

Simonetti V. Franzini M. Peci S.

# **PROPOSTA DI STUDIO OSSERVAZIONALE SPONTANEO SULL'UTILIZZO DELL'OZONOTERAPIA NELLA SCLEROSI MULTIPLA**

*PubMedEurope  
Volume 1  
Tavola 1 pag. 1-14  
Edizione 2008*

## **RAZIONALE DELLA TERAPIA**

L'Ozono ( $O_3$ ), forma allotropica dell'Ossigeno ( $O_2$ ), è normalmente presente in atmosfera e ci protegge dai raggi ultravioletti solari. E' stato usato per la prima volta come antisettico durante la prima guerra mondiale. Negli anni '30 Payr<sup>82</sup> ne estende l'utilizzo anche ad altre patologie. Allo stesso periodo risale l'utilizzo dell'Ozono per la potabilizzazione delle acque in importanti città, quali Zurigo, Marsiglia, Singapore, Firenze, Mosca, Costanza.

Negli ultimi vent'anni, l'Ozonoterapia viene impiegata nelle patologie estetiche, ortopediche<sup>4,32</sup>, vascolari<sup>1,2,21,44,50,55,61,63,79</sup>, odontoiatriche<sup>18,35,47</sup>, oftalmiche<sup>8,51,56</sup>

affermandosi sempre più per i successi clinici ottenuti e per la notevole maneggevolezza e sicurezza dimostrata. Con i nuovi studi, sono aumentate anche le modalità di applicazioni a seconda della patologia in atto: iniezioni sottocutanee ed intramuscolari, Grande Auto Emo Trasfusione ozonizzata (GAET), Piccola Auto Emo Trasfusione ozonizzata (PAET), insufflazioni rettali, acqua<sup>42</sup> ed olio ozonizzati. Inoltre, è stato dimostrato che l'Ozono possiede un effetto immunostimolante a bassa concentrazione (20-35 µg/ml), mentre è immunosoppressivo se usato ad alta concentrazione (45-65 µg/ml)<sup>60</sup>.

Recentemente Marx e Bardi<sup>14</sup> hanno dimostrato come in natura le IgG esercitano l'azione battericida liberando  $O_3$ .

Numerosi articoli hanno ampiamente descritto gli effetti antinfiammatori<sup>34</sup>, antalgici<sup>38</sup>, antibatterici<sup>20,40-42,49,53,54,78,80</sup>, virustatici<sup>17,27,66,67</sup> e di miglioramento perfusionale del microcircolo<sup>59</sup>, nonché la conseguente scomparsa del dolore ischemico, il recupero funzionale dei gruppi muscolo-articolari, la guarigione di ulcere trofiche<sup>62,64</sup>: tali effetti contribuiscono in modo significativo a migliorare la qualità della vita dei pazienti, a rendere più efficaci molte terapie farmacologiche<sup>37</sup> o riabilitative, a riparare anche alcuni danni iatrogeni<sup>15, 16, 19,36,48,58,65</sup>.

Il miglioramento perfusionale del microcircolo permette un'ottimizzazione nell'utilizzo dell'Ossigeno e del Glucosio<sup>39</sup>, stimola l'attivazione metabolica e lo smaltimento dei cataboliti, il cui accumulo contribuisce a determinare la noxa infiammatoria. Inoltre Amato<sup>2</sup> ha dimostrato che le proprietà emorreologiche<sup>43,68,77</sup> dell'Ozono sono maggiori di quelle della pentossifillina. Nei pazienti diabetici insulinodipendenti<sup>69</sup>, già durante ciclo di GAET, spesso si è dovuto ridurre il dosaggio terapeutico di insulina e di farmaci antipertensivi.

Bocci e Sammartino<sup>3,6,10</sup> hanno documentato che l'Ozono, a dosi adeguate, non solo non sembra indurre effetti indesiderati, ma induce un'attivazione degli

enzimi (catalasi, superossidodismutasi, glutatione...) deputati all'inattivazione dei radicali liberi<sup>3,6,26</sup>. Effetto finale dell'attivazione del glutatione è la riduzione dei ponti disolfuro, con conseguente azione curativa proteica<sup>52</sup>.

Nel quadro dell'insufficienza renale è presente una ridotta attività degli enzimi antiossidanti (superossidodismutasi, catalasi, glutatione perossidasi) a cui segue inevitabilmente uno stress ossidativo ed un aumento della risposta infiammatoria<sup>81</sup>. Gli effetti antiossidanti, emorreologici ed antinfiammatori dell'Ozono contribuiscono a migliorare la situazione deficitaria sopra descritta<sup>70-76</sup>.

Numerosi studi<sup>1-3,5-11,22-25,45,46</sup> hanno mostrato come la GAET abbia un'azione immunomodulante e sia capace di indurre la riattivazione circolatoria. Questi risultati sono stati determinanti per stimolarci a sperimentare l'ossigenozonoterapia anche nelle malattie degenerative cerebrali, nelle patologie neurologiche autoimmuni e nelle lesioni vascolari cerebrali, siano esse post traumatiche o post ictus trombotico/emorragico.

Con iniezioni sottocutanee o intramuscolari<sup>38</sup> di O<sub>2</sub>/O<sub>3</sub> determiniamo una repentina scomparsa del dolore, anche se non a lungo termine, nella cefalea muscolo tensiva, nella tendinite, nell'artropatia, nella nevralgia facciale di origine periferica (flogosi dell'ATM, trisma conseguente a chirurgia odontoiatrica od a manovre anestesilogiche), una netta riduzione dell'edema e del dolore nell'artrite reumatoide, nell'erisipela, nella panniculopatia edemato-fibrosclerotica e post traumatica. Con più sedute, invece, otteniamo notevoli successi duraturi nella cura delle rachialgie e nella riparazione di lesioni nervose periferiche. Le GAET portano

notevoli miglioramenti clinici, che consentono una riduzione, se non la sospensione di cortisonici e FANS nei pazienti affetti da artrite reumatoide<sup>33</sup>; la guarigione clinica di infezioni erpetiche ricorrenti anche in quadri clinici particolarmente severi; un netto miglioramento nella patologia asmatica, tale da permettere una riduzione del carico farmacologico.

In un lavoro sull'effetto immunomodulante dell'Ozono pubblicato nel 2001<sup>13</sup>, si sono osservate variazioni delle sottopopolazioni linfocitarie su 38 pazienti con varie patologie. Di particolare interesse sono risultati i dati relativi a 13 pazienti affetti da patologia demielinizzante e autoimmune (10 soggetti con sclerosi multipla e 3 con artrite reumatoide) che sono stati sottoposti periodicamente per 6 anni a GAET. Infatti, in questi pazienti, è emerso che i linfociti T "helper /inducer" (sottopopolazione CD4<sup>+</sup>), indice di adeguata competenza immunitaria, sono risultati stabili nel tempo, e quelli relativi ai linfociti T attivati (sottopopolazione CD3+ HLA-DR+) non sono risultati incrementati.

Concentrazioni (x10<sup>9</sup>/L) medie delle sottopopolazioni linfocitarie e rapporto CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> prima e dopo il trattamento con ossigenozono

Sottopopolazioni linfocitarie	Prima	Dopo	P
CD 3 <sup>+</sup> (linfociti T)	1,477	1,570	0,270
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (T helper/inducer)	0,994	1,103	0,078
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (T suppressor/citotossici)	0,474	0,438	0,442
CD19 <sup>+</sup> (linfociti NK)	0,255	0,227	0,302
CD3 <sup>+</sup> HLA DR <sup>+</sup> (linfociti T attivati)	0,029	0,029	1
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	2,371	2,821	0,045

Il test T di Student evidenzia l'aumento significativo del rapporto CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> e la stabilità della sottopopolazione linfocitaria CD3<sup>+</sup> HLA DR<sup>+</sup>, indice di attività autoimmune.

V. Simonetti, W. Liboni, P. Bancotti, A. Gello. La malattia ischemica periferica (Franco Maraschi). Tip. Audis Grosseto, novembre 2001

Ohtsuka nel 2006 ha evidenziato che l'Ozono aumenta il rapporto CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, perché stimola l'attività dei linfociti T; inoltre determina un aumento della produzione di citochine, a cui segue una riduzione dei CD14<sup>+</sup>, che di norma appaiono già ridotti nelle patologie infiammatorie in

quanto vengono reclutati dalle citochine in periferia<sup>57</sup>.

Mezey et al. hanno dimostrato che cellule staminali del midollo osseo di animali adulti trapiantate nel cervello di ratti affetti da leucemia linfoide, generano differenti tipi di cellule cerebrali, tra cui quelle endoteliali, della sostanza bianca e neuroni, principalmente dell'ippocampo e della corteccia cerebrale<sup>87</sup>. Secondo Bocci alcuni LOPs indotti dall'Ozono arriverebbero sino alla sostanza nigra, attivando cellule staminali silenti e ne indurrebbero la differenziazione insieme ad una upregulation della sintesi cellulare di enzimi antiossidanti, determinanti per un riequilibrio del sistema redox cellulare. Probabilmente questi effetti sono dovuti ad un incremento del rilascio di dopamina e/o fattori di crescita neuronali determinato appunto dai LOPs.<sup>86</sup>

L'efficacia clinica dell'Ozonoterapia e la constatata assenza di effetti collaterali<sup>28-30</sup>, spesso presenti invece in molti protocolli di altra terapia farmacologica, i chiari successi su sintomatologia dolorosa muscolare, articolare, asteniforme, su linfedema ed infezioni intercorrenti<sup>12</sup>, ci hanno spinto a provare l'applicazione dell'Ozonoterapia anche in pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM), previo consenso informato del paziente.

## SCLEROSI MULTIPLA<sup>12</sup>

La sclerosi multipla (SM) è una malattia caratterizzata da infiammazione cronica e distruzione selettiva della mielina del sistema nervoso centrale. Le lesioni cicatriziali multifocali tipiche di questa patologia vengono definite placche.

L'incidenza è di 1/1.100 abitanti. In Italia ci sono 54.000 malati e si diagnosticano 1.800 nuovi casi all'anno. L'età di esordio è tra i

15 e i 50 anni, con maggiore frequenza tra i 20 e 30 anni. È più frequente nelle donne con un rapporto femmine/maschi di 2:1. Le forme più aggressive sono, però, più comuni negli uomini. Si ritiene che l'eziologia sia autoimmune, con una suscettibilità determinata da fattori genetici ed ambientali quali infezioni virali, intossicazioni croniche di metalli pesanti e forse anche uno squilibrio metabolico. Per quanto riguarda la predisposizione genetica, recentemente è stato scoperto che mutazioni dei geni IL7R e IL2R (recettori per le interleuchine 7 e 2 rispettivamente), aumentano del 30% il rischio di sviluppare la malattia. Questo spiegherebbe la natura immunitaria della patologia, visto che l'IL7R è coinvolto nell'attività dei linfociti T regolatori, capaci di sopprimere la risposta immunitaria. L'IL2R, invece, faciliterebbe l'espressione della SM, ma anche del diabete I e delle tiroiditi autoimmuni<sup>88</sup>. Nella maggior parte dei casi la SM inizia con attacchi ricorrenti di disfunzioni neurologiche focali, che possono durare settimane o mesi, con un successivo recupero di grado variabile. In altri casi invece, la malattia si presenta con un deterioramento neurologico lentamente progressivo. Condizioni di stress determinano un peggioramento dei sintomi. Le manifestazioni sono variabili e comprendono: ipostenia e/o sintomi sensoriali che interessano un arto, difficoltà visive, alterazioni della deambulazione e della coordinazione, tenesmo vescicale o pollachiuria, astenia importante. I disturbi sensoriali più comuni sono parestesie localizzate, sensazioni di "puntura di aghi" o di "addormentamento" di un arto. La neurite ottica può provocare appannamento o offuscamento della vista, spesso associato a dolore retroorbitale. Il coinvolgimento del tronco

cerebrale può causare diplopia, nistagmo, vertigini, dolore facciale, ipoestesia e ipostenia facciali, emispasmo o mioclonia. Il coinvolgimento cerebellare invece determina atassia, tremore e disartria. Il sintomo di Lhermitte, cioè una sensazione di scossa elettrica in seguito alla flessione del collo, è dovuto ad un coinvolgimento del midollo cervicale.

La SM è una malattia cronica. Dopo circa 15 anni dalla diagnosi il 20% dei casi non ha limitazioni funzionali, in circa la metà dei pazienti la malattia è progredita a SM progressiva secondaria con necessità di assistenza alla deambulazione.

Ai fini della diagnosi sono necessari l'anamnesi, l'esame obiettivo neurologico e la risonanza magnetica cerebrale. Sono senz'altro utili per una diagnosi differenziale i potenziali evocati e l'esame del liquor cerebrospinale.

Esistono 4 tipi di SM:

- 1) recidivante-remittente: attacchi ricorrenti di disfunzione neurologica con o senza recupero. Non si osserva progressione dell'interessamento neurologico tra gli attacchi
- 2) progressiva secondaria: inizia con un quadro di recidivante-remittente, ma evolve in modo gradualmente progressivo
- 3) progressiva primitiva: progressione graduale dell'invalidità sin dall'inizio, circa il 15% dei casi
- 4) progressiva-recidivante: rara forma che inizia con andamento di tipo progressivo primitivo, con successiva comparsa delle recidive

Per quanto riguarda la nostra casistica dal 1996 ad oggi, abbiamo trattato 31 pazienti

affetti da SM di cui 21 recidivanti-remittenti e 10 progressive primarie/secondarie. Il nostro end point è stato:

- 1) riduzione del dolore conseguente a spasticità e/o alterazioni posturali
- 2) miglioramento del ritmo sonno-veglia
- 3) miglioramento funzionale del microcircolo venoso linfatico, compromesso da alterazioni della regolazione neuro vegetativa e posturale
- 4) miglioramento delle funzioni neuro vegetative e sfinteriche
- 5) rallentamento nella progressione della malattia
- 6) miglioramento della cinestesi
- 7) influenza favorevole sui tempi di remissione delle *poussés* (particolarmente brevi se trattate entro 72 ore dall'insorgenza)

E' da sottolineare che risultati più evidenti sono stati ottenuti nei pazienti affetti da SM recidivante-remittente, mentre sono stati più sfumati in quelli affetti dalla forma progressiva primaria/secondaria, caratterizzate da cronicità dei sintomi e rilievo di importanti alterazioni del parenchima cerebrale e midollare. Tale miglioramento si manifesta clinicamente con un recupero più o meno evidente in rapporto alla gravità, a seconda, cioè, se la lesione infiammatoria sia ancora circoscritta alla sostanza bianca oppure interessi già la sostanza grigia, e la cronicità dello stato patologico raggiunto.

Le osservazioni cliniche dei pazienti trattati ci permettono di affermare che le attuali tabelle di disabilità (F.I.M., Ashworth...) non contemplano quella gradualità sufficiente ad evidenziare i benefici dell'Ozonoterapia, che pure sembrano migliorare in modo

significativo la qualità della vita dei pazienti. I nostri risultati clinici sono coerenti con gli obiettivi proposti.

## EFFETTI E COSTI DELLE ATTUALI TERAPIE FARMACOLOGICHE

Le frequenti riflessioni esposte da diversi esperti e ricercatori (Garattini, L.M.Flek ...) sulla sostenibilità economica di farmaci sempre più costosi, anche per i governi occidentali, a fronte di un numero sempre crescente di pazienti affetti da Sclerosi Multipla e da patologie autoimmuni, ci hanno spinto, unitamente alle motivazioni scientifiche conseguenti alle sperimentazioni precedentemente esposte, a proporre l'utilizzo dell'Ozonoterapia anche presso le strutture sanitarie pubbliche dedicate. Secondo Rogoff (Prof di economia politica alla Harvard University) "in un futuro non troppo lontano il consenso morale, sociale e politico che tiene in piedi il capitalismo verrà messo a dura prova quando i sistemi sanitari più egualitaristici si troveranno a dover fare i conti con costi sempre maggiori. (...) Il vero problema è se le società sono disposte o meno a fornire agli anziani un accesso uguale per tutti a tecniche sanitarie sempre nuove e sempre migliori"<sup>90</sup>.

I farmaci comunemente usati per la cura della Sclerosi Multipla, quali Copaxone, Avonex, Tysabri sono certamente efficaci sulla malattia; tuttavia, possono determinare notevoli effetti collaterali<sup>31</sup> ed alti costi economici, come dimostrato da un'analisi costi tratta dal *Prontuario Farmaceutico* e dal *Bollettino d'informazione sui farmaci*, n. 2, 2007. Infatti, un paziente trattato con Copanex costa circa € 16.308,00/anno, mentre con Avonex costa circa € 44.568,00/anno e, infine, con Natalizumab (Tysabri) costa circa € 32.171,00/anno. A suddette

cifre è necessario aggiungere quelle dovute all'assunzione di farmaci connessi agli effetti collaterali ed al costo delle prestazioni sanitarie.

Di seguito elenchiamo il meccanismo d'azione e i principali effetti collaterali di questi farmaci:

- **Glatitamer (Copanex):** polipeptide composto da Glutammato-Alanina-Tirosina-Lisina.

- Costo: € 16.308,00/anno/paziente.
- Posologia: 1f/die sottocute.
- Indicazioni: solo per pazienti deambulanti.
- Controindicazioni: SM progressiva primaria/secondaria, pazienti di età inferiore ai 18 anni e donne gravide.
- Interazioni: ignote interazioni con Interferon.
- Azione farmacologica: prima di venire immesso in commercio, sono stati trattati 269 pazienti, nei quali le *poussés* si erano ridotte del 32%. Disponibili dati su trattamento a lungo termine (6 anni) solo su 76 pazienti. Non sono stati evidenziati benefici sulla progressione della invalidità e non vi sono prove che il trattamento con Copaxone abbia un effetto sulla durata o gravità delle recidive. Non risultano studi farmacocinetici per l'uomo, per cui non è possibile stabilire i margini di esposizione tra uomo e animale, né dose minima letale. Studi in vitro hanno dimostrato che la sostanza attiva si è prontamente assorbita e che gran parte della dose si è rapidamente degradata in frammenti

più piccoli già nel tessuto sottocutaneo. Non sono stati osservati effetti significativi più positivi rispetto al placebo. Necessario monitoraggio renale.

- Effetti indesiderati: manifestazioni molto frequenti: eritema, dolore, prurito, edema ed infiammazione nel punto di iniezione; in 41% dei pazienti sono stati osservati vasodilatazione, dolore toracico, dispnea, palpitazioni subito dopo iniezione; induzione di autoanticorpi. Manifestazioni frequenti: anoressia, disfagia, nausea, alterazioni dell'alvo, linfadenopatie, eosinofilia, ulcere esofagee, artralgie, artriti, ansia, depressione, ipertonia muscolare, nervosismo, tremori, amnesie, atassia, nistagmo, sonnolenza, disturbi della parola, allucinazioni, infezioni varie, neoplasie benigne cutanee, moniliasi vaginale, dismenorrea, impotenza, pap test sospetto, minzione imperiosa o ritenzione urinaria. Manifestazioni rare: epato/splenomegalia, ipertiroidismo, tentativi anticonservativi, alterazioni della personalità, carcinoma cutaneo, pielonefriti, encefalomielite allergica sperimentale.<sup>83,84</sup>

- **Interferon beta 1a (Rebif):**

- Costo: € 19.336,68/anno/paziente
- Posologia: 44 mcg, 3f im/settimana
- Indicazioni: SM recidivante-remittente

- Controindicazioni: SM progressive invalidanti, donne gravide, epilessia. Cautela nei pazienti con cardiopatie, angine ed aritmie, patologie epatiche in forme attive o che abusano di alcol.
  - Interazioni: riduce l'attività degli enzimi dipendenti dal citocromo epatico P450 coinvolti nel metabolismo di molti farmaci, quali antiepilettici e antidepressivi. Non è stata studiata in maniera sistematica l'interazione di Rebif con corticosteroidi ed ACTH, anche se studi clinici indicano che pazienti affetti da SM possono essere trattati con Interferone associato a corticosteroidi durante le riacutizzazioni.
  - Azione farmacologica: proprietà immunomodulatorie, antivirali e antiproliferative. Ha ridotto la frequenza delle esacerbazioni del 30%, ma non ha dimostrato effetti significativi sulla progressione della disabilità.
  - Effetti indesiderati: induzione di idee anticonservative, edema e/o necrosi al sito di iniezione, sudorazione, aumento delle transaminasi, leucopenia, trombocitopenia, alterazioni tiroidee, epato e nefro tossicità, il 14% dei pazienti produce autoanticorpi tra 24-48 mesi, può indurre alterazione dei riflessi con conseguente aumento dei rischi conseguenti alla guida degli autoveicoli, mialgia, artralgia, febbre, brividi, astenia,
- cefalea, nausea, perdita dei capelli, depressione, convulsioni, aritmie, orticaria, ipersensibilità.<sup>83,84</sup>
- **Natalizumab (Tysabri):** anticorpo monoclonale
    - Costo: € 32.171,00/anno/paziente
    - Posologia: 1f ev ogni 4 settimane in monoterapia
    - Indicazioni: SM recidivante remittente.
    - Controindicazioni: pazienti immunodepressi o in terapia con immunosoppressori (non sono controindicati brevi cicli di corticosteroidi).
    - Azione farmacologica: lega in modo specifico l'integrina  $\alpha 4\beta 1$ , bloccandola ed impedendo la fuoriuscita dei linfociti T dai vasi sanguigni. In questo modo l'infiammazione viene ridotta così come la lesione nervosa della SM. Il rischio di progressione dell'invalidità è stato ridotto del 42% rispetto al placebo.
    - Effetti collaterali: infezioni ricorrenti, orticaria, cefalea, vertigini, vomito, nausea, artralgie, brividi, febbre, astenia, leucoencefalopatia multifocale progressiva, il 6% dei pazienti può sviluppare anticorpi persistenti.<sup>85</sup>
  - **Azatioprina:**
    - Costo: circa € 650,00/anno per paziente di 70 Kg (più gastroprotettori), compresse da 50mg
    - Posologia: 5mg/kg iniziale poi 4mg/kg associata a Cortisone
    - Indicazioni: SM progressiva primaria/secondaria
  - Interazioni: ridurre sino ad ¼ la dose iniziale se in associazione con Allopurinolo.
  - Azione farmacologia: immunosoppressore. Non sembra dare particolari benefici clinici.
  - Effetti indesiderati: sindrome semi-influenzale, ittero colostatico, pancreatite, alterazioni del ritmo cardiaco, ipotensione, anemia megaloblastica, aplasia eritrocitaria, leucopenia, trombocitopenia, alopecia nel 50% dei casi. Necessario monitorare emocromo e glicemia.
  - **Methotrexate:**
    - Costo: € 30,00/anno
    - Posologia: 7,5mg/sett
    - Indicazioni: SM cronica progressiva
    - Azione farmacologica: immunosoppressore antagonista competitivo dell'acido folico, blocca la sintesi delle purine e quindi la replicazione del DNA nella fase S; aumenta il rapporto linfociti T helper/T suppressor. Induce una modesta riduzione della frequenza delle ricadute e ritarda la progressione della SM.
    - Effetti collaterali: importante epatotossicità, polmonite asettica, induzione neoplastica, ipoplasia midollare, ulcere e necrosi cutanee, alopecia, emorragie, pancreatite, insufficienza renale, oligospermia, leucorrea, afasia, emiparesi, convulsioni, encefalopatie, eventi tromboembolici, infezioni opportunistiche, fibrosi polmonare, vasculite,



diabete, osteonecrosi, osteoporosi.

- **Cortisone:** ormone surrenalico biologicamente attivo ed utilizzabile in terapia sostitutiva.
- Costo: pur avendo un costo economico diretto irrisorio, i suoi effetti collaterali inducono un alto costo economico e sociale.
- Azione farmacologica: determina una regolazione negativa nei confronti del cortisolo endogeno, con conseguente riduzione della produzione ormonale. E' l'immunosoppressore più noto ed usato. Il cortisone ad alte dosi e.v. riduce l'espressione di T-bet e pSTAT1 presenti nei linfociti e monociti dei pazienti affetti da SM in fase di aggravamento<sup>89</sup>. La sua azione biochimica si esercita principalmente a livello del DNA cellulare stimolando o deprimendo la produzione di proteine, influenzando il metabolismo dei carboidrati, delle proteine e degli acidi grassi. Stimola la neoglucogenesi, favorisce la produzione di glucosio dal catabolismo proteico e ne inibisce la captazione da parte delle cellule adipose con conseguente aumento della lipolisi. Lo stimolo alla produzione di insulina correlato alla neoglucogenesi, tuttavia, annulla l'effetto lipolitico facendo in modo che il bilancio finale sia correlato ad un aumento dei depositi di grasso. Inoltre, induce

un aumentato catabolismo della massa muscolare, dei tessuti cutanei, del tessuto linfatico e del tessuto connettivo, oltre ad una demineralizzazione delle ossa con conseguente osteoporosi. I cortisonici provocano una diminuzione della sensibilità all'insulina, ossia una insulino-resistenza sia a livello muscolare (bloccano l'azione dell'insulina a livello ricettoriale e post-ricettoriale, impedendo la penetrazione delle molecole di glucosio all'interno delle cellule e favorendo l'iperglicemia), sia a livello del tessuto adiposo, favorendo la lipolisi, con conseguente aumentata produzione di acidi grassi. Questi ultimi bloccano l'azione dell'insulina (lipotossicità) con relativo aumento della glicemia. Dal punto di vista terapeutico, i glicocorticoidi vengono utilizzati per le loro accertate attività antinfiammatorie ed immunosoppressive. L'attività antinfiammatoria viene espletata attraverso l'inibizione della fosfolipasi A2, aumentando la concentrazione dei polimorfonucleati neutrofili e diminuendo quella delle altre frazioni leucocitarie. L'inibizione dell'attività della fosfolipasi A2 comporta una diminuzione della produzione di prostaglandine e di leucotrieni, fattori determinanti l'instaurazione di un processo infiammatorio.

Se applicati localmente, i corticoidi provocano una vasocostrizione, con conseguente diminuzione della permeabilità dei vasi sanguigni capillari e diminuzione del rilascio di istamina da parte dei granulociti basofili. Inoltre inibiscono la migrazione leucocitaria, la risposta proliferativa cellulare, la produzione di citochine ed anticorpi.

- Effetti collaterali: diabete, osteoporosi, miopatie, alterazioni del bilancio idro-elettrolitico (ritenzione idrica), ipertensione arteriosa, ulcere intestinali, assottigliamento e fragilità cutanea, riduzione delle mitosi con conseguente ridotta capacità di riparazione tissutale, cefalea, vertigini, disendocrinie (disturbi della crescita, irregolarità mestruali), cataratta, bilancio azotato negativo.

Alcuni studi hanno valutato l'efficacia clinica dei farmaci attualmente usati nella terapia della SM. Khan et al in uno studio prospettico, controllato, *open-label*, non randomizzato, della durata di dodici mesi ha osservato che pazienti affetti da SM recidivante-remittente allo stadio iniziale (EDSS media 2,64) traevano beneficio dalla terapia con solo Copanex o Betaseron e presentano una riduzione significativa sia dell'indice di recidiva ( $P < 0,003$ ) sia dell'EDSS ( $P < 0,001$ ) rispetto ai pazienti non sottoposti a terapia, mentre la riduzione di questi parametri in quelli trattati con solo Avonex non è stata statisticamente significativa<sup>91</sup>. Lo studio QUASIMS (Quality Assessment in Multiple Sclerosis Therapy) della durata di 2 anni, invece, ha osservato una

riduzione del tasso di ricaduta nei pazienti in monoterapia con Avonex (0,52) rispetto al Rebif (0,69). Entrambi i farmaci hanno determinato una riduzione dell'EDSS di 0,2 punti <sup>92</sup>.

Lo studio randomizzato AFFIRM (the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis study) ha valutato l'efficacia e tollerabilità del Tysabri somministrato in monoterapia. I pazienti presentavano un'EDSS media di 2,3. Dopo 2 anni hanno osservato una riduzione del tasso di recidiva ( $P < 0,001$ ) e della progressione della malattia rispetto al gruppo placebo <sup>93</sup>. Anche lo studio SENTINEL ha valutato l'efficacia e tollerabilità del Tysabri in pazienti affetti da SM recidivante già in terapia con l'interferone beta (EDSS media 2,4). Il gruppo trattato con entrambi i farmaci ha dimostrato una riduzione della progressione della disabilità ( $P < 0,02$ ) e del tasso di recidiva ( $P < 0,001$ ) rispetto al gruppo in monoterapia con interferone beta. Sono stati diagnosticati 2 casi di leucoencefalopatia multifocale progressiva tra i pazienti trattati con Tysabri <sup>94</sup>.

Lugaresi nel 2001 ha accertato l'efficacia di basse dosi di methotrexate nella terapia della SM cronica progressiva (EDSS media 6,3). Dopo 2 anni di trattamento, l'EDSS era di 6,4 il che dimostra un effetto modesto sulla progressione della malattia <sup>95</sup>.

Gladstone nel 2006 ha verificato che pazienti affetti da SM recidivante grave ( $EDSS \geq 3,5$ ), dopo 2 anni di trattamento con ciclofosfamide ad alte dosi, non presentavano cambiamento significativo del valore dell'EDSS <sup>96</sup>.

## Terapia proposta

### - Ozono:

- Costo onnicomprensivo per paziente: circa € 3.000,00 per il primo anno; circa € 800,00 negli anni successivi per le terapie di mantenimento
- Indicazioni: SM recidivante-remittente
- Controindicazioni: donne gravide (non ci sono studi sui possibili effetti teratogeni dell'ozono), ipertiroidismo, deficit di Glucosio-6-fosfato-deidrogenasi.
- Interazioni: non è nota nessuna interazione con altri farmaci
- Azione farmacologica: effetto immunomodulante<sup>13,57</sup> ed antinfiammatorio<sup>34</sup>, miorilassante, miglioramento perfusionale del microcircolo<sup>59</sup>, rende più efficaci molte terapie farmacologiche<sup>37</sup> o riabilitative perché ne migliora sia l'utilizzo che il metabolismo, permettendo anche una loro riduzione posologica, oltre alla capacità di riparare alcuni danni iatrogeni<sup>15,16,19,36,48,58,65</sup>. La riduzione della spasticità e del dolore, associate al miglioramento delle funzioni neurovegetative e sfinteriche, al miglioramento della cinestesi, alla riduzione dei tempi di remissione delle *poussés* e al rallentamento della progressione della malattia, comportano un miglioramento significativo nella qualità di vita di questi pazienti.

- Effetti collaterali: non è nefrotossico, non è epatotossico né cardiotossico, non induce tumori né altre turbe metaboliche, non aumenta il rischio trombotico, non è allergizzante e non induce formazione di autoanticorpi<sup>28-30</sup>. Gli unici effetti collaterali, oltre a quelli dovuti alla puntura dell'ago, possono essere dovute a cause emozionali (riflessi vaso-vagali).

- Cardiopatie severe che implicano una grave deficienza cardiaca (aritmie, scompenso cardiaco, infarto miocardio, ecc)
- Ipertensione arteriosa non controllata
- Neoplasia
- Patologie infettive gravi
- Affezioni neurologiche e/o psichiatriche (Morbo di Parkinson, depressione maggiore, ecc)
- Malattie autoimmuni quali LES, sclerodermia, vasculiti
- Ipertiroidismo
- Favismo o deficit di G6PD

## MATERIALI E METODI

### Criteri di inclusione:

- Età compresa tra 20 e 60 anni
- Uomini e donne affetti da sclerosi multipla recidivante-remittente
- Sia pazienti trattati con Interferone beta, Glatitamer, Natalizumab, Azatioprina, Methotrexate o Cortisone, sia quelli che non assumano nessuna terapia
- EDSS (Expanded Disability Status Scale)  $\leq 3$
- Parametri ematochimici adeguati:
  - WBC  $> 3,5 \times 10^9/l$
  - Hb  $> 10 \text{ g/dl}$
  - Conta granulocitaria  $> 3,5 \times 10^9/l$
  - Piastrine  $> 100 \times 10^9/l$
  - Creatininemia  $< 2 \text{ mg/100ml}$
- approvazione con firma del consenso informato prima dell'inizio del trattamento

### Criteri di esclusione:

- Abuso di alcool, psicofarmaci e narcotici
- Gravidanza

Materiale impiegato: erogatore di Ozono Multiossigen (fornito di spettrofotometro ad ultravioletti a doppia lettura certificata CEE 93/42), sacche e deflussori Terumo per trasfusioni, ago per prelievo bionici 17G oppure ago cannula da 17G, siringhe Terumo da 60 ml, bilancia idonea a pesare da 5 a 500 gr.

Modalità del trattamento: ciclo di 20 GAET a cadenza bisettimanale, con un dosaggio progressivamente aumentato sino ad arrivare alla dose massima di reinfusione di 240 ml di sangue precedentemente prelevato ad una concentrazione di 55  $\mu\text{g}$  di Ozono, ed eventuali richiami periodici ogni 2-3 mesi o in caso di *poussé*, a seconda dello stadio della patologia.

L'Ozonoterapia, a causa dell'instabilità della molecola stessa, impone la necessità di effettuare i trattamenti in un Centro Specializzato e non a domicilio.

## MONITORAGGIO

1) Esami ematochimici da eseguire all'inizio e alla fine ciclo di 20 terapie:

- Emocromocito metrico



- Sottopopolazio  
ni linfocitarie
- Glicemia
- PCR
- Omocisteina
- Vit. B12
- Folati
- Creatininemia
- Protidogramma
- TSH

2) RMN cerebrale e potenziali evocati da effettuare ai fini della conferma diagnostica e ad ogni anno nel corso del trattamento terapeutico, salvo eventuali riacutizzazioni cliniche.

Ai fini di misurare la disabilità e le alterazioni funzionali che possono compromettere l'autonomia del paziente, si dovrebbe effettuare prima dell'inizio del ciclo di terapia, alla fine delle 20 sedute e ad ogni anno, un monitoraggio utilizzando la scala dello stato di disabilità espansa (EDSS), fornita dalla classificazione ICF, e in grado di valutare le attività della vita quotidiana. Inoltre, per quanto riguarda il controllo della funzione vescicale ed intestinale, si associano i dati obiettivi anamnestici. L'insieme di questi rilievi dovrebbe fornire una quantizzazione delle alterazioni neurologiche a livello piramidale, cerebellare, midollare e delle funzioni autonome affinché si possa stabilire quelle più frequentemente compromesse nelle attività indispensabili del daily living.

## CONCLUSIONI

L'Ozonoterapia, per le sue azioni sopraindicate, si pone come valida terapia per le alterazioni fisiopatologiche e per i sintomi presenti Sclerosi Multipla dove può apportare un significativo miglioramento della qualità e aspettativa della vita, ad un basso costo e senza effetti collaterali. In associazione con i protocolli terapeutici comunemente usati ne potrebbe migliorare i risultati clinici e ridurre gli effetti collaterali. Inoltre, rappresenta una concreta alternativa terapeutica in quei pazienti che non possono essere sottoposti al trattamento farmacologico tradizionale.

In questa fase, proponiamo di arruolare 50/75 pazienti per disporre di una casistica molto indicativa con monitoraggio presso un centro neurologico ospedaliero/universitario disponibile.

La S.I.O.O.T.(Società Italiana di Ossigeno Ozonoterapia) organizza mensilmente a Bergamo corsi di sensibilizzazione all'uso dell'Ozonoterapia per medici, oltre a corsi di perfezionamento presso le Università di Pavia e Napoli.

Siamo disponibili:

Dott. Vincenzo Simonetti  
011/5805696

Prof. Marianno Franzini  
331/4415174

Prof. Samorindo Peci  
334/3194544

per ulteriori informazioni:  
info@ossigenoozono.it  
www.ossigenoozono.it

# BIBLIOGRAFIA

- 1) Amato G. Valutazione dell'efficacia dell'ozonoterapia nel trattamento delle flebopatie degli arti inferiori. Impiego Ospedaliero - sezione scientifica 1992
- 2) Amato G. Valutazione dell'efficacia dell'ozonoterapia nelle arteriopatie croniche ostruttive degli arti inferiori: confronto con la terapia con Pentossifillina. *Acta Toxic Ther*, 1996;17:2-3
- 3) Bocci V. Verso una razionalizzazione dell'ozonoterapia. *Acta Toxic Ther*, 1996;17:2-3
- 4) Iliakis E. Utilizzo dell'ossigeno-ozonoterapia nella pratica ortopedica. *Acta Toxic Ther*, 1996;17:2-3
- 5) Lettieri B. Efficacia dell'ozonoterapia nella prevenzione della recidiva dell'infarto miocardico. *Acta Toxic Ther* 1996; 17:2-3
- 6) Sammartino A, Portolano. Biochimica e fisiologia dell'ozono. *Acta Toxic Ther* 1996;17:2-3
- 7) Raso A. Manuale di medicina e chirurgia vascolare. *Ed Minerva Medica* 1990
- 8) Riva Sanseverino E. Effects of oxygen-ozonotherapy on age-related degenerative retinal maculopathy. *Panminerva Medica* 1990; 32:77-84
- 9) Rokitsansky O. Ossigeno-ozonoterapia nelle arteriopatie. Atti II congresso nazionale di ossigeno-ozonoterapia - Bergamo 19/10/'85
- 10) Sammartino A, Luongo C. Monitoraggio dei parametri bioumorali negli epatopatici cronici trattati con ozonoterapia. *Acta Toxic Ther* 1996; 17:2-3
- 11) Valdenassi, Richelmi, Franzini M. L'ossigeno-ozonoterapia nell'insufficienza venosa cronica: studio clinico di efficacia e tollerabilità. *Flebologia* 1995
- 12) Kesslerling J. Multiple Sclerosis. *Cambridge University Press* 1997
- 13) Simonetti V, Liboni W, Biancotti P, Grillo A. La malattia ischemica periferica. *Manusia F Tip Aurelia* 2001
- 14) Marx J. Antibodies kill by producing Ozone. *Science*, 2002; 298:1319
- 15) Ajamieh HH, Menéndez S, Martínez-Sánchez G, Candelario-Jalil E, Re L, Giuliani A, Fernández OS. Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia-reperfusion. *Liver Int* 2004; 24(1):55-62.
- 16) Barber E, Menendez S, Leon OS, Barber MO, Merino N, Calunga JL, et al. Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischemia. *Mediators Inflamm* 1999; 8:37-41
- 17) Bassi P, Strascini S. Ozone in the treatment of Herpes zoster. *Riv Neurobiol* 1982; 28(3-4): 328-333
- 18) Bezrukova IV, Petrukhina NB, Voinov PA. Experience in medical ozone use for root canal treatment. *Stomatologiia (Mosk)* 2005;84(6):20-2
- 19) Bocci V, Brito GS. Ozone therapy in critical patients. Rational of the therapy and proposed guidelines. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozono terapia* 2006; 5:7-11
- 20) Bocci V, Di Paolo N, Cappelletti F, Petrini G, Gaggiotti E. Necrotizing fasciitis successfully treated with extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO). *Int J Artif Organs* 2002; 25(12):1194-8.
- 21) Bocci V, Di Paolo N, Salvo DP, Palasciano G, Biagioli M, Meini S, Galli F, Ciari I, Maccari F, Cappelletti F, Di Paolo M, Gaggiotti E. Extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO): a controlled trial in patients with peripheral artery disease. *Int J Artif Organs* 2005; 28(10):1039-50.
- 22) Bocci V, Larini A. Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells. *Toxicol In Vitro* 2005;19(1):55-61.
- 23) Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F, Paulesu L, Di Stefano A. Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993;12:121-6
- 24) Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica* 1990; 75:510-5
- 25) Bocci V, Travagli V, Zanardi I. A realistic evaluation of the action of ozone on whole human blood. *Int J Biol Macromol*. 2006; 39(4-5):317-20

- 26) Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Aldinucci C, Silvestri S, Paccagnini E, et al. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone. *J Biol Regul Homeost Agents* 1998; 12:67-75
- 27) Bocci V. Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Implications for therapy of human immunodeficiency virus infection and several other diseases. *Med Hypotheses* 1996;46:150-154
- 28) Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma. *Toxicol Appl Pharmacol* 2006; 216(3):493-504
- 29) Bocci V. Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. *J Biol Regul Homeost Agents* 1996; 10(2-3):31-53
- 30) Bocci V. Ozone as Janus: this controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators of Inflammation* 2004; 13(1):3-11
- 31) Bocci V. Ozonotherapy as a possible biological response modifier in cancer. *Forsch Komplementarmed (Research in Complementary Medicine)* 1998; 5:54-60
- 32) Bonetti M, Fontana A, Coticelli B, et al. Intraforaminal O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub> versus periradicular steroidal infiltrations in lower back pain: randomized controlled study. *Am J Neuroradiol* 2005; 26:996-1000
- 33) Chang JD, Lu HS, Chang YF, Wang D. Ameliorative effect of ozone on cytokine production in mice injected with human rheumatoid arthritis synovial fibroblast cells. *Rheumatol Int.* 2005; 26(2):142-51
- 34) Christian DL, Chen LL, Scannell CH, Ferrando RE, Welch BS, Balmes JR. Ozone-induced inflammation is attenuated with multiday exposure. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:532-537
- 35) Chuprunova IN. Osteoplasty and ozone therapy in the treatment of a severe degree of generalized periodontitis. *Stomatologiia (Mosk)* 1996; Spec No:90-1
- 36) Clavo B, Gutiérrez D, Martín D, Suárez G, Hernández MA, Robaina F. Intravesical ozone therapy for progressive radiation-induced hematuria. *J Altern Complement Med* 2005; 11(3):539-41
- 37) Clavo B, Perez JL, Lopez L et al. Ozone therapy for tumor oxygenation: a pilot study. *eCAM* 2004; 1(1):93-98
- 38) Clavo B, Perez JL, Lopez L, Suarez G, Lloret M, Rodriguez V, et al. Effect of ozone therapy on muscle oxygenation. *J Altern Complement Med* 2003;9:251-6
- 39) Coppola L, Giunta R, Verrazzo G, Luongo C, Sammartino A, Vicario C, Giugliano D. Influence of ozone on haemoglobin oxygen affinity in type-2 diabetic patients with peripheral vascular disease: in vitro studies. *Diabete Metab* 1995; 21(4):252-5
- 40) Daulbaeva AA, Baizakova GT. Effect of ozone on antibiotic sensitivity of microorganisms. *Stomatologiia (Mosk)* 2003; 82(2):36-8
- 41) Dobkin VG, Sadovnikova SS et al. Local ozone therapy in the complex surgical treatment of pulmonary and peural tuberculosis patients. *Probl Tuberk* 2001; (7): 18-20
- 42) Fedorov AA, Gromov AS, Sapronenok SV, Kurochkin Vlu, Zhernakova ZM. Ozone therapy in gastroduodenal pathology associated with Helicobacter pylori. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 2006; 6:34-7
- 43) Giunta R, Coppola A, Luongo C, Sammartino A, Guastafierro S, Grassia A, et al. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Ann Hematol* 2001; 80:745-8
- 44) Hernandez F, Menendez S, Wong R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic Biol Med* 1995;19:115-9
- 45) Jacobson JS, Grann VR, Gnat MA, Hibshoosh H, Austin JH, Millar WS, Neugut AI. Cancer

- outcomes at the Hufeland (complementary/alternative medicine) klinik: a best-case series review. *Integr Cancer Ther* 2005; 4(2):156-67
- 46) Kelleher DK, Hummel M, Vaupel P. Lack of tumor oxygenation improvement upon ozone therapy in experimental tumors. *Strahlenther Onkol* 2000; 176:115
- 47) Kiniapina ID, Durnovo EA. The efficacy of using ozone in the combined treatment of disseminated odontogenic phlegmons of the maxillofacial area. *Stomatologiya (Mosk)*. 1996;Spec No:60-1
- 48) Kiriakov VA, Saarkoppel' LM, Zheglova AV. Pathogenetic basis for ozone therapy as a modality to treat vibration disease (literature review). *Med Tr Prom Ekol* 2006;(5):12-6
- 49) Kudriavtsev EP, Miroshin SI, Semenov SV, Snigorenko AS, Sidorovich IA. Ozone therapy of diffuse peritonitis in the early postoperative period. *Khirurgiya (Mosk)* 1997; (3):36-41
- 50) Kulikov AG, Turova EA, Shcherbina TM, Kisileva OM. Efficacy of different methods of ozone therapy in vascular complications of diabetes mellitus. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*. 2002; 5:17-20.
- 51) Lapina IM, Sinel'shchikova IV. Ozone therapy in ophthalmology. *Vestn Oftalmol*. 1998; 114(6):51-4
- 52) Leon OS, Menendez S, Merino N, Castillo R, Sam S, Perez L, et al. Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals. *Mediators Inflamm* 1998; 7:289-94.
- 53) Madej P, Plewka A, Janusz A. Ozone Therapy in Induced Endotoxemic Shock. II. The Effect of Ozone Therapy Upon Selected Histochemical Reactions in Organs of Rats in Endotoxemic Shock. *Inflammation*, 2007
- 54) Mustafaev EM, Martov AG, Naumov AG, Siniukhin VN, Shakir F, Merinov DS, Amelin AV, Al'bitskaia AIu. The role of ozone therapy in prevention of pyoinflammatory complications after transurethral resection of prostatic adenoma. *Urologiya*. 2007; 1:18-23, 27.
- 55) Nedogoda VV, Razvaliaeva OV, Kulikov AG. Effect of ozonotherapy on lipid peroxidation in patients with chronic diffuse liver diseases. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* 2001; 4:19-21
- 56) Neroev VV, Zueva MV, Tsapenko IV. Effects of ozone therapy on the functional activity of the retina in patients with involutional central chorioretinal dystrophy. *Vestn Oftalmol* 2003;119(6):18-21
- 57) Ohtsuka H, Ogata A, Terasaki N, Koiwa M, Kawamura S. Changes in leukocyte population after ozonated autohemoadministration in cows with inflammatory diseases. *J Vet Med Sci* 2006; 68(2):175-8
- 58) Pawlak O, Kaźmierczak H, Kaźmierczak W, Szpoper M. Ozone therapy and pressure-pulse therapy in Ménière's disease. *Int Tinnitus J* 2004; 10(1):54-7
- 59) Peralta C, Leon OS, Xaus C, Prats N, Jalil EC, Planell ES, et al. Protective effect of ozone treatment on the injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: antioxidant-prooxidant balance. *Free Radic Res* 1999; 31:191-6
- 60) Plopper CG, Duan X, Buckpitt AR, Pinkerton KE. Dose-dependent tolerance to ozone. IV. Site-specific elevation in antioxidant enzymes in the lungs of rats exposed for 90 days or 20 months. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;127(1):124-31.
- 61) Romero A, Menendez S, Gomes M, Ley J. La ozonoterapia en los estadios avanzados de la aterosclerosis obliterante. *Angiologia* 1993;45:146-8
- 62) Rovira G, Ralindo N. La ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras crónicas de las extremidades inferiores. *Angiologia* 1991;2:47-50
- 63) Sroczyński J, Antoszewski Z, Matyszczyk B, Krupa G, Rudzki H, Zbrońska H, Skowron J. Clinical assessment of treatment results for atherosclerotic ischemia of the lower extremities with intraarterial ozone injections. *Pol Tyg Lek* 1992 ;47(42-43):964-6.
- 64) Sroczyński J, Antoszewski Z, Rudzki

- H, Matyszczyk B, Kuźniewicz R. Various parameters of lipid metabolism after intra-arterial injections of ozone in patients with ischemia of the lower extremities and diabetes mellitus. *Pol Tyg Lek* 1990; 45(47-48):953-5.
- 65) [Subbotin VM](#), [Zitta DV](#), [Terekhina NA](#). Prophylaxis of acute postoperative gastroduodenal ulcers at the patients with colorectal cancer. *Khirurgiia (Mosk)*. 2007;3:4-6.
- 66) Sunnen GV. Hepatitis C and Ozone therapy. *Ozone in Medicine*, 2001
- 67) Sunnen GV. Possible mechanism of viral inactivation by ozone. *Ozone in Medicine*, 1994
- 68) Terekhina NA, Zitta DV, Subbotin VM. The activity of adenosinetriphosphatase of erythrocytes in peripheral blood of patients with colorectal cancer. *Klin Lab Diagn* 2005;5:20-2.
- 69) Turczyński B, Sroczyński J, Antoszewski Z, Matyszczyk B, Krupa G, Młynarski J, Strugała M. Ozone therapy and viscosity of blood and plasma, distance of intermittent claudication and certain biochemical components in patients with diabetes type II and ischemia of the lower extremities. *Pol Tyg Lek* 1991; 46(37-39):708-10.
- 70) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Lizakowski S, Skibońska A, Niewęglowski T, Chamienia A, Debska-Slizien A, Rutkowski B. Blood coagulation unaffected by ozonated autohemotherapy in patients on maintenance hemodialysis. *Arch Med Res* 2006; 37(8):1034-7.
- 71) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Niewęglowski T, Burakowski S, Rutkowski B. Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patients with intermittent claudication: an oxygen-controlled study. *Int J Artif Organs* 2004; 27(1):29-34
- 72) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Niewęglowski T, Chamienia A, et al. Ozonated autohemotherapy in patients on maintenance hemodialysis: influence on lipid profile and endothelium. *Artif Organs* 2004; 28(2):234-7
- 73) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Niewęglowski T, Grabowska M, Chamienia A, Slizien AD, Rutkowski B. Fistula function and dialysis adequacy during ozonotherapy in chronically hemodialyzed patients. *Artif Organs* 2004; 28(5):513-7
- 74) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Rachon D, et al. No effects of ozonated autohemotherapy on inflammation response in hemodialyzed patients. *Mediators of Inflammation*, 2004; 13(5/6):377-380
- 75) Tylicki L, Biedunkiewicz B, Rachon D, Hak L, et al. Natural killer cell activity unaffected by ozonated autohemotherapy in patients with end-stage renal disease on maintenance renal replacement therapy. *Int J Artif Organs* 2004; 27(9):766-71
- 76) Tylicki L, Niewęglowski T, Biedunkiewicz B, Burakowski S, Rutkowski B. Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialyzed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs--pilot study. *Int J Artif Organs* 2001; 24(2):79-82.
- 77) Valacchi G, Bocchi V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators Inflamm* 2000; 9:271-6
- 78) Vasil'ev IT, Markov IN, Mumladze RB, Belopol'skiĭ AA, Vasina TA. The antibacterial and immunocorrective action of ozone therapy in peritonitis. *Vestn Khir Im I I Grek* 1995; 154(3):56-60
- 79) Verazzo G, Coppola L, Luongo C, Sammartino A, Giunta R, Grassia A, Ragone R, Tirelli A. Hyperbaric oxygen, oxygen-ozone therapy, and rheologic parameters of blood in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Undersea Hyperb Med* 1995; 22(1):17-22.
- 80) Wentworth P Jr, McDunn JE, et al. Evidence for antibody-catalysed ozone formation in bacterial killing and inflammation. *Science* 2002; 298: 2195-2199
- 81) Vaziri ND, Dicus M et al. *Kidney Int*. 2003;63(1):179-85



- 82) Payr E. Uber Ozonbehandlung in der chirurgie. *Munch. Med. Wochenschr* 1935;82:220-291
- 83) *Bollettino d'informazione sui farmaci*, n. 2, 2007
- 84) [www.farmaciaonline.it](http://www.farmaciaonline.it)
- 85) European Medicines Agency (EMA), 5-2006
- 86) Ozone: a new medical drug. *Springer* 2005;147-148
- 87) [Mezey E](#), [Key S](#), [Vogelsang G](#), [Szalayova I](#), [Lange GD](#), [Crain B](#). Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(3):1364-9
- 88) Hafler DA, Compston A, Sawcer S et al. Risk alleles for multiple sclerosis genetics consortium. *N Engl J Med* 2007; 357
- 89) Frisullo G et al. Glucocorticoid treatment reduces T-bet and pSTAT1 expression in mononuclear cells from relapsing remitting multiple sclerosis patients. *Clinical immunology on line* 2007
- 90) Rogoff K. *Il Sole 24 ore* 19/08/2007
- 91) Khan OA, Tselis AC, Kamholz JA, Garbern JY, Lewis RA, Lisak RP. A prospective, open-label treatment trial to compare the effect of IFN beta-1a (Avonex), IFNbeta-1b (Betaseron), and glatiramer acetate (Copaxone) on the relapse rate in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Eur J Neurol* 2001;8(2):141-148
- 92) [Limmroth V](#), [Malessa R](#), [Zettl UK](#) et al. Quality Assessment in Multiple Sclerosis Therapy (QUASIMS): a comparison of interferon beta therapies for relapsing-remitting multiple sclerosis. *J Neurol* 2007;254(1):67-77
- 93) Polman CH et al. A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Natalizumab for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2006; 354:899-910
- 94) Rudick RA et al. Natalizumab plus Interferon Beta-1a for Relapsing Multiple Sclerosis. *N Engl J Med* 2006;354:911-923
- 95) [Lugaresi A](#), [Caporale C](#), [Farina D](#), [Marzoli F](#), [Bonanni L](#), [Muraro PA](#), [De Luca G](#), [Iarlori C](#), [Gambi D](#). Low-dose oral methotrexate treatment in chronic progressive multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2001;22(2):209-10
- 96) Gladstone DE, Zamkoff KW, Krupp L et al. High-dose cyclophosphamide for moderate to severe refractory multiple sclerosis. *Arch Neurol* 2006; 63: 1388-1393