uso dell'ozono in odontoiatria

L'ozono può essere utilizzato sia per infiltrazione diretta che con acqua ozonizzata oppure con olio ozonizzato o con applicazione topica del gas. può essere utilizzato per il trattamento doloroso dell'ATM, nelle parodontiti, nei trattamenti pre e post chirurgici in conservativa endodonzia ed igiene (Srikanth et al., 2013).

La sua azione antimicrobica, battericida fungicida e virustatica, migliora notevolmente la qualità del trattamento e la guarigione. In odontoiatria recentemente è emersa una nuova patologia che colpisce pazienti che fanno uso di bifosfonati per vari motivi, dal trattamento dell'osteoporosi a quello dei tumori. L'azione di questi farmaci influisce sul metabolismo osseo, favorendo l'attività degli osteoblasti ed inibendo quella degli osteoclasti.

4.10. Effetti dell'ozonoterapia sul microcircolo

L'ozonoterapia è usata efficacemente per la cura delle malattie angiologiche e flebologiche. L'ozono infatti non solo migliora

l'ossigenazione dei tessuti ma ha anche una potente azione disinfettante e di riattivazione del microcircolo.

L'ozono può essere utilizzato in tutte le forme morbose in cui vi è un ridotto apporto di ossigeno perché ha un effetto di riattivazione del microcircolo e un'azione protettiva multiorgano:

- Arteriopatie periferiche arti inferiori
- Cardiopatia ischemica
- Insufficienza renale vascolare
- Malattie cerebrovascotari
- Maculopatia degenerativa della retina

L'ozono induce un aumento della deformabilità e filtrabilità eritrocitaria perché spezza le lunghe catene degli acidi grassi mediante lipoperosidazione controllata. Aumenta la produzione del 2/3 difosfoglicerato con maggiore cessione di ossigeno ai tessuti periferici, spostando verso destra la curva di dissociazione dell'emoglobina. Inoltre, riduce l'aggregabilità piastrinica e la viscosità plasmatica, riduce il fibrinogeno plasmatico, riattiva il metabolismo energetico a livello mitocondriale con aumento della produzione dl ATP e determina un aumento del flusso ematico, del rilascio diossido nitrico a livello degli sfinteri pre-capillari da parte delle cellule endoteliali.

L'ozono ha una azione antinfiammatoria, determina una riduzione della produzione delle prostaglandine agendo sull'acido arachidonico e agisce come antiossidante attivando le funzioni enzimatiche antiossidanti protettive endogene delle cellule.

La miscela di ossigeno ed ozono viene applicata per via infiltrativa ma anche per via sistemica tramite la grande Autoemotrasfusione.

4.11. L'ozonoterapia nelle ulcere

Per definizione, l'ulcera è una persistente perdita di cellule secondaria a processi necrotici della cute o delle mucose, con distruzione del

rivestimento epiteliale e, in misura minore, degli strati tissutali sottostanti.

Tra le cause più comuni rientra la stasi venosa. Altre forme eziopatogenetiche di ulcere sono: ulcere arteriosclerotiche, ulcere ipertensive, ulcere diabetiche, ulcere neurotrofiche, ulcere traumatiche, ecc.

L'ozonoterapia viene utilizzata da anni nel trattamento delle ulcere.

L'ozono favorisce la formazione di perossidi esplicando un effetto antibatterico e antivirale. Il meccanismo antisettico è simile a quello che organismo utilizza abitualmente con la formazione, da parte dei leucociti adibiti alla fagocitosi batterica, di una molecola a proprietà antiossidante, simile a quella dell'O_3 cioè H_20_2.

L'effetto battericida dell'ozono dipende soprattutto dalla presenza di acqua, ed è di tipo diretto. Nei confronti dei virus si ha soprattutto una azione virustatica che li rende incapaci di aderire con i recettori cellulari sulla cellula bersaglio e quindi di replicarsi. A livello dei globuli rossi si ha un aumento della loro deformabilità, riducendo la viscosità ematica globulare e un aumento del 2,3-di-fosfoglicerato (responsabile della cessione di 0_2 da parte dell'emoglobina ai tessuti) che ha, come fine ultimo, un netto miglioramento del trasporto di 0_2 e quindi un'azione reologica.

Durante le infezioni croniche, i normali processi difensivi non sono più in grado di distruggere i batteri, per l'insufficiente produzione di H_20_2. Il trattamento con ozono influenza positivamente la formazione dei perossidi, che facilita un'attivazione diretta del metabolismo degli eritrociti. In primo luogo l'ozono si lega con i doppi legami degli acidi grassi insaturi dello strato di fosfolipidi nella membrana eritrocitaria. Con l'intervento del glutatione, si attiva la glicolisi, che porta a un aumento del 2,3-di-fosfoglicerato, con il conseguente rilascio di O_2 nei tessuti da parte dell'emoglobina. I processi innescati potenziano l'attività antimicrobica dell'ozono.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

4.12. L'ozonoterapia nelle disbiosi intestinali

L'intestino è colonizzato da miliardi di microrganismi, soggetti a modificazioni che possono renderli nocivi.

Le principali specie batteriche (in totale sono circa 10^{13} cellule batteriche di almeno 400 specie per un peso di circa 800 g) che popolano il tratto digerente sono *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* e *Candida*.

La relazione che intercorre tra organismo e batteri intestinali è improntata su un rapporto di mutua cooperazione: i nutrienti contenuti negli alimenti rappresentano potenziali substrati per garantire la crescita del microbiota, che a sua volta produce, dagli alimenti ingeriti, metaboliti che hanno la capacità di modulare le attività cellulari. I batteri pertanto variano nella loro presenza a livello intestinale in relazione al cibo che viene ingerito; ogni tipo di nutriente ha la capacità di esercitare una pressione sul microbiota intestinale, favorendo o inibendo lo sviluppo di alcune famiglie batteriche che lo compongono.

Quando il microbiota intestinale è in una condizione di equilibrio, condizione definita eubiosi, svolge le sue funzioni utili all'organismo. la prima azione esplicata, grazie alla produzione di acido lattico e H_2O_2 è quella di difesa nei confronti dei microrganismi patogeni. Altre funzioni riguardano la fermentazione e l'assorbimento dei carboidrati, la prevenzione di malattie infiammatorie intestinali, la prevenzione delle allergie, la degradazione di tossine, la regolarizzazione dela funzione intestinale, l'assorbimento di vitamine e la stimolazione e il potenziamento del sistema immunitario. Infatti, in condizioni fisiologiche, il minimo rilascio di immunopeptidi batterici dovuto al loro ciclo vitale modula il sistema linfoide intestinale (GALT, gut associated lymphoid tissue), la parte di sistema immunitario presente a livello del tratto digerente.

Se l'equilibrio intestinale si altera, si crea una condizione di disbiosi.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

La disbiosi intestinale è l'insieme di sintomi e disturbi funzionali gastroenterici che possono evolvere, coinvolgendo organi e apparati distanti dal colon. È causata dall'alterazione funzionale del delicato equilibrio intestinale, cioè della mucosa del colon nonché della modificazione del microbiota che viene colonizzata da batteri putrefattivi.

Solitamente la condizione di disbiosi si manifesta con:

- eccesso di gas intestinale con gonfiore e flatulenza,
- ritardo del transito fecale con spasmi addominali,
- diminuito assorbimento di acqua e Sali minerali con diarrea,
- eccessivo assorbimento di acqua e conseguente stipsi,
- alterazioni metaboliche.

I sintomi legati alla disbiosi sono dovuti alla graduale distruzione dei batteri fermentativi intestinali. A causa di una cattiva alimentazione, fattori di stress, fattori ambientali, uso di farmaci e patologie, il microbiota intestinale può subire un'alterazione dell'equilibrio tra le specie di microrganismi che colonizzano l'intestino, facendo prevalere batteri che sopravvivono in assenza di ossigeno e causano la formazione di aria, fermentazione e sostanze tossiche (ammoniaca, indoli, ecc.) che vengono riassorbite dai capillari e si diffondono nell'organismo, determinando una condizione patologica.

L'ossigeno-ozonoterapia è ampiamente efficace nel trattare le alterazioni intestinali e nel ripristinare la capacità peristaltica. L'ozono sembra inoltre innescare un processo di immunomodulazione con varie sfaccettature: per via portale e per via linfatica tracce di lipopolisaccaridi accoppiate a proteine leganti (LPS binding protein) e/o lipoproteine possono raggiungere il fegato e stimolare le difese immunitarie.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

5. Vie di somministrazione dell'ozonoterapia

Negli ultimi 70 anni si è avuta una larga sperimentazione sulle modalità di somministrazione dell'ozonoterapia. In tabella sono riassunte alcune metodiche tra vie parenterali e topiche.

PARENTERALE	TOPICA
Endovenosa (EV)	Nasale
Intradiscale (ID)	Auricolare
Intramuscolare (IM)	Orale
Sottocutanea (SC)	Vaginale
Intraperitoneale (IPe)	Vescicale
Intrapleurica (IPl)	Rettale
Intrarticolare (IT)	Cutanea
Intralesionale (IL)*	Periarticolare

* intracavitaria, dopo eliminazione del pus

Tabella 4: modalità di somministrazione dell'ossigeno-ozonoterapia.

L'ozono è un gas instabile, rappresenta meno del 5% della miscela gassosa e deve essere usato estemporaneamente. Può essere prelevato con una siringa di vetro siliconate, queste ultime purché usate solo una volta.

Tranne che per la via inalatoria (da evitare per la tossicità tracheo-bronchiale-polmonare), molte vie parenterali e topiche sono impiegate per somministrare l'ozono senza effetti tossici e con minimo disagio.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Le vie di somministrazione e di impiego, di seguito descritte, sono tutte state opportunamente testate e non si sono registrati effetti indesiderati con l'impiego dei dosaggi riportati.

Le dosi raccomandate per ciascun impiego non hanno fatto registrare danni o fenomeni di tossicità, infatti, alle dosi terapeutiche i meccanismi di protezione antiossidante dell'organismo sono sufficienti a controllare la produzione di radicali liberi, neutralizzandone l'azione nociva e favorendo la reazione antiossidante che è alla base del meccanismo d'azione della terapia.

5.1. Vie di somministrazione, dosi e volumi

Nelle vie di somministrazione periferiche, l'ozono viene somministrato più frequentemente tramite infiltrazione. Si utilizza una siringa sterile monouso, riempita con la miscela solo alcuni istanti prima dell'utilizzo; questo perché l'ozono degrada rapidamente, fino a scomparire del tutto trasformandosi nuovamente in ossigeno. In questo caso, la somministrazione diverrebbe del tutto inefficace, sebbene innocua.

Tale via comprende (Bocci et al., 2002):

- Intramuscolare Paravertebrale con possibilità di essere effettuate lungo tutta la lunghezza della colonna vertebrale. Per la parte cervicale si utilizzano concentrazioni di ozono fino a 15 µg/mL; per la parte dorsale e lombare al massimo 20 µg/mL.
- Profonda Paravertebrale Sono consigliate concentrazioni da 10 a 30 µg/mL di ossigeno-ozono con un volume tra i 5 e i 10 mL per punto di inserzione.
- Intradiscale viene effettuata con supporto radioguidato, spesso con paziente sedato. Si consiglia singola infiltrazione, ripetuta solo se necessario non prima di due, tre settimane. Si consiglia, per la discopatia lombare, 5-10 mL di O2-O3 ad una concentrazione di 25-35 µg/mL. Per la discopatia cervicale, si

indica, 2-3 mL di O2-O3 ad una concentrazione di 25-35 µg/mL.

- Intraforaminale per l'infiltrazione cervicale, si indica, un volume di 3-4 mL ad una concentrazione di 10-20 µg/mL. Per quella lombare, si utilizza la stessa concentrazione ad un volume di 7-10 mL alla stessa concentrazione.
- Intrarticolare si utilizza una concentrazione tra 10 e 20 µg/mL con un volume dipendente dalla dimensione dell'articolazione trattata.

5.2. Somministrazione per via endovenosa

Dal 1984, a causa di un caso di morte dovuto a embolia polmonare, sono state sconsigliate le vie di somministrazione intravenosa e intra-arteriosa dirette dalle Società scientifiche. In caso di Iniezione Intravenosa Diretta, anche se il gas è iniettato lentamente, esso genera una corrente di bolle gassose, in cui l'ozono (più solubile dell'ossigeno) si discioglie e reagisce con il sangue, mentre l'ossigeno, il cui dissolvimento nel circolo sanguigno è molto lento, può raggiungere il ventricolo destro e entrare così nella circolazione polmonare. Dobbiamo ricordare che la solubilità dell'ossigeno a 37°C è di 0,23 mL per 100 mL di plasma e, di conseguenza, il plasma venoso non può disciogliere l'ossigeno abbastanza rapidamente se la velocità di reinfusione è impropria, portando alla formazione di un embolo gassoso. Inoltre, la mancanza di studi preclinici circa la citotossicità sull'endotelio vascolare e la corretta velocità d'infusione, insieme all'assenza di studi controllati, rendono tale via al momento assolutamente non raccomandata.

5.3. Somministrazione per via parenterale

La miscela di O_2-O_3 viene somministrata attraverso vie differenti: intramuscolare (IM), sottocutanea (SC), intrarticolare (IT), ecc (Vedi Tabella 4).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Ossigeno e ozono dopo l'iniezione hanno destini molto diversi. Durante l'iniezione il gas si fa strada dove incontra una minore resistenza, per cui si creano degli spazi gassosi in cui ossigeno e ozono interfacciano superfici cellulari sempre ricoperte da un film acquoso derivante dal liquido interstiziale. L'ozono si solubilizza in modo più rapido rispetto all'ossigeno e si decompone istantaneamente, per cui il flusso di ozono verso lo strato acquoso è continuo e si esaurisce entro pochi minuti. L'ossigeno, essendo meno solubile, viene assorbito lentamente.

È stato riscontrato in pazienti sottoposti a somministrazione IM e SC un dolore urente improvviso, prevalentemente da causa chimica che può persistere anche per un'ora se il volume di gas iniettato supera i 15-20 mL e la concentrazione dell'O_3 è superiore a 20 µg/mL (Bocci et al., 2002). L'ossigeno da solo causa distensione e compressione meccanica di per sé non molto dolorosa. I composti chimici algogeni sono molto probabilmente ascrivibili a H_2O_2, HOCl, $OH^{\bullet}$ e a un possibile rilascio di bradichinina, di K^+, di ATP da lisi cellulare, di serotonina, istamina e di alcune prostaglandine. Il dolore è trasmesso da fibre C e forse anche δ, ma recede rapidamente sia per riduzione dei ROS sia per innalzamento della soglia e scomparsa degli impulsi depolarizzanti nelle fibre algogene di primordine.

Queste vie di somministrazione vengono usate per il trattamento del mal di schiena (Bonetti et al., 2005; De Oliviera et al., 2012; Niu et al., 2018).

5.4. Somministrazione per via rettale

Questo metodo fu introdotto da Payr nel 1935 e ulteriormente studiato da Knock e Klug (1990).

Consiste nell'insufflare lentamente nel colon-retto fino a circa 450 mL di O_2-O_3 a concentrazioni di ozono opportune, che possono oscillare tra 3 e 30 µg/mL.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Per infezioni a carico del tenue o del duodeno, questa metodica può essere utilizzata in combinazione all'uso di acqua iperozonizzata da bere.

Questo trattamento è utile anche nei casi di colite ulcerosa, proctite e nel morbo di Crohn.

Un particolare interessante è che ogni paziente può farsi l'autosomministrazione a domicilio se si procura un piccolo generatore che eroghi fino a 20 µg/mL di ozono.

Questo tipo di terapia può essere eseguita giornalmente per 5 volte alla settimana con aumenti progressivi, ad esempio 5 µg/mL, 7 µg/mL, 9 µg/mL, 11 µg/mL, 13 µg/mL nella prima settimana e successivamente 15, 17, 21 µg/mL fino a raggiungere i 30 µg/mL. Una volta indotto l'adattamento allo stress ossidativo, e se vi è stata una risposta positiva, si può continuare con una terapia di mantenimento a concentrazioni di 10-20 µg/mL.

L'ozono causa un notevole aumento della pO, in diversi distretti venosi intestinali già 8 minuti dopo l'insufflazione: gli aumenti sono più elevati nelle vene del colon e minori nella porta (circa 134% dopo 8 min) e nel parenchima epatico (circa 127% dopo 22 min) tornavano nella norma dopo circa 50 minuti. Questo non deve sorprendere perché la mucosa intestinale può, entro certi limiti, riassorbire dei gas che possono poi essere eliminati con l'aria espirata (Bocci et al., 2000).

Da vari studi scientifici si è appurato che nei 10-20 minuti dopo l'insufflazione, si verifica un aumento dei livelli plasmatici di perossidazione lipidica contemporaneamente a una diminuzione dei livelli di tioli plasmatici. Questo fenomeno è quasi certamente dovuto a una produzione transitoria e locale di H_2O_2 e LOPs, che dopo essere stati assorbiti sono in grado di svolgere le seguenti funzioni:

- Indurre gli effetti biochimici sopra descritti.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

- Modulare gli immunociti intra- e sotto-mucosali. I linfociti intraepiteliali di tipo T (sono di due classi: α-β di origine timica e γ-δ di origine locale. Questi ultimi inducono una risposta di tipo Th2, cioè antinfiammatoria e immunosoppressiva. Gli antigeni alimentari e batterici rappresentano uno stimolo continuo e solo in virtù di un costante dialogo tra gli enterociti e i linfociti intraepiteliali (γ-δ) si mantiene una perfetta omeostasi, la cui rottura può portare a un profondo ciclo involutivo della mucosa. Ciò è anche favorito da una diminuita secrezione di IgA secretorie e un contemporaneo calo della produzione di IL-4, IL-10 e TGF-β con aumentata produzione di IgE e di citochine proinfiammatorie.
- Attivare il sistema immuno-epatico, cioè i linfociti intraepatici e le cellule del Kupffer.
- Esercitare attività battericida. La lisi batterica favorisce il rilascio di vari componenti della membrana quali lipopolisaccaridi (LPS) che sono in grado di esplicare un'azione immunomodulante sia a livello epatico sia sistemico.

Pertanto, l'insufflazione rettale accentuerebbe il processo fisiologico di stimolazione basale immunitaria.

5.5. Uso topico

Quest'uso è molto utile in tutte quelle infezioni esterne particolarmente cronicizzate e sostenute sia da difetti circolatori che da traumi e ustioni contaminati con agenti patogeni antibioticoresistenti.

Le concentrazioni di ozono devono adattarsi al tipo e alla gravità della lesione. Nell'eventualità di essudati purulenti, la lesione può essere esposta per circa 20 minuti a 70-80 µg/mL di ozono, perché è necessaria una penetrazione dell'effetto disinfettante e comunque nella versione statica l'ozono decade rapidamente. Man mano che la lesione si deterge bisogna progressivamente ridurre la concentrazione

di ozono per non danneggiare il tessuto di granulazione e perché provocherebbe dolore urente (Bocci et al., 2004).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

6. Acqua e olio ozonizzati

Oggi, oltre al diretto uso del gas, viene utilizzata l'acqua ozonizzata e olio ozonizzato, preparato in forma di una pasta densa.

L'acqua costituisce circa il 70 % del corpo umano ed è impiegata a livello cellulare e tissutale in molteplici funzioni, pertanto:

- Contribuisce nel fornire energia al corpo; la disidratazione anche solo del 1-2% del peso corporeo diminuisce le forze e fa avvertire maggiormente il senso di stanchezza
- Aiuta a migliorare i problemi di acidità di stomaco; il nostro sistema digerente ha bisogno di una grande quantità di acqua per funzionare in maniera corretta
- Aiuta nel miglioramento della performance sportiva; l'acqua addizionata di ossigeno migliora anche la resistenza allo sforzo
- Diminuisce l'incidenza di cancro al colon e alla vescica
- può diminuire il rischio di attacchi cardiaci; è stato infatti dimostrato che chi beve più di 5 bicchieri di acqua al giorno ha il 41% di probabilità in meno di subire un infarto
- Evita l'insorgenza di cefalee causate da disidratazione
- Elimina le tossine e le sostanze di scarto prodotte dal metabolismo.

La quantità di acqua necessaria al nostro corpo la si può calcolare attraverso una semplice formula:

Peso in KG x 3 / 100

Es. 70 x 3 = 210 / 100 = 2,1 L di acqua necessaria

Questa è la quantità di liquidi che attraverso l'urina, il sudore e la respirazione viene eliminata giornalmente. È importante ricordare che bisogna bere anche se non se ne sente la necessità, perché lo stimolo della sete subentra quando si è già avviato il primo stadio della disidratazione.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

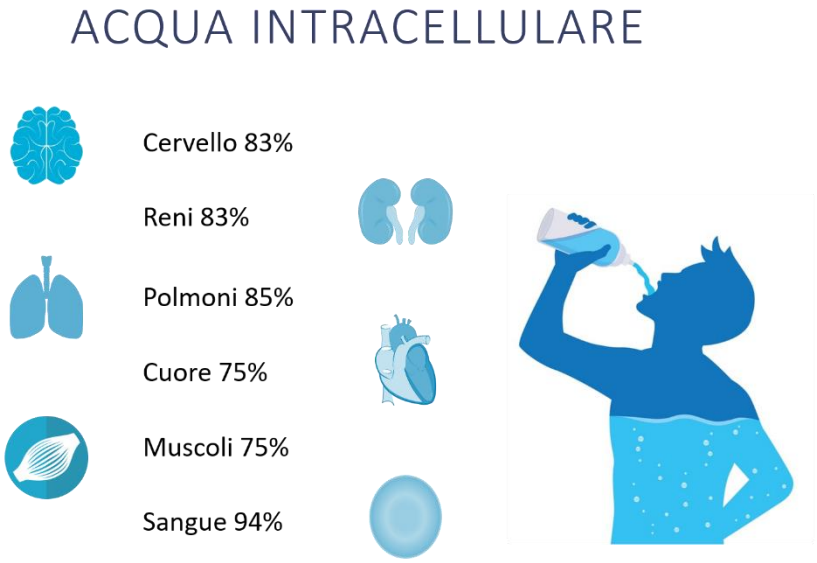


Figura 9: ripartizione dell'acqua cellulare nei vari distretti corporei.

Il nostro corpo non necessita solo di acqua, ma di acqua pulita ricca di ossigeno. Se l'acqua non è adeguatamente ossigenata, all'interno delle nostre cellule si producono accumuli tossici che causano molti danni tra cui calcoli renali e biliari, intossicazioni al fegato, problemi vascolari, cefalee, dismetabolismi intestinali (disbiosi) e aumento di peso.

Bere acqua depurata e ossigenata con ozono aiuta a mantenere il corpo in salute, perché l'ozono rende l'acqua salubre e ricca di ossigeno. L'acqua iperozonizzata possiede circa il 200% di ossigeno in più rispetto alle comuni acque da bere, è priva di batteri, funghi, spore, lieviti e virus e non contiene metalli pesanti e prodotti chimici.

Priva di elementi tossici, di cariche batteriche e virali, l'acqua iperozonizzata ha una polarizzazione magnetica appropriata che

permette di ripristinare una corretta popolazione cellulare con restituzione degli scambi intra ed extra cellulari.

L'uso quotidiano di acqua iperozonizzata trova largo impiego nel trattamento di numerose patologie gastriche, come le gastriti da *Helicobacter pylori*, eliminando il batterio dopo circa 15 giorni di assunzione di acqua iperozonizzata, evitando così l'uso di antibiotici. Gastriti, gastroenteriti, infezioni da *Criptosporidium* (tipiche in pazienti con HIV) o da parassiti, da *Helicobacter pilori*, possono essere trattate bevendo 1-2 bicchieri di acqua ozonizzata a digiuno ed eventualmente a stomaco vuoto nel corso della giornata.

L'acqua iperozonizzata ha proprietà medicali; grazie al suo potere ossidante, penetra all'interno delle cellule batteriche distruggendole; pertanto è in grado di combattere le infezioni. Usata nei primi minuti successivi alla sua produzione, permette di fare una vera e propria terapia ad ozono direttamente a casa propria.

L'assunzione per via orale di 2 o 4 bicchieri di acqua iperozonizzata al giorno trova grande efficacia nel trattamento di:

- Infiammazioni oculari
- Riniti
- Mal di testa legato alla disidratazione e alla mancanza di ossigeno
- Gengiviti, afte
- Reflusso gastroesofageo
- Cattiva digestione, acidità di stomaco;
- *Helicobacter pylori*
- Coliti e malattie dell'intestino crasso
- Disbiosi intestinali, che causano diarrea e stitichezza, coliti, Morbo di Crohn, intolleranze alimentari
- Colon irritabile
- Cistiti croniche
- Vaginiti

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

L’uso regolare di acqua iperozonizzata migliora anche il sistema immunitario.

L'acqua iperozonizzata è utilizzata per eseguire lavaggi nasali, del cavo oro-faringeo e delle parti intime. Somministrata attraverso clisteri, l’acqua ozonizzata trova largo impiego nella cura del colon irritabile.

Somministrata per irrigazione, a seconda del problema, combatte infezioni fungine, candidosi vaginali, riniti, infiammazioni locali.

Per via topica è utilizzata per il trattamento delle malattie della pelle, come psoriasi, herpes, eczema, acne e brufoli.

È utile riassumere i meccanismi biologici attivati dall'applicazione topica dell'ozono.

- L'azione disinfettante (non sterilizzante) con conseguente diminuzione della carica batterica, virale e fungina è inferiore solo allo iodio.
- La vasodilatazione, l'iperossigenazione, la diminuzione dell'acidità tissutale e il riassorbimento dell'edema (anche se non scientificamente documentati) possono instaurare un'attivazione metabolica. Ciò comporta un incremento della proliferazione cellulare da parte dell'endotelio, dei fibroblasti e dei cheratinociti congiunta a un'aumentata sintesi dei componenti (fibrina, fibronectina, acido ialuronico, condroitina solfato, collageno l/III) della matrice interstiziale.

Il processo cli cicatrizzazione è molto lento specialmente in soggetti anziani e si compie in almeno tre fasi (Martin, 1997).

Iperozonizzando l’acqua, viene innalzato il suo potenziale elettrochimico, permettendo all’acqua stessa di permeare più velocemente le membrane cellulari.

Il processo di ozonizzazione dell’acqua avviene attraverso il gorgogliamento di ozono in un recipiente di vetro contenente l’acqua

da ozonizzare. Le molecole di acqua vengono addizionate di un ulteriore atomo di ossigeno, senza il rilascio di alcun composto tossico. Dopo ozonizzazione, l'ossigeno presente nelle molecole di acqua viene rilasciato nell'ambiente secondo tempi dipendenti dalla temperatura ambientale.

Acqua (pH 7)

Temp (°C)	**Dimezzamento**
15	30 minuti
20	20 minuti
25	15 minuti
30	12 minuti
35	8 minuti

Tabella 5: tempi di dimezzamento dell'ozono in acqua a pH 7 e a differenti temperature.

I benefici dell'acqua iperozonizzata si estendono anche alla sanificazione del cibo. Lavare frutta, verdura e carni permette di abbattere la carica batterica e di contaminanti presente in essi. Nell'industria alimentare l'utilizzo dell'ozono avviene sempre più di frequente, sia nella lavorazione che nel confezionamento e lavaggio dei prodotti (frutta, verdura, carni, prodotti ittici, ecc.), per migliorarne la sicurezza, la qualità e tempi dì conservazione.

La sanificazione svolta dall'ozono controlla la contaminazione da etilene, preservando la consistenza e il sapore di frutta e verdura e libera l'acqua dai residui di metalli pesanti come ferro, rame, manganese cloro, pesticidi e erbicidi, radon e gas sulfurei, migliorandone odore e sapore.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Oltre all'acqua iperozonizzata, anche l'olio, dopo il processo di ozonizzazione, viene utilizzato nell'ozonoterapia.

L'olio d'oliva viene ozonizzato mediante il gorgogliamento dell'ozono al suo interno. Il processo è lungo e viene affiancato a un processo di raffreddamento, necessario per evitare l'eccessiva ossidazione delle catene di acidi grassi presenti nella molecola che porta all'irrancidimento dell'olio d'oliva.

L'ozono viene fatto gorgogliare direttamente nell'olio di oliva per un tempo stabilito; l'ozono in questo modo si lega alle catene lipide dell'olio di oliva modificandone la composizione, rimanendo presente come atomi di ossigeno.

Questo processo inizia a trasformare il liquido in una forma più densa che può essere utilizzata per il trattamento delle infezioni cutanee.

La quota di lipidi dell'olio di oliva che ha reagito con l'ozono porta alla formazione di sostanze ad elevata azione biologica detti ozonidi, ozonuri e perossidi che esplicano la loro azione quando vengono a contatto con la pelle. I principali effetti sono:

- Migliorare l'ossigenazione locale;
- Contrastare direttamente i radicali liberi effettuando un'azione antiossidante diretta;
- Stimolare ed attivare gli enzimi antiossidanti naturali presenti svolgendo un'azione antiossidante indiretta;
- Stimolare ed attivare il metabolismo cellulare;
- Svolgere azione battericida, fungicida e virustatica;
- Svolgere azione riepitelizzante e rigenerante dei tessuti cutanei;
- Svolgere azione lenitiva ed anti-infiammatoria.

L'olio d'oliva può essere preparato agevolmente e mantenuto in frigorifero per un lungo tempo (a 5-7°C) al buio. La composizione chimica mostra una prevalenza di ozonidi, radicali perossilici e un residuo di trioleina. La preparazione risulta viscosa a circa 22°C e

molto densa a 6°C. Se ben conservato, può rimanere stabile per diversi mesi. L'olio ozonizzato possiede un'attività germicida, in 15-20 minuti contro stafilococchi (*Staphilococcus aureus*, *Staphilococcus epidermidis*), streptococchi fecali, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *Candida albicans*.

Le applicazioni dell'olio ozonizzato vanno dalla proctologia (proctiti, ragadi, emorroidi) alla ginecologia (infezioni vaginali batteriche e fungine), alla dermatologia (epidermofitosi, onicomicosi, ulcere di vario tipo) e persino all'oftalmologia (con precauzioni diluite). L'applicazione per via topica ha una buona efficacia e non ha effetti nocivi.

L'olio ozonizzato è indicato per infezioni batteriche, micosi, herpes, psoriasi, acne, dermatiti in generale, scottature, emorroidi, punture di insetti, reazioni allergiche, scottature e soprattutto per le piaghe da decubito.

L'ozonizzazione di acqua bidistillata e di oli vegetali è realizzata tramite il gorgogliamento di una miscela di gas (O_2-O_3) in essi. Nel caso dell'acqua, circa 5 minuti possono essere sufficienti per 2 o 3 litri, mentre per 100 grammi di olio vegetale, possono essere necessarie diverse ore se vengono impiegate apparecchiature per l'ozonoterapia medicale. Dobbiamo tenere presente che molti ozonidi formati negli oli vegetali hanno caratteristiche volatili potenzialmente pericolosi; di conseguenza, non è consigliabile che persone inesperte possano applicare queste procedure. Questo è il motivo per cui l'olio ozonizzato è fondamentalmente prodotto in laboratori semi-industriali, che seguono norme di sicurezza e con un personale specializzato.

Non va impiegata l'aria per produrre l'ozono medicale, poiché essa può provocare la formazione di composti azotati tossici. La concentrazione di ozono in acqua pura, dovuta alla solubilizzazione dell'ozono, corrisponde a circa il 25% della concentrazione di ozono nel gas utilizzato, a temperatura ambiente, sufficiente per una

disinfezione ottimale. Un grammo di olio può assorbire più di 160 mg di ozono. Mentre l'acqua ozonizzata è efficace per più di un giorno se mantenuta refrigerata, l'olio rimane stabile per 2 anni se congelato o mantenuto in luogo fresco. Entrambi agiscono come potenti disinfettanti e accelerano la guarigione stimolando la proliferazione cellulare. Una volta che la comunità medica riconoscerà la loro efficacia, entrambe, acqua ozonizzata e olio, potrebbero diventare strumenti essenziali nelle unità operative per il trattamento di ferite croniche. Attualmente nelle farmacie europee sono presenti prodotti come l'Azexin – olio di semi di girasole ozonizzato – registrato all'EMEA come prodotto sanitario con indicazione per il trattamento delle lesioni cutanee.

L'ozono come disinfettante dell'acqua potabile è più efficace del cloro nell'inattivare patogeni umani come, ad esempio 63 differenti batteri (*Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Legionella* ecc.) diverse varietà di lievito e fino a 13 funghi patogeni (*Alternaria*, *Monilinia*, *Rhizopus* ecc.). Più recentemente, a causa della contaminazione delle acque sotterranee da materiale fecale, il problema della disinfezione è diventato ancora più complesso poiché i protozoi incistati, come la Giardia Lamblia, o le cisti del *Cryptosporidium parvum* e le uova di elminti (*Ascaris suum* e *Ascaris lumbricoides*), richiedono un contatto con l'ozono più prolungato dei batteri e dei virus. Ogni anno, il *Cryptosporidium* provoca epidemie di malattia che possono mettere in pericolo di vita per i pazienti anziani o gravemente malati (AIDS).

Altro impiego efficace nel prevenire epidemie d'infezioni intestinali è la possibilità di impiegare l'ozono come agente antimicrobico a diretto contatto con cibo e frutta. Il 26 giungo 2001, la Food and Drug Administration (FDA) ha approvato ufficialmente l'utilizzo dell'ozono in fase gassosa e acquosa, come agente antimicrobico per il trattamento, l'immagazzinamento e la lavorazione del cibo (Rice et al., 2001). Dobbiamo sottolineare che, oltre a disinfettare l'acqua potabile, l'impiego dell'ozono può migliorare le caratteristiche

organolettiche. Infatti, esso migliora la coagulazione e la flocculazione, ossida le componenti di sapore e odore cattivo (come ferro e manganese), aumenta l'estrazione di particelle nei filtri mediante il carbone attivo granulare. L'efficacia dell'ozono è stata convalidata da oltre 3000 impianti di trattamento dell'acqua in tutto il mondo.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

7. Reazioni di ozonizzazione

L'ozono, con peso molecolare di 48 Da, è costituito da 3 atomi di ossigeno. Si forma dall'ossigeno con un processo endotermico:

$$3\ O_2 \leftrightarrow 2\ O_3 - 68.400\ cal$$

La reazione è reversibile e la velocità di dissociazione da ozono a ossigeno dipende dalla temperatura.

L'ozono è un gas instabile e decade più o meno rapidamente.

Attualmente l'importanza di conoscere l'esatta concentrazione di O_3 al prelievo è basilare per eseguire l'ozonoterapia in modo adeguato e riproducibile.

7.1. Solubilità dell'ozono nell'acqua e preparazione dell'acqua iperozonizzata

Il problema della solubilità dell'O_3 in acqua è importante per la preparazione e l'utilizzazione dell'acqua iperozonizzata in terapia. La legge che regola la soluzione di un gas in un liquido, definita da Henry nel 1803, stabilisce che il volume di un gas disciolto è proporzionale alla pressione che il gas esercita sul liquido. Per l'ozono questa legge è valida solo in condizioni termodinamiche ideali.

L'ozono passa in soluzione in rapporto alla sua pressione parziale, concentrazione e temperatura. La saturazione di O_3 nell'acqua non si raggiunge prima di 5 minuti, tempo in cui si raggiunge il plateau e oltre il quale è inutile continuare il gorgogliamento di O_3.

L'ozono non è una molecola radicalica e può essere rappresentato con la struttura O=O–O.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

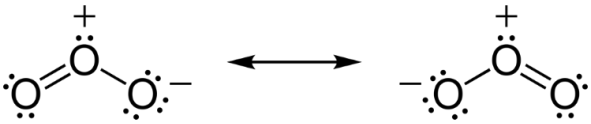


Figura 10: strutture di risonanza dell'ozono.

Nei liquidi biologici i substrati con i quali l'ozono reagisce sono gli acidi grassi insaturi (PUFA) e i composti riducenti come il glutatione ridotto (GSH) e le proteine ricche dell'amminoacido cisteina.

Il plasma e il liquido extracellulare contengono sia PUFA legati all'albumina o nelle lipoproteine, sia GSH.

7.2. Serie di reazioni chimiche tra ozono e una molecola di PUFA secondo Criegée e Pryor

L'ozono reagisce con il doppio legame C=C di un acido grasso insaturo e dà il via a una cascata di prodotti diversi, quali ozonuri e ozonidi se la reazione avviene in ambiente lipofilo, oppure perossido di idrogeno (H_2O_2) e le aldeidi se la reazione avviene in acqua.

La reazione fondamentale che avviene è la seguente:

$$\begin{array}{l} RC{=}CR' + O_3 + H_2O \rightarrow R{-}C{=}O + R'{-}C{=}O + H_2O_2 \\ \quad | \;\; | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \qquad\quad | \\ \quad H \;\; H \qquad\qquad\qquad\qquad\quad H \qquad\quad H \end{array}$$

Pertanto l'ozonizzazione di 1 mole di PUFA genera 1 mole di H_2O_2 e 2 moli di aldeide. La produzione di H_2O_2 è diventata cruciale per comprendere la genesi di alcune risposte biologiche.

La degradazione del H_2O_2 è dovuta a tracce di enzimi antiossidanti (catalasi e GSH)

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Ricordiamo che l'H_2O_2 è un antiossidante, ma non è un radicale. Nell'acqua del plasma ci sono altri soluti idrosolubili, come la Vitamina C e il GSH; quest'ultimo è un tripeptide, il cui gruppo tiolico (–SH) è un potente riducente. Durante l'ozonizzazione del plasma il GSH reagisce istantaneamente con l'ozono con la formazione dell'anione ozono radicalico:

$$GSH + O_3 \rightarrow GSH^{+\bullet} + O_3^{-\bullet}$$

Questo prodotto è molto instabile e dopo essere protonato forma il radicale idrossilico:

$$O_3^{-\bullet} + H^+ \rightarrow OH^\bullet + O_2$$

In questo modo l'ozono si trasforma nel radicale idrossilico, che dura in circolo per circa un millisecondo.

Il radicale idrossilico si forma anche con la reazione di Haber-Weiss

$$H_2O_2 + O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$$

In questo modo l'ozono si trasforma nel radicale idrossilico, che dura in circolo per circa un millisecondo.

Il radicale idrossilico si forma anche con la reazione di Haber-Weiss

$$H_2O_2 + O_2 \rightarrow OH^\bullet + OH^- + O_2$$

In tal modo l'ozono viene convertito nel radicale idrossilico che ha una vita media molto breve, perché è talmente reattivo da attaccare qualsiasi molecola (enzimi, DNA, ecc.) presente nell'immediata vicinanza.

In presenza di eccessive quantità di H_2O_2, potrebbe liberarsi Fe2+ che promuove la reazione di Fenton:

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^\bullet + OH^-$$

Il ferro trivalente può essere ridotto combinandosi con l'anione superossido e quindi può dare il via a una seconda reazione.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Sia il Fe che il Cu allo stato ionico sono ottimi promotori di reazioni radicaliche perché possono facilmente ricevere o donare elettroni:

$$Fe^{3+} + e^- \Leftrightarrow Fe^{2+} + Cu^{2+} + e^- \Leftrightarrow Cu^+$$

Il Cu^{2+} promuove l'ossidazione dei tioli come segue:

$$R–SH + Cu^{2+} \rightarrow R–S^\bullet + Cu^+ + H^+$$

Il radicale idrossilico è molto deleterio perché reagendo con biomolecole non radicaliche scatena delle reazioni a catena con effetti imprevedibili. Quando reagisce con dei tioli:

$$R–SH + OH^\bullet \rightarrow RS^\bullet + H_2O$$

crea dei radicali tiolici che, combinandosi con l'O_2, generano a loro volta radicali solfinilici quali $RSO_2^\bullet$ e $RSO^\bullet$, potenzialmente tossici anche se in grado minore di $OH^\bullet$.

La reazione più temuta, scatenata dall'$OH^\bullet$, è una reazione a catena di *perossidazione lipidica*. Fungendo da iniziatore, l'$OH^\bullet$ attacca i PUFA, e in particolare l'acido arachidonico, presente sia nell'albumina sia nei trigliceridi, nelle lipoproteine e nei fosfolipidi di membrana (Pryor, 1993). All'inizio l'$OH^\bullet$ sottrae un elettrone da un PUFA con tre doppi legami con formazione di H_2O e di un radicale centrato sul carbonio (1):

$$–CH=CH– OH^\bullet \rightarrow –C^\bullet– + H_2O$$

Quest'ultimo è instabile e va incontro a una riorganizzazione molecolare, strutturandosi come un diene coniugato (2). Se due di questi radicali lipidici collidono, l'accoppiamento dei due elettroni spaiati crea un legame covalente e un ingombro sterico nella membrana. Tuttavia, in condizioni fisiologiche, la reazione più frequente avviene con O_2, con la formazione di un radicale perossilico: $ROO^\bullet$ (3).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Questo nuovo radicale è molto reattivo e, fungendo da propagatore, sottrae un elettrone a una catena lipidica vicina (4), dando il via a una reazione a catena (si riparte dal punto 1) e alla formazione di un lipoidroperossido (ROOH).

Pertanto un $OH^{\bullet}$ in brevissimo tempo può convertire diverse centinaia di catene alifatiche in lipoidroperossidi. Queste sono molecole relativamente stabili, ioniche e sono degradabili dalla GSH-Px ad alcoli e H_2O.

Nel 1968 McCord e Fridovich scoprirono (Fridovich, 1995) di un enzima, denominato Superossido Dismutasi (SOD), in grado di dismutare l'anione superossido $O2^{-\bullet}$ a O_2 secondo la seguente reazione:

$$2\ O2^{-\bullet} + 2\ H^{+} \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

L'anione superossido si forma anche in condizioni fisiopatologiche nei leucociti (polimorfonucleati neutrofili, monociti, macrofagi) allorché la catena respiratoria viene attivata al massimo durante la fagocitosi (respiratory burst) ad opera di un complesso enzimatico costituito dalla NADPH ossidasi legata alla membrana cellulare (Chanoch et a1.,1994):

$$NADPH + 2\ O_2 \rightarrow NADP^{+} + 2\ O_2^{-\bullet} + H^{+}$$

Come è ben noto, sia l'$O2^{-\bullet}$ che H_2O_2, e l'acido ipocloroso (HOCl) hanno una potente azione antibatterica e quindi difensiva.

Un'altra molecola non radicalica ma reattiva che potrebbe formarsi durante l'ozonizzazione dei liquidi biologici è l'ossigeno singoletto, $^1O_2$.

La reazione dell'$O2^{-\bullet}$ con H_2O_2 può generarlo:

$$O_2^{-\bullet} + H_2O_2 \rightarrow OH^{-} + OH^{\bullet} + {}^1O_2$$

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

L'$^1O_2$ può essere prodotto durante il metabolismo degli idroperossidi, mediante citocromo P450 o

l'enzima prostaglandina-endoperossido sintetasi:

$$2\ ROOH \rightarrow 2ROH + {}^1O_2$$

Questa reazione potrebbe avvenire in vivo durante l'infusione del sangue ozonizzato.

Possiamo di seguito riassumere i concetti maggiormente importanti:

1) L'ozono si discioglie completamente in acqua purissima in un tempo di 5 minuti e raggiunge una concentrazione che corrisponde al 25% della concentrazione del gas in rapporto alla temperatura e alla pressione relativa dell'ozono. L'ozono disciolto in acqua è stabile per circa 24 ore e può essere utilizzato come un ottimo disinfettante per lesioni infette delle mucose (orale, vaginale, rettale, ecc.) e della cute (Vedi Paragrafo 8).

2) L'ozono, solubilizzato nel plasma, reagisce istantaneamente con varie biomolecole riducenti, cioè donatrici di elettroni (acidi grassi insaturi, PUFA, antiossidanti quali acido urico e ascorbico, tioli contenenti gruppi sulfidrilici, R-SH, particolarmente albumina) generando un atomo di ossigeno radicalico e molto reattivo:

$$O_3 + \text{Biomolecole} \rightarrow O_2 + O^{\bullet}$$

L'ozono non viene direttamente assorbito dalle mucose e dalle cellule, dal momento che, dopo la reazione sopra citata, l'ozono si è degradato e una parte delle molecole presenti nel plasma sono state ossidate.

3) La reazione fondamentale:

$$RCH = CHR' + O_3 + H_2O \rightarrow RCH = O + R'CH = O + H_2O_2$$

dimostra che l'ozono, reagendo con il doppio legame di un acido grasso insaturo, genera due molecole di aldeidi (definite "prodotti di

ossidazione lipidica" o lipid oxidation products, LOPs) e H_2O_2. Questo composto rientra nei prodotti reattivi dell'ossigeno (reactive oxigen species, ROS) che includono altre molecole quali l'anione superossido, $O_2^{-\bullet}$, il monossido di azoto, NO, l'acido ipocloroso, HOCl e lo ione idrossile $OH^{-\bullet}$. Quest'ultimo può formarsi in presenza di $H_2O_2 + O_2$ con la reazione di Haber-Weiss.

La concentrazione dei ROS e dei LOPs dipende dalla capacità antiossidante del sangue e dalla concentrazione di ozono, che deve essere perfettamente calibrata in modo da stimolare l'attività biologica senza danneggiare le cellule ematiche. Infatti, usando eccessive dosi di ozono, si possono osservare danni cellulari legati al possibile aumento dello ione idrossile, dell'acido ipocloroso e dell'anione perossinitrito ($O=NOO^-$).

È importante precisare che i ROS hanno una emivita brevissima: da $1x10^{-9}$ sec per il $OH^{-\bullet}$ a un massimo di 1-2 sec per il H_2O_2. Pertanto, quando il sangue entra in contatto ex vivo con la miscela gassosa ossigeno-ozono, i ROS si generano e scompaiono con estrema rapidità, mentre i LOPs sono molto più stabili, almeno in vitro.

Dal momento che nel plasma è presente una miscela eterogenea di lipidi, il processo di perossidazione, sia quello naturale che quelle dovuto all'ozono, determina inevitabilmente la produzione di una miscela eterogenea di LOPs. Durante il processo di ozonizzazione del sangue, un'aliquota dell'ozono reagisce con gli acidi grassi insaturi presenti nel plasma (PUFA legati all'albumina o ai chilomicroni o alle lipoproteine) ed è inevitabile un transitorio aumento di lipoperossidi e aldeidi. Poiché le aldeidi e/o le molecole radicaliche sono intrinsecamente dannose, la concentrazione di ozono deve essere precisa e oculata in modo da generare la minima quantità dei LOPs. Tuttavia, la loro tossicità è minimizzata dalla loro diluizione nei liquidi biologici, e dalla contemporanea inattivazione enzimatica, a opera delle GSH-transferasi, GSH-Tr e aldeide-deidrogenasi che agiscono come meccanismo difensivo della cellula. Tali processi protettivi in

breve tempo riducono i LOPs in concentrazioni utili al raggiungendo ogni tessuto e organo.

4) Lo stress ossidativo acuto indotto dall'ozono sembrerebbe dannoso ma, con concentrazioni ben studiate, si può realizzare in modo adeguato e tale da suscitare una risposta biologica utile senza effetti tossici.

5) La concentrazione di ozono deve rientrare entro la "finestra terapeutica" che, dopo varie ricerche cliniche e scientifiche è fissata tra 10 e 80 µg/mL di gas x mL di sangue e deve essere selezionata per il tipo di patologia, la fase della malattia, l'età, il peso corporeo e la situazione metabolica del paziente. Una dose inferiore ai 5-10 µg/mL è totalmente priva di efficacia poiché in tale concentrazione l'ozono viene totalmente neutralizzato dagli antiossidanti plasmatici. Una dose superiore agli 80 µg/mL potrebbe, invece, essere dannosa. Idealmente la dose ottima è quella che ottiene il massimo effetto biologico e terapeutico senza effetti collaterali. Una strategia utile consiste nell'iniziare con bassi dosaggi (circa 20 µg/mL) e lentamente, basandosi sulla reattività e la risposta del paziente, aumentare progressivamente la dose fino a raggiungere la dose nota come idonea per una determinata patologia.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

I protocolli ozono per uso domiciliare sono realizzati con sistemi di produzione ozono ambientale, con attrezzature costruite e concepite da Cerebro® S.r.l. nei modelli Ozon One e Ozon 2000.

Tutte i modelli realizzati sono conformi alle normative vigenti come dispositivi elettromedicali e hanno agevolazioni per chi li utilizza per necessità di tipo sanitario.

Le attrezzature sono realizzate in Italia, con tecnologia italiana, e collaudate da personale sanitario. I protocolli sono determinati da specifiche concentrazioni, sviluppate con i nostri modelli.

Non si risponde di combinazioni tra le nostre indicazioni e quelle presenti sul mercato.

Uno strumento elettromedicale è differente da un elettrodomestico.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

	ARIA	ACQUA	OLIO
Ozon ONE		✓	X
Ozon 2000 Home	✓	✓	✓
Ozon 5000 Professional	✓	✓	✓

Istituto San Celestino®

In collaborazione con

Ecotech®

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8. Protocolli per trattamenti domiciliari di ozonoterapia

Tutti i protocolli medicali, elencati di seguito, sono frutto dell'esperienza clinica e scientifica di Cerebro® S.r.l. e pertanto di proprietà dell'azienda.

È vietata ogni riproduzione e divulgazione.

Modalità di produzione dell'acqua iperozonizzata e olio iperozonizzato utilizzando la strumentazione del progetto Cura Italia di Cerebro® S.r.l.

Acqua iperozonizzata

Ozon One	✓
Ozon 2000	✓

Olio iperozonizzato

Ozon One	X
Ozon 2000	✓

Per ulteriori informazioni e segnalazioni

info@cerebrostartup.it

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

PROCEDIMENTO PER OTTENERE L'ACQUA IPEROZONIZZATA

Ozon ONE

Prima di accendere il generatore di ozono, porre l'acqua in una bottiglia o in un contenitore in vetro. In alternativa utilizzare la borraccia Ozon One.

Prendere il tubo in silicone in dotazione e inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono.

Inserire nell'altra estremità del tubo il gorgogliatore in dotazione e successivamente immergerlo nel contenitore o nella bottiglia contenente l'acqua.

NB: il gorgogliatore va inserito in acqua prima di accendere la macchina. Solo dopo averlo immerso si può accendere lo strumento.

Si raccomanda, durante l'utilizzo dell'apparecchiatura per ozonizzare l'acqua, di mantenere il contenitore con l'acqua da trattare in una posizione più bassa rispetto all'apparecchio. Non coprire con l'acqua l'intero tubo per evitare che si possa creare un fenomeno di ritorno dell'acqua nell'apparecchiatura che la danneggerebbe irrimediabilmente.

Accendere il generatore e erogare ozono per 4'.

NB: la durata di utilizzo dell'acqua ozonizzata varia in base alla temperatura; utilizzarla entro 12 h dalla produzione.

In caso di usura del tubo, utilizzare un tubo in silicone. Tubo di silicone e gorgogliatore sono reperibili nei negozi di vendita per acquari.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Ozon 2000 Home

Prima di accendere il generatore di ozono, porre l'acqua in una bottiglia o in un contenitore in vetro.

Prendere il tubo in silicone in dotazione ed inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono.

Inserire nell'altra estremità del tubo il gorgogliatore in dotazione ed immergerlo nel contenitore o nella bottiglia contenente l'acqua.

NB: il gorgogliatore va inserito in acqua prima di accendere la macchina. Solo dopo averlo immerso si può accendere lo strumento.

Si raccomanda, durante l'utilizzo dell'apparecchiatura per ozonizzare l'acqua, di mantenere il contenitore con l'acqua da trattare in una posizione più bassa rispetto all'apparecchio. Non coprire con l'acqua l'intero tubo per evitare che si possa creare un fenomeno di ritorno dell'acqua nell'apparecchiatura che la danneggerebbe irrimediabilmente.

Accendere il generatore e erogare ozono per 2'.

NB: la durata di utilizzo dell'acqua ozonizzata varia in base alla temperatura; utilizzarla entro 12 h dalla produzione.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.1. Infezioni oculari

Nell'occhio umano coesistono numerosi microhabitat batterici, la cui composizione riflette i livelli di esposizione all'ambiente esterno. La popolazione batterica che popola l'occhio è suddivisibile in 3 gruppi. Il primo è costituito da *Corynebacterium* e *Staphylococcus*, microrganismi residenti sulla pelle e sul margine palpebrale che da qui si spostano sulla superficie oculare. Il secondo gruppo è costituito da microrganismi localizzati principalmente sulla superficie oculare e rilevati a bassi livelli sulla pelle, sul margine palpebrale e sulla congiuntiva. Al terzo gruppo appartiene il genere *Pseudomonas*, presente nella congiuntiva e all'interno del margine palpebrale.

La superficie oculare, in condizioni di equilibrio fisiologico, costituisce la prima linea di difesa dell'occhio, dove vengono individuati e neutralizzati molti potenziali attacchi sia di natura microbica che correlati a fattori ambientali.

La superficie oculare e il film lacrimale funzionano come una un'unica entità funzionale e l'equilibrio delle specie batteriche, l'integrità delle loro componenti, l'idoneo pH e la giusta concentrazione elettrolitica e di alcune sostanze organiche, hanno diretta influenza sul suo fisiologico funzionamento.

L'ozonoterapia ha molteplici effetti biologici con i suoi meccanismi fondamentali di ossigenazione, antiossidazione e disinfezione. Pertanto trova grande utilizzo nella cura di infezioni congiuntivali, di cheratiti e ulcere corneali resistenti alla terapia medica tradizionale.

Nell'ultimo decennio l'ozono è stato utilizzato anche nelle varie forme di maculopatie, in affiancamento alle terapie integrative convenzionali (Marchegiani et al., 2017; Grechi et al., 2017).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.1.1. Protocollo per il trattamento delle infezioni oculari

- Lavaggi con acqua ozonizzata al bisogno.

Riempire il lavabulbo oculare con acqua iperozonizzata.

Posizionare il lavabulbo ben aderente all'occhio da trattare.

Inclinare la testa all'indietro senza staccare il lavabulbo dall'occhio e versare il contenuto del lavabulbo all'interno dell'occhio.

Se necessario, ripetere la procedura.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.2. Infezioni orofaringee e del cavo orale

La cavità orale è suddivisa in vestibolo della bocca e cavità orale propriamente detta ed è delimitata dal palato, dal pavimento orale, dalle guance e dalle labbra, così come dall'ugola e dagli archi palatini. La mucosa orale è una membrana riccamente vascolarizzata e innervata che riveste tutto l'interno di labbra, guance e parte inferiore delle arcate dentali. Il pH fisiologico è di 7.4, diventando poco più acido successivamente ai pasti e durante il sonno.

Il cavo orale è popolato da numerose specie batteriche, quali *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* e *Actinobacteria*, in equilibrio tra loro. La composizione e la concentrazione dei batteri della bocca dipendono da vari fattori, ad esempio la disponibilità dei nutrienti, la temperatura, concentrazione di ossigeno. In condizioni patologiche, un cambiamento dell'ambiente orale causa la proliferazione di batteri e dà origine a infezioni.

La mucosa orale può essere sede di numerose patologie. Una delle patologie collegate alla mucosa orale sono ad esempio le afte. Altra causa di problemi alla mucosa orale sono le malattie infettive o lesioni meccaniche che causano stomatiti, ascessi dentali, gengiviti, parodontiti, ulcere erpetiche, infezioni micotiche.

L'ozonoterapia in tal senso può essere utilizzata per la cura dell'igiene orale e nel trattamento di afte, piorree, paradontiti e infezioni gengivali (Shmakova et al., 2009; Deepthi et al., 2020).

Molte infezioni orofaringee, quali mal di gola e tonsillite, sono causate da virus, batteri o allergie. L'ozono, grazie al suo potere ossidante e disinfettante, è in grado di degradare le componenti cellulari batteriche e di inattivare i virus responsabili delle infezioni orofaringee.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.2.1. Trattamento delle infezioni orofaringee e del cavo orale

In acuto, effettuare sciacqui di acqua ozonizzata per 2-3 minuti 4-6 volte al dì fino a miglioramento.

A seguire, effettuare sciacqui e gargarismi con acqua ozonizzata per 2-3 minuti mattino e sera.

Utile per tutto l'intero periodo invernale, da utilizzare come igiene personale al mattino e alla sera, indipendentemente dalla sintomatologia, il prodotto non da sensibilità, ne reazioni allergiche, anche a lavaggi prolungati per tutto l'anno.

Usare l'acqua iperozonizzata a seguito della igiene dentale come lavaggio finale.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.3. Infezioni delle vie respiratorie

Le vie aeree superiori sono costituite dalle cavità nasali e paranasali, faringe e laringe.

La mucosa nasale è fondamentale per il corretto funzionamento dell'intero apparato respiratorio. Le fosse nasali e le cavità sinusali sono ricoperte da un epitelio respiratorio che rappresenta una barriera fisica e un'interfaccia tra l'interno del nostro organismo e l'ambiente esterno. La mucosa nasale è la prima linea di difesa contro sostanze volatili con proprietà fisico-chimiche potenzialmente tossiche o agenti infettivi veicolati dall'aria.

I lavaggi dei turbinati nasali con acqua iperozonizzata permettono di evitare l'insorgenza di infezioni a carico delle vie respiratorie e, in caso di infezioni già in atto, accelerano il processo di guarigione (Peci et al., 2021). Il lavaggio con acqua ozonizzata permette inoltre l'eliminazione di residui batterici e virali dalle cavità nasali.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.3.1. Trattamento delle infezioni respiratorie

- Lavaggi nasali

Utilizzare il kit per il lavaggio nasale in dotazione o eventualmente una siringa sterile senz'ago a cui aggiungere la cannula nasale. Riempire la bottiglia o la siringa con acqua ozonizzata.

Utilizzare come uno spray nasale.

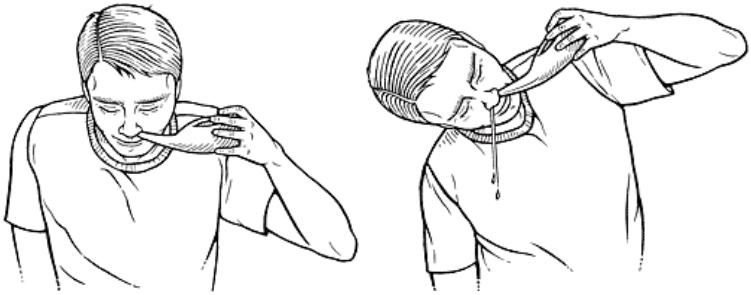
Piegare leggermente la testa a destra, spruzzare il contenuto della peretta/siringa nella narice sinistra.

Ripetere l'operazione piegando leggermente la testa a sinistra, spruzzare il contenuto della peretta/siringa nella narice destra.

In fase acuta più volte al dì fino a miglioramento.

Proseguire con lavaggi nasali una volta al dì.

Può essere utile come igiene per tutti.



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.3.2. Lavaggi nasali in caso di tampone positivo per COVID-19

È stato dimostrato che in caso di positività al tampone naso-orofaringeo per la ricerca di SARS-CoV-2, effettuare i lavaggi dei turbinati nasali permette una veloce negativizzazione (Peci, Ozone therapy 2021).

I test PCR per la rilevazione del SARS-CoV2 ricercano materiale genetico appartenente al Coronavirus, ma non sono in grado di distinguere tra virus vivo replicante e residui virali non infettivi. Questo significa che è possibile avere un tampone positivo anche in assenza di particelle virali infettive, ma in presenza di frammenti del loro genoma. I lavaggi con acqua iperozonizzata risultano utili nell'eliminare eventuali frammenti virali inattivi all'interno dei turbinati nasali.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.3.2.1. Trattamento in caso di positività al tampone per COVID-19

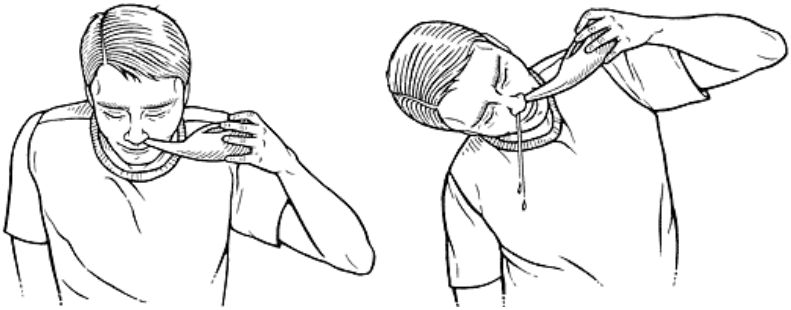
Utilizzare il kit per il lavaggio nasale in dotazione o eventualmente una siringa sterile senz'ago a cui aggiungere la cannula nasale. Riempire la bottiglia o la siringa con acqua ozonizzata.

Utilizzare come uno spray nasale.

Piegare leggermente la testa a destra, spruzzare il contenuto della peretta/siringa nella narice sinistra.

Ripetere l'operazione piegando leggermente la testa a sinistra, spruzzare il contenuto della peretta/siringa nella narice destra.

Eseguire più lavaggi nasali giornalieri.



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.4. Infezioni gastroduodenali

Lo stomaco è l'organo deputato ai primi processi digestivi. La mucosa gastrica è lo strato più interno del rivestimento dell'organo che secerne il succo gastrico (acidi cloridrico), per la digestione degli alimenti. Il valore del pH del succo gastrico a stomaco vuoto è compreso tra 1,0 e 1,5.

La mucosa gastrica secerne anche muco e bicarbonato, per proteggersi dalla forte acidità dei succhi digestivi secreti dalle proprie ghiandole. Quando questo strato protettivo viene eroso dall'acido cloridrico, l'area si lesiona e si origina un'ulcera gastrica.

La genesi dell'ulcera duodenale è legata al meccanismo di secrezione acida che si verifica nello stomaco durante il processo digestivo. In condizioni fisiologiche nello stomaco viene secreto, dalle cellule della mucosa gastrica, acido cloridrico in risposta al rilascio dell'ormone gastrina. Successivamente si avrà una serie di contrazioni peristaltiche che faranno avanzare il contenuto dello stomaco (chimo) nel duodeno, e contemporaneamente si avrà a livello duodenale la secrezione di ioni bicarbonato che tamponano l'acidità del chimo proveniente dallo stomaco.

Un'alterazione di questo meccanismo causa l'ulcera gastroduodenale, una lesione di un tratto della mucosa gastrointestinale, tipicamente nello stomaco (ulcera gastrica) o nei primi centimetri del duodeno (ulcera duodenale), che penetra attraverso la muscularis mucosae.

Oltre all'ipersecrezione acida a livello gastrico, le ulcere gastroduodenali possono essere determinate dall'infezione da *Helicobacter pylori* o dall'uso di FANS.

L'assunzione di acqua ozonizzata è utile per le patologie gastriche causate da *Helicobacter pylori* (Villadoniga et al., 2012).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

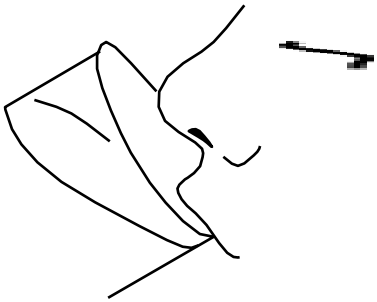
8.4.1. Trattamento delle infezioni gastroduodenali

- Bere acqua ozonizzata.

Iniziare con mezzo bicchiere di acqua ozonizzata al dì e aumentare gradualmente nei giorni successivi fino a raggiungere il massimo tollerato, non meno di 2 bicchieri di acqua ozonizzata al dì.

Le centrali più avanzate di depurazione dell'acqua potabile utilizzano impianti di ozonizzazione per la depurazione delle acqua. Sorge spontaneo domandarsi se ci sono dei limiti all'utilizzo dell'acqua che ne deriva. La risposta è no, tuttavia l'alta concentrazione di ozono conferisce a queste acque un sapore sgradevole. L'errore più comune che si compie in questi casi è quello di bere l'acqua subito dopo la produzione, senza lasciare il tempo all'ozono di evaporare; sarebbe necessario bere l'acqua dopo un paio di ore per avere un sapore pulito e gradevole e percependo il beneficio di un bicchiere di acqua.

Risulta pertanto inutile acquistare acque con titolazioni alte di purezza, quando queste possono essere realizzate con la strumentazione in nostro possesso.



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.5. Infezioni urogenitali

Le infezioni delle vie urinarie (IVU) si verificano quando i batteri, penetrando attraverso l'uretra, il condotto che trasporta l'urina dalla vescica all'esterno, proliferano e si moltiplicano nelle vie urinarie. Generalmente questo tipo di infezioni interessa l'uretra e la vescica, ma se non opportunamente trattate possono diffondersi agli ureteri e ai reni.

Negli adulti la maggior parte delle infezioni delle vie urinarie è causata dal batterio *Escherichia coli*, ma possono derivare anche da altri microrganismi che popolano il tratto intestinale quali *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Pseudomonas*.

La diffusione di ceppi batterici resistenti ai comuni antibiotici ha portato all'utilizzo dell'ozonoterapia come approccio terapeutico alternativo o aggiuntivo all'uso di antibiotici.

I lavaggi dei genitali e delle vie urinarie con acqua iperozonizzata facilitano la remissione della sintomatologia, ma anche l'eradicazione dell'infezione (Bonforte et al., 2013).

I lavaggi con acqua iperozonizzata possono essere effettuati per trattare cistiti, uretriti, vaginiti, infezioni batteriche e infezioni fungine, ad esempio la candidosi (Zargaran et al., 2017).

Una corretta igiene intima e una corretta idratazione riescono a prevenire l'insorgenza delle IVU.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.5.1. Trattamenti per le infezioni urogenitali

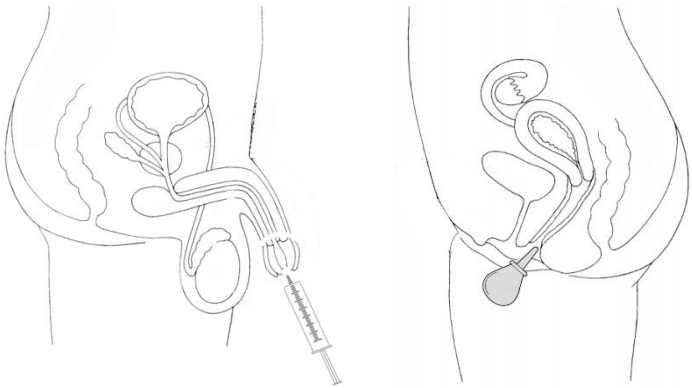
- Lavande vaginali femminili: 200 cc. Utilizzare peretta o in alternativa siringa sterile senz'ago.

In acuto effettuare lavande vaginali più volte al dì per 7 giorni.
In acuto combinare lavaggi dell'ampolla rettale: sufficienti 300 cc.

Proseguire con lavande vaginali mattina e sera come igiene personale.

- Lavaggi urogenitali maschili: utilizzare siringa senz'ago con cateteri pediatrici, introdurre all'interno dell'uretra per 3-4 cm ed effettuare lo svuotamento della siringa, facendo così un lavaggio interno

- Lavaggi genitali esterni maschili e femminili: come igiene intima in caso di infezioni esterne 4 volte al giorno per 4 settimane, proseguire come igiene personale serale.



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.6. Alterazioni intestinali

Il microbiota intestinale (o flora intestinale) è composto da miliardi di microrganismi, tra cui virus, funghi e batteri, quali *Firmicutes* a cui appartengono *Lattobacillus* e *Clostridium*, Bacteoides, Bifidobatteri, *Escherichia coli*. La salute del microbiota dipende dall'equilibrio che si instaura tra le varie popolazioni. Alterazioni della composizione del microbiota causano uno squilibrio delle specie di microrganismi che si ripercuote a livello intestinale.

L'ozonoterapia rappresenta una strategia terapeutica particolarmente adatta per il trattamento delle alterazioni del sistema gastrointestinale, con il vantaggio di essere ben tollerata e di non causare effetti collaterali né a breve né a lungo termine.

Bere acqua ozonizzata (seguendo il protocollo) permette di regolarizzare la popolazione microbica che colonizza il tratto digerente.

L'ozonoterapia mediante clistere è una terapia medica con ampie potenzialità cliniche. La sua efficacia trova applicazione nei disturbi funzionali del colon e nella riabilitazione delle capacità peristaltiche intestinali, restituendo all'intestino la sua funzionalità e migliorando le difese contro batteri e virus (Loprete et al., 2017).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.6.1. Trattamento delle disbiosi e forme di alterazioni

- Bere acqua ozonizzata.

Iniziare con mezzo bicchiere di acqua ozonizzata al dì e aumentare gradualmente nei giorni successivi fino a raggiungere il massimo tollerato, non meno di 2 bicchieri di acqua ozonizzata al dì.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.6.2. Trattamento delle disbiosi e forme di alterazioni

- Clistere: 1000 cc. con acqua ozonizzata. Utilizzare l'apposito sacchetto per clisteri riempito con acqua ozonizzata.

1 lavaggio al giorno per 1 o 2 VOLTE A SETTIMANA

In caso di stipsi cronica è consigliata una frequenza giornaliera.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.7. Infezioni rettali

L'ozonoterapia è utilizzata in Gastroenterologia e nelle patologie colon-rettali per la cura e il trattamento di coliti, dismetabolismi, stipsi, emorroidi, proctiti, ragadi ed eczemi anali.

L'ozono, attraverso il rilascio di perossidi, disattiva le componenti presenti sulla pareti cellulari dei batteri, comportandosi da battericida.

Per tale motivo l'ozono-terapia viene utilizzata anche per combattere le infezioni intestinali del tratto rettale.

Effettuare clisteri con acqua iperozonizzata, oltre a costituire un valido aiuto nel ripristino della funzionalità intestinale (vedi Paragrafo "Alterazioni intestinali"), è utile nel combattere le infezioni del tratto rettale (Loprete et al., 2017).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

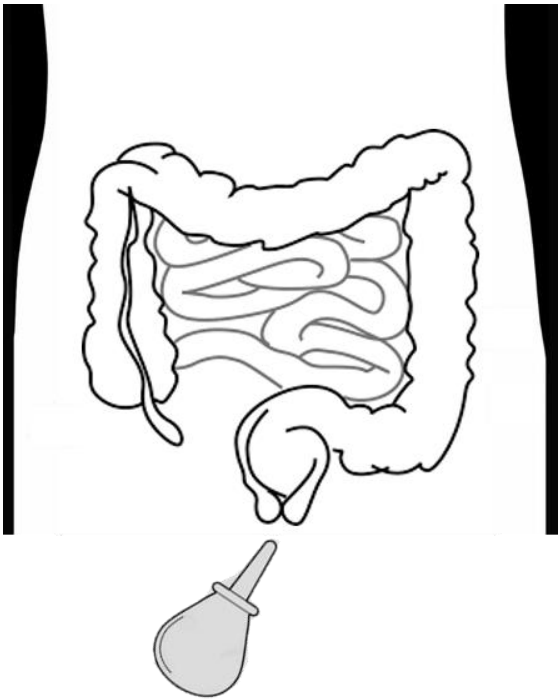
8.7.1. Trattamento delle infezioni rettali

- Lavaggi locali con 300 cc di acqua ozonizzata.

  Utilizzare di clistere o ampolla rettale; in alternativa utilizzare siringa agganciata a catetere vescicale. Seguire sempre l'utilizzo di attrezzatura per clisteri, acquistabile su Farmacare.

2 o 3 lavaggi al giorno per 1 o 2 VOLTE A SETTIMANA

1 al giorno per 2 VOLTE A SETTIMANA



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.8. Infezioni cutanee

La pelle, o cute, è costituita in superficie dall'epidermide e in profondità dal derma. Una delle funzioni svolte dalla cute consiste nella protezione delle superfici del corpo esposte ad agenti meccanici, chimici, termici, fisici e infettivi.

Le infezioni cutanee si manifestano quando, in seguito a un trauma, la superficie epiteliale rimane esposta all'ambiente esterno e i batteri (quelli normalmente presenti sulla pelle oppure quelli presenti sulle superfici) penetrano all'interno della ferita, replicandosi e infettando il tessuto.

I principali agenti patogeni nelle infezioni della cute e dei tessuti molli sono le specie di *Streptococcus* e *Staphylococcus*.

Le infezioni cutanee vengono trattate con terapia antibiotica, molti batteri sono però diventati resistenti ai più comuni farmaci. Per questo l'ozonoterapia viene utilizzata come alternativa alla terapia antibiotica (Zeng et al., 2018).

L'olio ozonizzato è indicato per infezioni batteriche, micosi, herpes, psoriasi, acne, dermatiti in generale, ma anche per emorroidi, punture di insetti, reazioni allergiche, scottature e soprattutto per le piaghe da decubito (Travagli et al., 2010).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.8.1. Trattamento delle infezioni cutanee con acqua ozonizzata

Per tutte le infezioni o le alterazioni della cute, dalle infezioni erpetiche a quelle batteriche a seguito di una ferita l'utilizzo di spugnature o pannicoli di cotone imbevuti di acqua ozonizzata.

Per le infezioni da Herpes Zoster utilizzare sulle vescicole.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.8.2 Trattamento delle infezioni cutanee con olio ozonizzato

L'olio ozonizzato è indicato per infezioni batteriche, micosi, herpes, psoriasi, acne, dermatiti in generale, scottature, emorroidi, punture di insetti, reazioni allergiche, scottature e soprattutto per le piaghe da decubito.

Per le infezioni da Herpes Simplex tamponare l'area con cotone imbevuto di olio ozonizzato.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.9. Infezioni ulcerative

Le ulcere cutanee sono lesioni che derivano dalla perdita di epidermide, parti del derma superficiale e, talvolta, anche strati più profondi della cute, quando un difetto del processo di riepitelizzazione impedisce la formazione di nuova pelle. Una condizione patologica che determina la formazione di un'ulcera è data dalla presenza di infezioni, in genere insorte a seguito di un trauma anche modesto che innesca una perdita di tessuto epiteliale.

L'ozono serve per contrastare infezioni batteriche e fungine e altri problemi della cute. Il contatto con l'ozono attraverso appositi sacchetti è utile per trattare le ulcere della pelle (Fitzpatrick et al., 2018; Izadi et al., 2019).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.9.1. Trattamento delle infezioni ulcerative

- Bere acqua ozonizzata.

Iniziare con mezzo bicchiere di acqua ozonizzata al dì e aumentare gradualmente nei giorni successivi fino a raggiungere un minimo di 2 bicchieri di acqua ozonizzata al dì, questo perché le infezioni ulcerativa hanno una matrici di tipo infiammatoria e metabolica, l'utilizzo dell'acqua ozonizzata da un aiuto al sistema immunitario e intestinale coinvolto in questo processo.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

8.9.2 Produzione di sacchetti in plastica o PLD con aria ozonizzata

- Prima di accendere il generatore di ozono per preparare i sacchetti in plastica o PLD
- Umidificare con semplice acqua l'area dell'arto da trattare.
- Inserire nell'ugello un'estremità del tubicino in silicone senza il gorgogliatore in dotazione.
- Umidificare con semplice acqua il sacchetto in plastica o PLD.
- Inserire l'arto da trattare dentro un sacchetto in plastica o PLD, affiancato dal tubicino erogatore di ozono.
- Sigillare bene il sacchetto per evitare la fuoriuscita dell'aria ozonizzata.
- Accendere il generatore di ozono ed iniziare il trattamento.
- In seguito a 1 minuto di erogazione spegnere il generatore.

Ripetere l'operazione, fino a che il sacchetto non risulti visibilmente gonfio (il tempo può variare in base alle dimensioni del sacchetto utilizzato).

Rimanere in posa per 10 minuti.

NB. Su eventuale consiglio del medico ripetere più volte l'operazione nella stessa sessione senza togliere il tubo.

Svolgere questo procedimento per 2 volte al giorno per 12 giorni.

A seguire a giorni alterni per 10 settimane.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

9. Protocolli per la disinfezione di alimenti

Tutti i protocolli medicali, elencati di seguito, sono frutto dell'esperienza clinica e scientifica di Cerebro® S.r.l. e pertanto di proprietà dell'azienda.

È vietata ogni riproduzione e divulgazione.

Modalità di produzione dell'acqua iperozonizzata e aria ozonizzata utilizzando la strumentazione del progetto Cura Italia di Cerebro® S.r.l.

Acqua iperozonizzata

Ozon ONE	✓
Ozon 2000	✓

Aria iperozonizzata

Ozon ONE	Frigorifero
Ozon 2000	✓

Per ulteriori informazioni e segnalazioni

info@cerebrostartup.it

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

9.1. Trattamento dell'ozono sugli alimenti

Il trattamento con ozono, sia in forma gassosa che disciolta, è uno dei più potenti trattamenti ossidanti per il controllo delle cariche microbiche negli alimenti, approvato e consigliato dalla Food and Drug Administration (FDA).

Diminuisce il numero di batteri mesofili aerobici, coliformi e solfato-riduttori presenti sulla carne e nei relativi veicoli di trasporto. Uno studio dimostra l'inibizione della crescita microbica sulle carni di manzo conservate alla temperatura di 0,4°C, utilizzando ozono ad una concentrazione tra 10 e 20 µg/L.

Nell'industria alimentare l'ozono è stato testato per disinfettare i prodotti pescati e migliorarne le qualità sensoriali.

I trattamenti con ozono sul pesce hanno dimostrato una buona diminuzione della carica batterica vitale. Richiede tempi di contatto brevi e può avvenire negli impianti di acquacoltura o sul prodotto finale.

Il trattamento con ozono minimizza inoltre il tempo di lavaggio e migliora il colore del prodotto garantendone una più lunga conservazione.

L'acqua ozonizzata è utilizzata anche per il lavaggio di frutta e verdura, poiché consente di ottenere prodotti igienizzati e senza inquinanti chimici e biologici sulla superficie stessa degli alimenti.

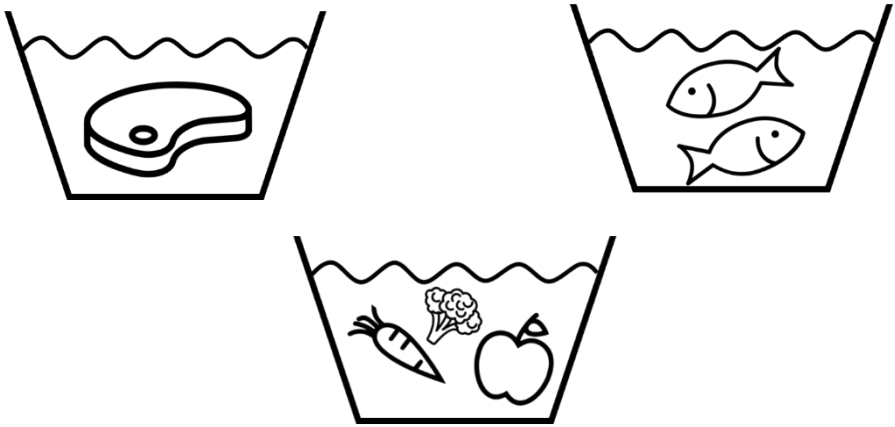
Il trattamento con ozono dell'acqua di lavaggio di frutta e verdura ha il duplice vantaggio di ottenere prodotti veramente puliti senza conseguenze per le persone e l'ambiente. Inoltre, dai test eseguiti si può confermare che la qualità e la composizione chimica dei prodotti non cambiano.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

9.1.1. Protocollo per la disinfezione degli alimenti

Si raccomanda, durante l'utilizzo dell'apparecchiatura per ozonizzare l'acqua, di mantenere il contenitore con l'acqua da trattare in una posizione più bassa rispetto all'apparecchio. Non coprire con l'acqua l'intero tubo per evitare che si possa creare un fenomeno di ritorno dell'acqua nell'apparecchiatura che la danneggerebbe irrimediabilmente.

- Prima di accendere il generatore di ozono, porre l'acqua in un contenitore in vetro.
- Porre l'alimento da sanificare all'interno del contenitore con l'acqua.
- Prendere il tubo in silicone in dotazione e inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono.
- Inserire nell'altra estremità del tubo il gorgogliatore in dotazione ed immergerlo nel contenitore o nella bottiglia contenente l'acqua.
- Per la disinfezione della carne, erogare ozono per 5 minuti



L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10. Protocolli per la disinfezione dell'aria

Mediante l'ozono si possono rimuovere e distruggere i residui maleodoranti di prodotti chimici usati per la disinfezione e la sterilizzazione degli ambienti, e produrre con una sola azione anche una potente azione di deodorazione. Inoltre, l'ozono elimina dall'aria eventuali batteri o virus patogeni, che potrebbero causare patologie respiratorie.

In concentrazione sino a 0,5 ppm (parti per milione) l'ozono ha un odore gradevole tipico dell'aria dopo un temporale. La concentrazione in natura a livello del mare è generalmente 0,3 ppm. A livelli oltre lo 0,2 ppm, soglia di percezione dell'odore dell'ozono, esso non è dannoso per la salute.

Ai fini di una corretta disinfezione bisogna raggiungere un livello di concentrazione pari al 25 - 30% dell'esposizione massima per la presenza di 24 ore. Per garantire migliori risultati è comunque obbligatorio saturare l'ambiente di ozono.

I trattamenti con ozono devono essere effettuati in assenza di persone o animali, dal momento che l'ozono viene considerato una molecola salvavita, ma inalato ad alte concentrazioni è un gas tossico.

I settori di utilizzo in cui la sanificazione con ozono è proposta in sostituzione dell'utilizzo di prodotti chimici sono molteplici.

Settore sanitario *Ospedali, studi medici - dentistici - veterinari, sale d'attesa, case di riposo, industria chimica e farmaceutica*	In questi spazi è importante mantenere gli ambienti sempre asettici. L'ozono, grazie agli ioni di ossigeno, ossida germi e batteri con un'efficacia di abbattimento fino al 99%, anche su superfici e utensili di lavoro.
Settore pubblico *Scuole, cinema, teatri, centri commerciali, uffici, sale meeting, biblioteche*	Negli ambienti ad alta densità di persone, l'ozono è in grado di purificare l'aria e di deodorarla, creando un ambiente sano.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Settore alimentare *Celle frigorifere, banchi frigoriferi, vetrine, espositori, trasporti refrigeranti, industrie e laboratori alimentari di lavorazione*	L'ozono è di essenziale aiuto per mantenere i cibi freschi più a lungo e per evitare l'ossidazione di carne, pesce, frutta e verdura. Eliminando germi e batteri non solo migliora la conservazione degli alimenti, ma anche l'immagine dei buffet e delle vetrine espositrici. Garantisce l'igiene e la sanitizzazione lungo tutto il percorso della filiera alimentare.
Settore ristorazione e alberghiero *Ristoranti, hotel, bar, pub, agriturismi, enoteche, discoteche, negozi alimentari*	Nei luoghi di preparazione dei cibi è necessario mantenere l'ambiente il più possibile sterile e igienico. L'ozono rappresenta la soluzione ideale per questi ambienti: igienizza ed elimina il cattivo odore dell'aria non solo in cucina ma anche nelle sale meeting, nelle hall e nelle camere d'albergo.
Settore privato *Abitazioni, locali fumatori, circoli privati, palestre*	L'aria pulita aumenta la profondità del respiro e il benessere psicofisico, portando benefici a tutte le età. Nelle case e negli ambienti privati l'ozono purifica l'aria da polvere, tracce di detersivi, batteri, muffe e acari.
Settore animali *Abitazioni privati, pet-shop*	L'ozono è di essenziale aiuto per mantenere il benessere psico-fisico. La soluzione ideale per evitare il diffondersi di allergie, purificando l'aria.

I generatori *Ozon* di Cerebro® S.r.l. prelevano dall'aria l'ossigeno (O_2) e lo congiungono con un terzo atomo di ossigeno, formando la molecola di ozono (O_3).

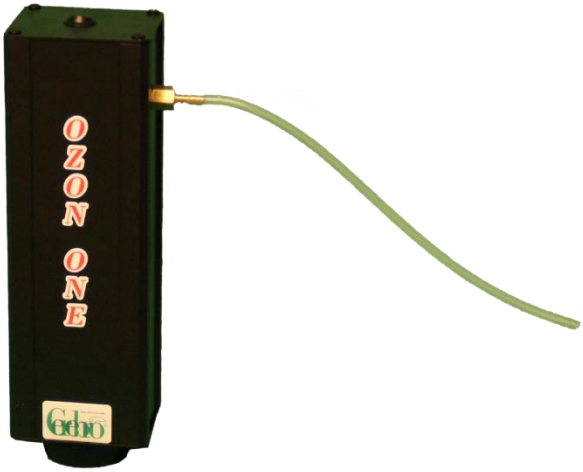
L'ozono prodotto dura per un tempo limitato dopo lo spegnimento del generatore, ritrasformandosi in ossigeno.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.1. Protocollo per la sanificazione di piccoli spazi

Ozon One produce 0,5 g di ozono all'ora e può essere utilizzato per sanificare piccoli spazi, ad esempio frigorifero, mobili della cucina, armadi o piccoli locali come i ripostigli.

Protocollo elaborato sulla funzionalità della macchina *Ozon One* di Cerebro® S.r.l.



Posizionare il generatore di ozono nell'ambiente che si vuole sanificare.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

FRIGORIFERO:

- Prendere il tubo in silicone in dotazione e inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono
- Inserire il tubo in silicone all'interno del frigorifero
- Socchiudere lo sportello
- Accendere il generatore di ozono
- Erogare ozono per 3 minuti

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

ARMADI:

- Prendere il tubo in silicone in dotazione e inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono
- Inserire *Ozon ONE* all'interno dell'armadio
- Accendere il generatore di ozono e chiudere le ante
- Erogare ozono per 3 minuti

Questo procedimento è valido per tutti i piccoli ambienti da sanificare, come armadi, scarpiere, pensili, scrivanie, ecc.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.2. Protocollo per la sanificazione degli ambienti domestici

Ozon 2000 Home produce 2 g di ozono all'ora e può essere utilizzato per sanificare gli ambienti di casa.

Protocollo elaborato sulla funzionalità della macchina *Ozon 2000 Home* di Cerebro® S.r.l.

ATTENZIONE! Nel caso di disinfezione dei locali è importante NON soggiornare nell'ambiente durante il funzionamento e dopo lo spegnimento per un tempo pari a 3 volte il tempo che si è erogato ozono.

Ad esempio, se si eroga ozono per 1 ora non soggiornare nel locale per le 3 ore successive allo spegnimento, se invece si eroga per 5 minuti non soggiornare per 15 minuti.

Areare il locale dopo l'uso, prima di soggiornarvi.

A tal fine è strettamente consigliato l'utilizzo del temporizzatore che consente di programmare l'orario con cui la macchina entra in azione rispetto all'istante in cui viene accesa e la durata del funzionamento (Vedi "USO DEL TEMPORIZZATORE").

- Introdurre *Ozon 2000 Home* nella stanza da sanificare
- Impostare il temporizzatore
- Accendere il generatore premendo il pulsante anteriore della macchina

I parametri di tossicità della molecola sono 10 volte superiori alla percezione dell'odore. Il suo odore pungente e non gradevole fa sì che non sia possibile soggiornare nel locale sanificato prima della corretta areazione dello stesso.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.3. Protocollo per la sanificazione degli ambienti lavorativi

Ozon 5000 Professional produce 5 g di ozono all'ora e può essere utilizzato per sanificare uffici e ambienti lavorativi.

Protocollo elaborato sulla funzionalità della macchina *Ozon 5000 Professional* di Cerebro® S.r.l.

ATTENZIONE! Nel caso di disinfezione dei locali è importante NON soggiornare nell'ambiente durante il funzionamento e dopo lo spegnimento per un tempo pari a 3 volte il tempo che si è erogato ozono.

Ad esempio, se si eroga ozono per 1 ora non soggiornare nel locale per le 3 ore successive allo spegnimento, se invece si eroga per 5 minuti non soggiornare per 15 minuti.

Areare il locale dopo l'uso, prima di soggiornarvi.

A tal fine è strettamente consigliato l'utilizzo del temporizzatore che consente di programmare l'orario con cui la macchina entra in azione rispetto all'istante in cui viene accesa e la durata del funzionamento (Vedi "USO DEL TEMPORIZZATORE").

- Introdurre *Ozon 5000 Professional* nel locale da sanificare
- Impostare il temporizzatore
- Accendere il generatore premendo il pulsante anteriore della macchina

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.3.1. Certificazione ambientale

Il dispositivo *Ozon 5000 Professional* viene rilasciato con apposita certificazione che ne attesta la qualità di efficienza e sanificazione, rispondente ai criteri imposti per legge, su specifica collocazione da parte dei tecnici di Cerebro®.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.4. Prevenzione contro il nuovo Coronavirus

COVID-19 è un'infezione respiratoria che si trasmette attraverso le goccioline respiratorie, che trasportano il nuovo Coronavirus e possono essere inalate.

Queste goccioline possono restare sulle superfici, contaminando gli oggetti, pertanto anche il contatto con superfici infette e il successivo contatto con occhi, naso e bocca può provocare l'infezione da SARS-CoV-2.

L'ozono possiede proprietà antivirali e germicide, pertanto risulta una molecola utile alla prevenzione dell'infezione COVID-19.

Sanificare le superfici con acqua iperozonizzata permette di inattivare il virus eventualmente presente su di esse.

Inoltre per prevenire l'infezione è utile sanificare l'aria degli ambienti in cui si staziona.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.4.1. Protocollo di sanificazione delle superfici con acqua iperozonizzata come prevenzione da COVID-19

Protocollo elaborato sulla funzionalità delle macchine *Ozon* di Cerebro® S.r.l.

a) Produrre acqua iperozonizzata

Prima di accendere il generatore di ozono, porre 1 litro di acqua in una bottiglia o in un contenitore in vetro.

Prendere il tubo in silicone in dotazione ed inserire una delle due estremità nell'ugello centrale del generatore di ozono, adibito alla fuoriuscita dell'ozono.

Inserire nell'altra estremità del tubo il gorgogliatore in dotazione ed immergerlo nel contenitore o nella bottiglia contenente l'acqua.

NB: il gorgogliatore va inserito in acqua prima di accendere la macchina. Solo dopo averlo immerso si può accendere lo strumento. Si raccomanda, durante l'utilizzo dell'apparecchiatura per ozonizzare l'acqua, di mantenere il contenitore con l'acqua da trattare in una posizione più bassa rispetto all'apparecchio.

Accendere il generatore ed erogare per 2 minuti.

b) Sanificare le superfici

Utilizzare l'acqua iperozonizzata per sanificare le superfici.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

10.4.2. Protocollo di sanificazione degli ambienti con aria ozonizzata come prevenzione da COVID-19

Protocollo elaborato sulla funzionalità delle macchine *Ozon 2000 Home* e *Ozon 5000 Professional* di Cerebro® S.r.l.

ATTENZIONE! Nel caso di disinfezione dei locali è importante NON soggiornare nell'ambiente durante il funzionamento e dopo lo spegnimento per un tempo pari a 3 volte il tempo che si è erogato ozono.

Ad esempio, se si eroga ozono per 1 ora non soggiornare nel locale per le 3 ore successive allo spegnimento, se invece si eroga per 5 minuti non soggiornare per 15 minuti.

Areare il locale dopo l'uso, prima di soggiornarvi.

A tal fine è strettamente consigliato l'utilizzo del temporizzatore che consente di programmare l'orario con cui la macchina entra in azione rispetto all'istante in cui viene accesa e la durata del funzionamento (Vedi "USO DEL TEMPORIZZATORE").

- Introdurre *Ozon* nel locale da sanificare
- Impostare il temporizzatore
- Accendere il generatore premendo il pulsante anteriore della macchina

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

11. Controindicazioni

La somministrazione di ozono è controindicata:

1. in associazione contemporanea con altri medicamenti (nella stessa siringa o flacone) per l'effetto ossidante della miscela;
2. deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) Favismo (nella somministrazione sistemica cioè grandi autoemo).

12. Raccomandazioni

Sport agonistico: al momento non esistono studi scientifici che ne controindichino l'utilizzo, poiché l'ozono esercita una benefica funzione antiossidante; le attuali normative in materia di doping ne vietano l'uso per via sistemica.

Gravidanza: al momento non esistono studi scientifici che controindicano l'utilizzo dell'ozono in gravidanza; tuttavia l'ozonoterapia può essere sconsigliata da un punto di vista medico-legale per evitare un contenzioso.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

13. Ozon Medical M5

Cerebro® ha progettato *Ozon Medical M5*, una macchina ad ozono utilizzabile in ambito medico, in ospedali, ambulatori e studi medici per la corretta sterilizzazione dei locali sanitari e per la pratica dell'ozonoterapia attuata da medici e professionisti sanitari.

Ozon Medical può essere utilizzata anche da pazienti allettati o in lungodegenza in ambiente domiciliare, con il supporto del proprio medico o professionista sanitario, per poter svolgere a casa le attività terapeutiche che il professionista svolge nel proprio ambulatorio.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Bibliografia

Alary, J., Geuraud, F., and Cravedi, J. P., 2003, Fate of 4-hydroxynonenal in vivo: disposition and metabolic pathways, Mol. Aspects Med. 24:177–187.

Aldini, G., Gamberoni, L., Orioli, M. et al., 2006, Mass spectrometric characterization of covalent modification of human serum albumin by 4-hydroxy-trans-2-nonenal, J. Mass Spectrom. 41:1149–1161.

Aldini, G., Vistoli, G., Regazzoni, L., et al., 2008, Albumin is the main nucleophilic target of human plasma: a protective role against pro-atherogenic electrophilic reactive carbonyl species? Chem. Res. Toxicol. 21:824–835.

Amato, G., Sacchetta, A., Borrelli, E., and Bocci, V., 2000, Ruolo dell'ozonoterapia mediante grande autoemotrasfusione nel trattamento delle epatiti croniche post-epatite virale (II parte), in Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000, p. 11.

Andreula CF, Simonetti L, de Santis F, Agati R, Ricci R, Leonardi M. Minimally Invasive Oxygen-Ozone Therapy for Lumbar Disk Herniation AJNR Am J Neuroradiol 24:996–1000, May 2003

Apuzzo D. et al Combined effect of o2o3 and GPR in treatment of Iumbar disc herniation: European.JournaI of Clinical lnvestigation, vo1.33, suppl. 1:2oo3

Awasthi., Y. C., Ansari, G. A., and Awasthi, S., 2005, Regulation of 4-hydroxynonenal mediated signalling by gluthatione S-transferase, Methods Enzymol. 401:379–407.

Barnes, P. J., and Karin, M., 1997, Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases, N. Engl. J. Med. 336:1066–1071.

Bocci, V., 1993a, Interferon. Una storia recente ed antichissima. Fisiopatologia e clinica del sistema interferon, Antea Edizioni, pp. 1–205.

Bocci, V., 1993b, Mistletoe (viscum album) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review, J. Biol. Regul. Homeost. Agents 7:1–6.

Bocci, V., 1998a, Ipotetici meccanismi di azione dell'ozono nel trattamento del conflitto discoradicolare, in Lombalgie e lombosciatalgie. Criteri di

diagnosi e cura (F. Ceccherelli, and A. Ricciardi, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 331–340.

Bocci, V., 1998b, Is ozonetherapy therapeutic? Perspect. Biol. Med. 42:131–143.

Bocci, V., 1998c, Ozonetherapy as a possible biological response modifier in cancer, Forsch. Komplementärmed. 5:54–60.

Bocci, V., 1999a, Biological and clinical effects of ozone. Has ozonetherapy a future in medicine? Br. J. Biomed. Sci. 56:270–279.

Bocci, V., 1999b, Ozonetherapy as a complementary medical approach. Where are we and where do we need to go? in Proceedings of the International Ozone Symposium, 21 and 22 October 1999, Basel, Switzerland (IOA – EA3 G, Ed.), Bauer Druck AG, Basel, pp. 353–374.

Bocci, V., 2000, Ossigeno-ozono terapia, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, pp. 1–324.

Bocci, V., 2002, Oxygen-ozone therapy, a critical evaluation, Kluwer Academic Publischer, Dordrecht.

Bocci, V., 2004, Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful, Mediators Inflamm. 13:3–11.

Bocci, V., 2011, Ozone. A new medical drug. Springer Dordrecht Heidelberg London New York

Bocci, V., and Aldinucci, C., 2006, Biochemical modifications induced in human blood by oxygenation-ozonation, J. Biochem. Mol. Toxicol. 20:133–138.

Bonetti M, Fontana A, Cotticelli B, Dalla Volta G, Guindani M, and Leonardi M. Intraforaminal O2-O3 versus Periradicular Steroidal Infiltrations in Lower Back Pain: Randomized Controlled Study AJNR Am J Neuroradiol 26:996–1000, May 2005

Bonforte G, Bellasi A, Riva H, et al. "Ozone therapy: a potential adjunct approach to lower urinary tract infection? A case series report". Giornale Italiano di Nefrologia: Organo Ufficiale Della Società Italiana di Nefrologia. 2013 Jul-Aug;30(4).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Bosch-Morell, F., Flohé, L., Marìn, N., and Romero, F. J., 1999, 4-hydroxynonenal inhibits glutathione peroxidase: protection by glutathione, Free Radic. Biol. Med. 26:1383–1387.

Brown JM, Giaccia AJ. The unique physiology of solid tumors: opportunities (and problems) for cancer therapy. Cancer Res. 1998 Apr 1;58(7):1408-16. PMID: 9537241.

Buric J, Rigobello L, Hooper D. Five and Ten Year Follow-up on Intradiscal Ozone Injection for Disc Herniation; International Society for the Advancement of Spine Surgery, 2004

Deepthi, R., and Shivaprasad Bilichodmath. "Ozone therapy in periodontics: A meta-analysis." Contemporary Clinical Dentistry 11.2 (2020): 108.

De Oliveira Magalhaes FN, Dotta L, Sasse A, Teixeira MJ. and Fonoff ET. Ozone Therapy as a Treatment for Low Back Pain Secondary to Herniated Disc: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials; Pain Physician 2012; 15:E115-E129; ISSN 2150-1149

Dianzani, M. U., 1998, 4-Hydroxynonenal and cell signalling, Free Radic. Res. 28:553–560.

Elgert KD, Alleva DG, Mullins DW. Tumor-induced immune dysfunction: the macrophage connection. J Leukoc Biol. 1998 Sep;64(3):275-90. doi: 10.1002/jlb.64.3.275. PMID: 9738653.

Fitzpatrick, Erin, Olivia J. Holland, and Jessica J. Vanderlelie. "Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: A systematic review." International wound journal 15.4 (2018): 633-644.

Fridovich, I., 1995, Superoxide radical and superoxide dismutases, Annu. Rev. Biochem. 64: 97–112.

Frosini M, Contartese A, Zanardi I, Travagli V, Bocci V. Selective ozone concentrations may reduce the ischemic damage after a stroke. Free Radic Res. 2012 May;46(5):612-8. doi: 10.3109/10715762.2012.659247. Epub 2012 Feb 14. PMID: 22263539.

Giurazza F, Guarnieri G, Murphy KJ, Muto M. Intradiscal O_2O_3: Rationale, Injection Technique, Short- and Long-term Outcomes for the Treatment of Low Back Pain Due to Disc Herniation; Canadian Association of Radiologists Journal 68 (2017) 171e177

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Grechi, Giorgio. "Ophthalmology: ozone therapy applied to dystrophic maculopathy." Ozone Therapy 2.1 (2017).

Haghighat S, Oshaghi S. Effectiveness of Ozone Injection Therapy in Temporomandibular Disorders. Adv Biomed Res. 2020 Nov 28;9:73. doi: 10.4103/abr.abr_105_20. PMID: 33816392; PMCID: PMC8012860.

Halliwell, B., Clement, M. V., and And Long, L. H., 2000a, Hydrogen peroxide in the human body, FEBS Lett. 486:10–13.

Izadi, Morteza, et al. "Efficacy of comprehensive ozone therapy in diabetic foot ulcer healing." Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews 13.1 (2019): 822-825.

Jörres R, Nowak D, Magnussen H. The effect of ozone exposure on allergen responsiveness in subjects with asthma or rhinitis. Am J Respir Crit Care Med. 1996 Jan;153(1):56-64. doi: 10.1164/ajrccm.153.1.8542163. PMID: 8542163.

Konrad, H., 1995, Ozone therapy for herpes simplex and herpes zoster, in Proceedings Ozone in Medicine, 12th World Congress of the International Ozone Association, Lille, France, 15th–18th May 1995 (International Ozone Association, Ed.), Instaprint S.A., Tours, pp. 187–194.

Konrad, H., 2001, Ozone therapy for post-herpetic neuralgia. A retrospective study of 55 cases, in Proceedings of the 15th Ozone World Congress, London, UK, 11th–15th September 2001, Medical Therapy Conference (IOA 2001, Ed.), Speedprint MacMedia Ltd, Ealing, London, UK, pp. 85–88.

Larini, A., Bianchi, L., and Bocci, V., 2004, Effect of 4-hydroxynonenal on antioxidant capacity and apoptosis induction in Jurkat T cells, Free Radic. Res. 38:509–516.

Loprete, Fortunato, and Francesco Vaiano. "The use of ozonated water and rectal insufflation in patients with intestinal dysbiosis." Ozone Therapy 2.3 (2017).

Marchegiani, Andrea, and Andrea Spaterna. "Ozone-based eye drops in anterior segment pathologies: rationale and pre-clinical data." Ozone Therapy 2.1 (2017).

Mawsouf, N., Tanbouli, T. T., and El-Tayar, W. I., 2004, Ozonetherapy in HCV infection, in OzonHandbuch. Grundlagen Prävention, therapie (R. von Viebahn-Hänsler, and H. G. Knoch, Eds.), Ecomed, Landsberg

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Mendiratta, S., Qu, Z.-C., and May, J. M., 1998a, Erythrocyte ascorbate recycling: antioxidant effects in blood, Free Radic. Biol. Med. 24:789–797.

Mendiratta, S., Qu, Z.-C., and May, J. M., 1998b, Enzyme-dependent ascorbate recycling in human erythrocytes: role of thioredoxin reductase, Free Radic. Biol. Med. 25:221–228.

Niu T, Lu C, Yi G, Tang H, Gong C, Niu S. Therapeutic Effect of Medical Ozone on Lumbar Disc Herniation; Med Sci Monit, 2018; 24: 1962-1969 DOI:10.12659/MSM.903243

Oliviero A, Giordano L, Maffulli N. The temporal effect of intra-articular ozone injections on pain in knee osteoarthritis. Br Med Bull. 2019 Dec 11;132(1):33-44. doi: 10.1093/bmb/ldz028. PMID: 31602459.

Parola, M., Bellomo, G., Robino, G., Barrera, G., and Dianzani, M. U., 1999, 4-Hydroxynonenal as a biological signal: molecular basis and pathophysiological implications, Antiox. Redox Signal. 1:255–284.

Peci, Samorindo. "The importance of using hyperozonized water in removing SARS-COV-2 residuals." Ozone Therapy 6.1 (2021).

Pecorelli, A., Bocci, V., Acquaviva, A., Belmonte, G., Gardi, C., Virgili, F., Ciccoli, L., and Valacchi, G., 2013, NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. Toxicol Appl Pharmacol 267, 30-40

Perri M, Marsecano C, Varrassi M, Giordano AV, Splendiani A, di Cesare E, Masciocchi C, Gallucci M. Indications and efficacy of O_2–O_3 intradiscal versus steroid intraforaminal injection in different types of disco vertebral pathologies: a prospective randomized double-blind trial with 517 patients; Radiol Med (2016) 121:463–471 DOI:10.1007/s11547-015-0598

Pryor, W. A., 1992, How far does ozone penetrate into the pulmonary air/tissue boundary before it reacts? Free Radic. Biol. Med. 12:83–88.

Pryor, W. A., Squadrito, G. L., and Friedman, M., 1995, The cascade mechanism to explain ozone toxicity: the role of lipid ozonation products, Free Radic. Biol. Med. 19:935–941.

Re L, Martínez-Sánchez G, Bordicchia M, Malcangi G, Pocognoli A, Morales-Segura MA, Rothchild J and Rojas A., 2014, Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. EJP, 742: 158–162.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Re, L., Malcangi, G., Mercante, O., Gagliardi, G., Rampoldi, N., 2015, Stevens-Johnson Syndrome Treated with Ozone Hemo Therapy: A Case Report, IJMPCR, 4(4): 92-96

Reth, M., 2002, Hydrogen peroxide as second messenger in lymphocyte activation, Nat. Immunol. 3:1129–1134.

Rhee, S. G., Bae, Y. S., Lee, S. R., and Kwon, J., 2000, Hydrogen peroxide: a key messenger that modulates protein phosphorylation through cysteine oxidation, Sci. STKE 53:PE1, October 10.

Rice, R. G., 2001, Century 21 – pregnant with ozone, in Proceedings of the 15th Ozone World Congress, London, UK, 11th–15th September 2001, Volume I (IOA 2001, Ed.), Speedprint MacMedia Ltd, Ealing, London, UK, pp. 1–19.

Seyam O, Smith NL, Reid I, Gandhi J, Jiang W, Khan SA. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. Med Gas Res. 2018 Sep 25;8(3):103-110. doi: 10.4103/2045-9912.241075. PMID: 30319765; PMCID: PMC6178642.

Shinriki, N., Suzuki, T., Takama, K., Fukunaga, K., Ohgiya, S., Kubota, K., and Miura, T., 1998, Susceptibilities of plasma antioxidants and erythrocyte constituents to low levels of ozone, Haematologia 29:229–239.

Shmakova, Irina, Prokopchuket, Yu V, Komosa, Elzbieta et al. "Use of Ozone in The Rehabilitation Treatment of Patients with Duodenal Ulcer." Current challenges of tourism and recreation to the health. Physiotherapeutic aspects in the prevention and treatment of diseases (2009): 37.

Siems, W., and Grune, T., 2003, Intracellular metabolism of 4-hydroxynonenal, Mol. Aspects Med. 24:167–175.

Srikanth A, Sathish M, Sri Harsha AV. Application of ozone in the treatment of periodontal disease. J Pharm Bioallied Sci. 2013 Jun;5(Suppl 1):S89-94. doi: 10.4103/0975-7406.113304. PMID: 23946585; PMCID: PMC3722714.

Tartari APS, Moreira FF, Pereira MCDS, Carraro E, Cidral-Filho FJ, Salgado AI, Kerppers II. Anti-inflammatory Effect of Ozone Therapy in an Experimental Model of Rheumatoid Arthritis. Inflammation. 2020 Jun;43(3):985-993. doi: 10.1007/s10753-020-01184-2. PMID: 32382842.

Travagli, Valter, et al. "Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review." Mediators of inflammation 2010 (2010).

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Valacchi, G., and Bocci, V., 2000, Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells, Mediators Inflamm. 9:271–276.

Valacchi, G., Fortino, V., Bocci, V., 2005, The dual action of ozone on the skin. Br. J. Dermatol. 153:1096–1100.

Villadoniga RC, Larramendi CNM, Morales JL, et al. Ozone therapy as an alternative treatment in the patients with duodenal ulcer and positive Helicobacter pyori. Mul Med. 2012;16(Suppl:1).

Wasser G. Ischemic stroke penumbra and extracorporeal ozone treatment. Neuroradiol J. 2013 Jun;26(3):243-51. doi: 10.1177/197140091302600301. Epub 2013 Jul 16. PMID: 23859279; PMCID: PMC5278837.

Yamamoto, H., Yamamoto, Y., Yamagami, K., Kume, M., Kimoto, S., Toyokuni, S., Uchida, K., Fukumoto, M., and Yamaoka, Y., 2000, Heat-shock preconditioning reduces oxidative protein denaturation and ameliorates liver injury by carbon tetrachloride in rats, Res. Exp. Med. (Berl) 199:309–318.

Yamamoto, Y., 2000, Fate of lipid hydroperoxides in blood plasma, Free Radic. Res. 33:795–800.

Zargaran, M et al. "The efficacy of gaseous ozone against different forms of Candida albicans." Current medical mycology vol. 3,2 (2017): 26-32.

Zeng, Jinrong, and Jianyun Lu. "Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases." International immunopharmacology 56 (2018): 235-241.

L'ozono è una molecola salvavita ma è un gas tossico.
Evitare l'inalazione.

Istituto San Celestino®

www.istitutosancelestino.it

02.26416162

direzione@istitutosancelestino.it