

OSSIGENO-OZONO TERAPIA

L. Valdenassi, M. Franzini, P. Richelmi, F. Bertè
 Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, sezione di Farmacologia
 Università di Pavia

INTRODUZIONE

L'ossigeno ozono terapia si è andata diffondendo nel corso degli ultimi anni evidenziando buoni risultati di efficacia nel trattamento dell'ernia del disco e della sindrome lombo-sciatica. In realtà questa metodica è conosciuta anche per l'attività svolta in patologie di interesse vascolare ed immunitario. Le indicazioni dell'ossigeno-ozono terapia si basano essenzialmente sulle sue proprietà biochimiche.

L'ozono, molecola triatomica dell'ossigeno, reagisce con i composti organici contenenti doppi legami, aggiungendo i tre atomi di ossigeno al legame non saturo con formazione di ozonidi. Tale reazione riveste una grande importanza, infatti l'ozono provoca la scissione dei doppi legami con una reazione definita ozonolisi (Figura 1).

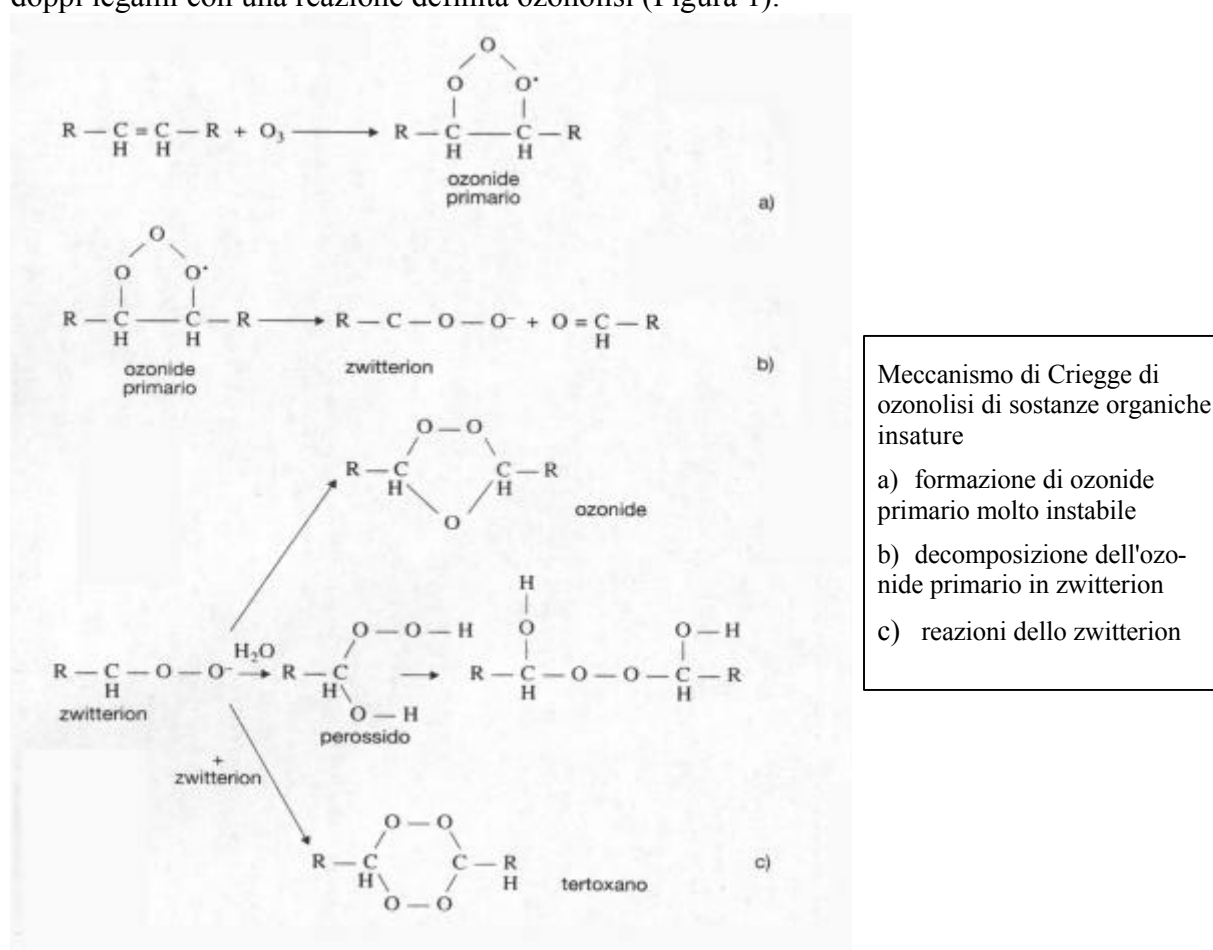


Figura 1 - Ozonolisi
 (da Marmo "Farmacologia Generale e Speciale" 1991 - pag. 146)

In un mezzo acquoso come il sangue gli ozonidi si trasformano immediatamente in idroperossidi stabili. I perossidi hanno la capacità di cedere ossigeno quando aumenta il pH, per esempio negli ambienti protonici, caratteristica fisico-chimica tipica dei processi degenerativi e/o ischemie. I lipo-perossidi che derivano dalla rottura di una catena degli ozonidi perdono la idrofobicità caratteristica dei lipidi e diventano solubili in acqua poiché sono composti lipidici a catena breve³.

Occorre sottolineare che in campo medico si utilizza abitualmente una miscela di O₂O₃ detta anche ozono medicale in cui l'O₃ è presente in concentrazioni 30 volte inferiori rispetto all'uso industriale (da 1 a 40 µg/ml di ossigeno).

CARATTERISTICHE BIOCHIMICHE DELL'OSSIGENO-OZONO TERAPIA

Fondamentale, per la comprensione degli effetti dell'ozono, è illustrarne la sua azione sui coenzimi. Come è noto i coenzimi hanno una notevole importanza nel metabolismo perché si inseriscono tra gli enzimi formando intermedi attraverso cui diventa possibile lo scambio di "sostanze".

Conseguenza dell'azione dell'ozono sui coenzimi e direttamente sulle sostanze organiche è il suo intervento sulle tre linee fondamentali del metabolismo:

Metabolismo glucidico - Uno degli effetti principali è l'accelerazione della glicolisi; com'è noto, infatti, condizione fondamentale per garantire la continuità del processo è la costante riossidazione del NADH (o nella catena respiratoria in presenza di ossigeno, o nei muscoli con la glicolisi anaerobia a spese dell'acido piruvico).

Metabolismo protidico - Nel metabolismo protidico, l'ozono interviene principalmente grazie alla sua notevole affinità verso i gruppi sulfidrilici. Un esempio tipico è la reazione con il peptide glutatione⁹.

L'ozono potrebbe reagire, con lo stesso meccanismo, con aminoacidi essenziali quali la metionina (contenente gruppi SH) ed il triptofano (quest'ultimo pur non contenendo gruppi sulfidrilici reagisce bene con l'ozono) nonché con altri aminoacidi contenenti zolfo (cisteina). In questo caso gli aminoacidi risultano protetti dalla inattivazione da ozono da due reazioni che prevengono la loro degradazione: anzitutto l'ossidazione del glutatione ed in seguito l'ossidazione dei coenzimi NADH e NADPH, reazioni chiave nel meccanismo biochimico dell'ozono¹³.

Metabolismo lipidico - L'ozono reagisce direttamente con gli acidi grassi insaturi, che presentano un doppio legame carbonio e sono quindi disponibili per una reazione ossidativa. La reazione porterebbe, in un ambiente particolarmente ricco di acqua, alla formazione di perossidi con seguente scissione idrolitica delle catene lipidiche. Le catene lipidiche vengono così frammentate con perdita del loro carattere idrofobo e si trasformano in componenti idrofili.

FISIOPATOLOGIA DELL'OZONO

Le premesse biochimiche portano ad alcune considerazioni inerenti le caratteristiche dell'O₃, rendendo ragione dell'ampio spettro di azione che tale molecola esercita sull'organismo e dell'ampia gamma di indicazioni al suo utilizzo.

Effetti sul metabolismo

A) *Aumento della glicolisi* - L'elevata quantità di energia che si libera dalla demolizione aerobica del glucosio viene utilizzata per la sintesi di ATP, ma è evidente che l'efficienza del processo dipende dal continuo apporto di ossigeno¹⁴.

Vi sono circostanze nelle quali la richiesta di ATP da parte di diversi organi aumenta notevolmente (patologie degenerative, infiammatorie o nel muscolo scheletrico e cardiaco

sottoposti ed un esercizio fisico violento). In questi casi l'improvviso aumento della richiesta di ATP può essere solo in parte soddisfatta da un aumento della velocità dei processi ossidativi mitocondriali e l'apporto di ossigeno rimane comunque insufficiente rispetto al fabbisogno. In queste condizioni è la glicolisi che riesce a sopperire la necessità di richiesta di ATP per assicurare il fabbisogno di energia necessaria al mantenimento dell'omeostasi cellulare nonché delle prestazioni richieste. Ciò rende evidente come l'accelerazione della glicolisi provocata dall'O₃, in seguito alla sua azione sui coenzimi, conduce ad una aumentata formazione di ATP.

B) *Attivazione del metabolismo dei lipidi* - Questo effetto è ascrivibile all'ozono sia attraverso un intervento sul catabolismo dei grassi sia per un effetto lipolitico diretto. Tutto ciò ha come conseguenza una maggiore produzione di energia che risulta utile in tutte quelle condizioni, soprattutto fisiologiche, in cui è richiesto un aumento del lavoro.

Effetti sui globuli rossi e sul microcircolo

La membrana eritrocitaria è composta strutturalmente da proteine, idrati di carbonio e fosfolipidi. La prima fase della reazione è rappresentata dalla reazione dell'ozono con i doppi legami degli acidi grassi insaturi della membrana degli eritrociti (addizione elettrofila), per cui perossidi a catena breve penetrano negli eritrociti stessi, influenzandone il metabolismo⁵. Ciò comporta un aumento della demolizione dello zucchero ed il prodotto più importante di questa concatenazione di reazioni è il 2-3 difosfoglicerato che, in quanto sostanza deossigenante, rappresenta l'elemento chiave dell'effetto terapeutico dell'ozono grazie allo spostamento a destra della curva di dissociazione dell'emoglobina⁸ (Figura 2).

D'altro canto la formazione dei perossidi porterebbe ad un aumento degli ioni idrogeno all'interno dei globuli rossi, poiché l'emoglobina ossigenata si comporta come un acido più forte rispetto alla emoglobina deossigenata, tale modificazione del pH variando l'affinità dell'Hb per l'ossigeno porterebbe ad una maggiore cessione dello stesso (effetto Bohr).

Azione sulla reologia

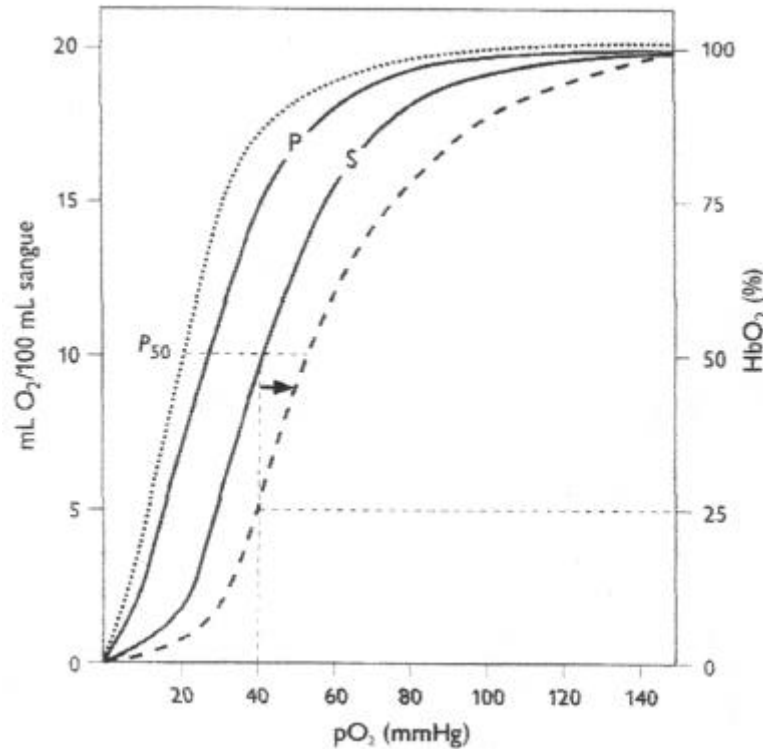
La somministrazione di ozono induce, a basse concentrazioni, una riduzione della viscosità ematica globale e dell'aggregabilità piastrinica¹⁵.

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

Azione battericida, fungicida e virustatica

L'azione battericida e fungicida discende dal contatto diretto tra l'ozono ed i microrganismi ed è dovuta alla distruzione della capsula sottoposta al processo ossidativo determinato dal gas e/o dai perossidi.

L'azione virustatica dell'ozono e quella dei suoi perossidi si esplica invece a carico dei recettori cellulari presenti sulla superficie virale in modo tale da impedire il contatto tra virus e cellula bersaglio; ne consegue che tutto il ciclo replicativo viene arrestato. Infatti la penetrazione del virus nella cellula è possibile in quanto gli accettori del virus sono costituiti da N-acetilglucosamina mentre i recettori cellulari sono costituiti da N-acetilneuraminico¹⁴.



La curva di dissociazione dell'ossiemoglobina (HbO_2) si sposta da P a S allorchè il sangue attraversa i capillari polmonari (P) e i capillari sistemici (S). L'eventuale aumento del 2.3-DPG, al pari della caduta del pH, dell'aumento della temperatura e della pCO_2 , sposta la curva ulteriormente verso destra (freccia verso la linea tratteggiata). Un aumento patologico di CO ($HbCO$) o una caduta **del livello di 2.3-DPG sposta la curva verso sinistra**

Figura 2 - Curva di dissociazione dell'ossiemoglobina

presenta il punto di attacco da parte della molecola elettrofila dell'ozono e dei suoi perossidi. Il virus sottoposto al processo di ossidazione ed alla mutazione della configurazione elettronica del sito non potrebbe più formare legami con la cellula e pertanto verrebbe bloccato nella sua reazione di adesione e reso inattivo.

Azione sul sistema immunitario

È stato osservato che agenti ossidanti come il perossido di idrogeno possano stimolare l'attivazione dei linfociti o dei monociti causando il rilascio di citochine tra cui: interferoni, fattore di necrosi tumorale ed interleuchine⁴.

Gli effetti dell'ozono in tal senso sono stati valutati in patologie autoimmunitarie, sia somministrandolo da solo sia in associazione a terapia immunosoppressiva. Si è giunti alla conclusione che tale gas riesce sia *in vitro* che *in vivo*, a determinare un effetto immunomodulante verificabile a livello ematico con la graduale riduzione delle immunoglobuline sieriche e la rapida caduta della clearance degli immunocomplessi circolanti. Dati di laboratorio consentono di evidenziare un ruolo induttivo da parte dell' O_3 , sulla produzione di diverse citochine, quali: interferone (IFN) alfa, beta, e gamma, fattore di necrosi tumorale (TNF alfa), interleuchina (IL) 1, 2, 4, 6, 8 e 10, granulopoietine (GM-CSF) e transforming growth factor β (TGF β)¹². Tutto ciò apre un ampio campo di ricerca sugli eventuali sviluppi terapeutici dell' O_2O_3 nel trattamento di diverse patologie di origine immunitaria¹⁸.

Azione analgesica ed antinfiammatoria

La terapia con ozono induce una rapida scomparsa del dolore articolare e dell'edema e una normalizzazione della temperatura locale, con aumento della mobilità e funzionalità articolare¹⁶.

Tali effetti sono da ascrivere, con ogni probabilità, alla inibizione della sintesi delle prostaglandine proinfiammatorie o della liberazione di bradichinina o di composti alogogeni; alla neutralizzazione delle specie reattive dell'ossigeno stimolando la produzione locale di enzimi antiossidanti; all'inibizione del rilascio di proteinasi dai macrofagi e dai polimorfonucleati

La coppia di elettroni libera appartenente all'azoto dell' N-acetilglucosamina rap-

neutrofili; ad una modulazione della produzione di citochine proinfiammatorie⁵.

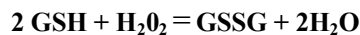
L'effetto dell'ozono sulle componenti del disco intravertebrale è complessa e molto discussa. Si ritiene comunque che l'ozono abbia effetti positivi sia sulla componente proteica che su quella glicidica e sull'acqua contenuta nel nucleo polposo⁶. In particolare si potrebbe realizzare un'attivazione del metabolismo locale per aumento dell'ossigenazione locale ed un effetto diretto sui componenti alterati del disco intervertebrale erniato¹⁶.

Ciò spiegherebbe il motivo dei positivi risultati riscontrati dopo ozono terapia nel trattamento di situazioni croniche molto diverse tra loro per costituzione patologica e per localizzazione⁶. Inoltre diverse affezioni attinenti l'apparato muscolo-scheletrico possono trarre vantaggio sia quando si tratti di eventi flogistici sia degenerativi. Questo in relazione ad una serie di effetti concatenati che, partendo da un miglioramento della microvascolarizzazione locale potrebbero causare allontanamento di sostanze algogene con relativa disinflammazione tessutale, riduzione di contrattura ed edemi, recupero di mobilità del rachide e quindi arresto dei meccanismi fisiopatologici della degenerazione.

TOSSICITÀ DELL'OZONO

Il maggiore preconcetto contro l'impiego in medicina dell'ozono è costituito dalla sua presunta tossicità. Condizione fondamentale per l'impiego dell'ozono nell'uomo è la dose somministrata, che non deve eccedere la capacità che gli enzimi antiossidanti (superossido dismutasi e catalasi) ed il glutatione hanno di impedire l'accumulo di anione superossido (O_2^-) e del perossido di idrogeno (H_2O_2).

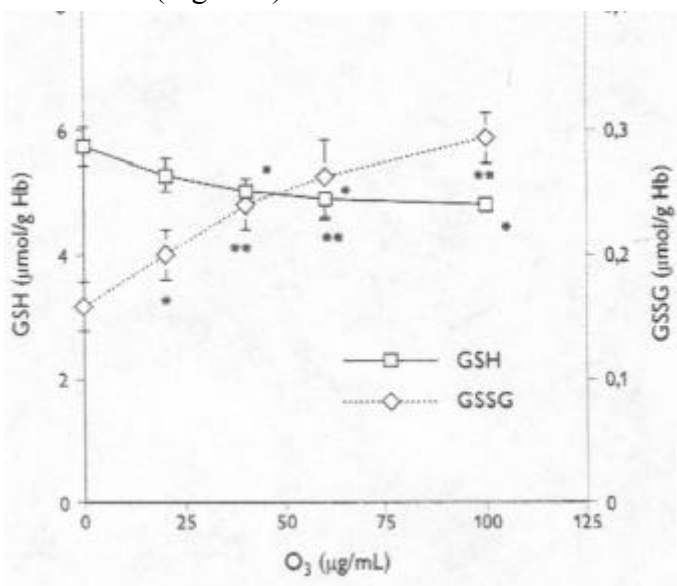
Tali sistemi si oppongono all'accumulo di questi prodotti e li trasformano prima che essi possano risultare dannosi per la cellula stessa¹. Così ad esempio, l'ozono dimostra una notevole affinità per il glutatione (GSH) che viene trasformato nella sua forma disulfidica dall'enzima GSH-perossidasi:



Il glutatione così ossidato, tramite l'enzima GSH-reduttasi viene nuovamente reso disponibile nella sua forma ridotta dalla seguente reazione:



Questo meccanismo svolge un ruolo di protezione dei lipidi di membrana dalla eventuale perossidazione, oltre a garantire la difesa degli acidi nucleici e delle proteine a livello endocellulare¹³ (Figura 3).



Questo diagramma dimostra come il GSH intraeritrocitario, ossidandosi in presenza di O₃, può evitare il danno cellulare. Il sangue umano era esposto a concentrazioni di O₃ da 0 a 100 µg/mL di sangue. L'ossidazione del GSH genera GSSG che potrà essere successivamente ridotto a GSH (Shinnki et al., 1998).

Figura 3 - Influenza dell'O₃ sul GSH intraeritrocitario

Risulta chiaro come, in presenza di diversi substrati ossidabili, le reazioni di ossidazione avvengano preferibilmente con quelli verso cui l'ozono ha maggiore affinità. Solo dopo l'esaurimento del primo substrato si avrà la reazione con un'altra sostanza e così di seguito. Questo meccanismo di "priorità" è molto importante perché su di esso si basano le capacità dell'organismo di proteggersi da eventuali effetti negativi dell'ozono.

È stato peraltro dimostrato che la formazione di radicali liberi da parte dell'ozono si verifica soltanto in un mezzo a pH superiore a 8¹³.

A pH < 7,5 predomina il meccanismo di reazione ionica sotto forma della classica ozonolisi, che determina principalmente la produzione di perossidi piuttosto che di radicali (Figura 4).

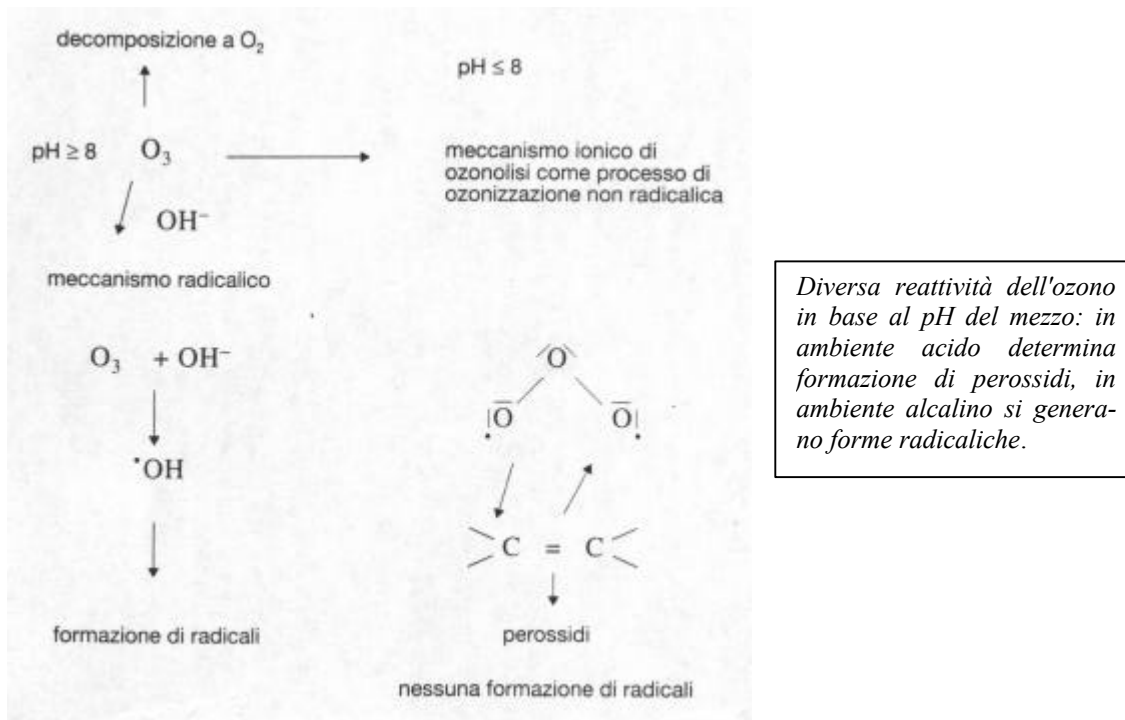


Figura 4 - Meccanismi radicalici e ionici della reazione dell'O₂ in acqua

Si può quindi affermare che a dosi adeguate l'ozono non induce effetti indesiderati; vi è comunque la possibilità che alte concentrazioni possano originare molecole reattive quali i radicali liberi^{2,11}. In condizioni fisiologiche esistono meccanismi di protezione anti-ossidativa che controllano la formazione degli stessi soltanto se questi aumentano in modo incontrollato e/o vengono meno i sistemi di protezione. Solo in questo caso può verificarsi una "cascata" di fenomeni lesivi capaci di compromettere la struttura e la funzione delle cellule^{7,10}.

Altro è invece l'aspetto riguardante le concentrazioni di ozono nell'aria specie negli ambulatori dove viene eseguita la terapia, pertanto occorre che questi siano sottoposti a costante monitoraggio in relazione alla possibile tossicità sviluppata dall'ozono assunto in maniera impropria per via inalatoria (Tabella I).

TABELLA I - EFFETTI TOSSICI DELL'O₃ PRESENTE NELL'ARIA

CONCENTRAZIONI DI O ₃ NELL'ARIA (PPM)	EFFETTI TOSSICI
0,1	Inibizione della vie aeree superiori e lacrimazione
1,0-2,0	Rinite, tosse, cefalea e talora nausea e vomito. Crisi di asma nei soggetti a rischio
2,0-5,0 (10-20 min)	Dispnea accentuata, broncospasmo, costrizione retrosternale
5,0 (60 min)	Edema polmonare acuto e talora paralisi respiratoria
10,0	Morte entro circa 4 ore
50,0	Morte entro alcuni minuti

Per ciò che riguarda prettamente l'aspetto clinico, numerose esperienze indicano come gli effetti collaterali, da trattamento con miscele ossigeno/ozono, siano rari ed il più delle volte legati ad errori della tecnica di somministrazione⁷. Uno studio effettuato in Germania su una casistica di 400.000 pazienti ha sottolineato la presenza di effetti indesiderati solo in 7 casi su 1.000.000 di applicazioni, tale incidenza corrisponde alla percentuale dello 0,0007%.

CONCLUSIONI

Sulla base delle implicazioni farmacologiche e delle evidenze cliniche si può concludere che l'impiego dell'ozono medicale può essere vantaggioso nel trattamento di diverse patologie. Il fatto che tali affezioni possano avere connotazioni diverse tra loro, rende ragione dell'attività versatile che caratterizza questa metodica con la quale si possono affrontare problemi di natura vascolare periferica, di tipo infettivo o di cui il dolore costituisce la manifestazione più eclatante.

È fondamentale che nelle applicazioni terapeutiche vengano osservate precise linee guida e che le concentrazioni alle quali questa miscela è impiegata lo siano altrettanto. A questo scopo è bene approfondire la ricerca scientifica nell'ottica di una valida conferma e di una spiegazione più esaustiva dei meccanismi d'azione che costituiscono la base di questa metodica.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Bellomo G, Mirabelli F et Al: Glutathione-mediated mechanisms of defence against oxygen free radical-induced hepatotoxicity. *Human Toxicol* 8:152,1989.
- 2) Bellomo G, Mirabelli F et Al: Oxidative stress-induced plasma membrane blebbing and

- cytoskeletal alterations in normal and cancer cells. *Ann NY Acad Sci* 551: 128-130, 1989.
- 3) Bertè F, Vairetti M, Richelmi P: Ozono: problemi tossicologici con particolare riguardo alla formazione di radicali liberi. Congresso Naz Soc Ossigeno-Ozono Terapia, Punta Ala (Gr) 1990:1-6.
 - 4) Bocci V. Autohemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal. *J Int Med Res* 22:131-144,1994.
 - 5) Bocci V, Luzzi E et Al: Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 12:121-126,1993.
 - 6) Bonetti M, Valdenassi L et Al: Analisi dei risultati dopo trattamento con O₂/O₃ nelle ernie intra ed extra foraminali lombari, World Congress on Oxygen Ozone Therapy, 1999.
 - 7) Buckley RD, Hackney JD et Al: Ozone and human blood. *Arch Envir Health* 30:40,1975.
 - 8) Coppola L, Verrazzo G et Al: Oxygen-ozone therapy and haemorheological parameters in peripheral chronic arterial occlusive disease. *Trombosi e Aterosclerosi*. Vol. 3 n. 2, marzo-aprile 1992.
 - 9) Luongo C, Sammartino A et Al: "Fisica-chimica e biochimica dell'ozono". *Scienze algologiche* 172 Anno III Gennaio/Aprile 1990.
 - 10) Mirabelli F, Salis A et Al: Surface blebbing and cytoskeletal abnormalities caused by sulphhydryl reagents in isolated hepatocytes. II. Oxidizing reagents. *Med Biol Environ* 16: 201-211,1988.
 - 11) Mirabelli F, Salis A et Al: Surface blebbing and cytoskeletal abnormalities caused by sulfhydryl reagents in isolated hepatocytes. 1. Alkylating reagents. *Med Biol Environ* 16: 187-197,1988.
 - 12) Paulesu L, Luzzi E, Bocci V: Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF-alpha) on human leucocytes. *Lymphokine and Cytokine Research* 19: 409-412,1991.
 - 13) Richelmi P, Valdenassi L: Aspetti biochimici ed implicazioni tossicologiche in ossigeno-ozono terapia. *Attualità e prospettive in terapia antalgica*. Ed. ESM 1995:185-204.
 - 14) Rilling S, Viebahn R: *The Use of Ozone in Medicine*. Haug KF (eds). II Edition. Heidelberg 1987:7-187.
 - 15) Rokitansky O, Rokitansky A et Al: Die Ozontherapie bei peripheren, arteriellen Durchblutungsstörungen: Klinik, biochemische und blutgasanalytische Untersuchungen. In: *Wasser. Ozon-Weltkongress*, Berlin 1981:53-75.
 - 16) Valdenassi L, Richelmi P et Al: L'ossigeno-ozono nella medicina fisica e riabilitativa. *Medicina fisica e riabilitazione*. G.N. Valobra Ed. Utet, 2000.
 - 17) Viebahn R: *The use of ozone in medicine*. Karl F. Haug Publishers, Heidelberg 1994:1-178.
 - 18) Wenzel DG, Morgan DL: Interactions of ozone and anti-neoplastic drugs on rat lung fibroblasts and Walker rat carcinoma cells. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology* 40(2): 279-287,1983.