

# **Federação Mundial de Ozonioterapia (WFOT)**

## **Ozonioterapia**

### **Revisão Baseada em Evidências**

**WFOT - Comitê Consultivo Científico – 2015**

**Versão em português autorizada pela WFOT**

**Associação Brasileira de Ozonioterapia**

**Agosto de 2016**

© World Federation of Ozone Therapy - WFOT, 2015

Nenhuma parte deste trabalho pode ser reproduzida, gravada ou transmitida por qualquer outra forma ou via, eletrônica, mecânica, por fotocópia, microfilmagem, ou outra, sem a permissão escrita da WFOT.

## Sumário

Prefácio.....	3
<b>Autores e reconhecimentos</b> .....	4
<b>Introdução</b> .....	6
Capítulo 1 .....	8
<b>Propriedades físico-químicas do Ozônio. Produção natural do Ozônio e sua toxicidade.</b> ....	8
Conclusões.....	10
Capítulo 2 .....	10
<b>Geração de ozônio medicinal</b> .....	10
Capítulo 3 .....	11
<b>Preparação da água e azeite ozonizados</b> .....	11
Capítulo 4 .....	12
<b>Farmacologia e toxicidade do ozônio</b> .....	12
4.1 Peróxido de hidrogênio e Produtos de Oxidação Lipídica (LOPs) como mensageiros biológicos do ozônio.....	17
4.2 Algumas considerações acerca do estresse oxidativo natural e induzido por terapias oxidantes. Base racional para uma dosagem eficaz de Ozonioterapia.....	23
4.3 Conclusões. ....	29
Capítulo 5 .....	31
<b>Vias de administração de Ozônio</b> .....	31
5.1 Conclusões.....	35
Capítulo 6 .....	35
<b>As três modalidades terapêuticas sistêmicas</b> .....	35
6.1 Auto-hemoterapia maior ozonizada (AHT MAIOR). ....	36
6.2 Auto-hemoterapia ozonizada menor.....	38
6.3 Insuflação retal com oxigênio-ozônio (IR). ....	39
Capítulo 7 .....	44
<b>Potenciais efeitos adversos e contraindicações da Ozonioterapia</b> .....	44
7.1 Ozonioterapia e tratamentos convencionais.....	49
7.2 Contraindicações da Ozonioterapia.....	49
Capítulo 8 .....	51
<b>O Ozônio é realmente uma “Droga Milagrosa”?</b> .....	51
Capítulo 9 .....	61
As aplicações clínicas da Ozonioterapia.....	61
Referências .....	64

## **Prefácio**

Depois de ter sido eleito presidente do Comitê Consultivo Científico - WFOT em outubro de 2014, uma das minhas maiores preocupações era escrever um documento público sobre Ozonioterapia com base em evidências, para escolher e organizar toda a informação científica sobre esta terapia.

Vários livros do Professor Velio Bocci, da Dra. Silvia Menendez e Dra. Renate Viebhan estabeleceram as bases científicas. Um livro recente da Dra. Emma Borrelli chegou em minhas mãos há uns meses, com foco na auto-hemoterapia ozonizada.

Como presidente da Sociedade Espanhola de Ozonioterapia – SEOT preparei, nos últimos três anos, um documento abrangente que foi enviado à Agência Espanhola de Medicamentos e Produtos de Saúde – AEMPS, a fim de iniciar um processo de regulamentação da Ozonioterapia na Espanha e na União Europeia. Os autores deste texto são reconhecidos no início deste documento.

A primeira tarefa confiada ao Comitê Consultivo Científico da WFOT foi desenvolver um texto baseado em evidências sobre Ozonioterapia, utilizando o documento da SEOT como um ponto de partida. Foram realizadas modificações e melhorias neste documento, a fim de criar um texto de referência atualizado em todo o mundo. O Dr. Lamberto Re, Diretor do Comitê Científico, escreveu a introdução deste documento.

Espero que com isso tenhamos contribuído, ao menos em parte, para uma melhor compreensão desta terapia, para que nossos colegas possam empregá-la adequadamente, seguindo os conceitos mais corretos.

*Prof. José Baeza Noci, M.D., Ph.D.  
Presidente da WFOT*

A Ozonioterapia foi introduzida no Brasil em 1975 pelo médico alemão radicado em nosso país, Dr. Heinz Konrad, hoje membro honorário da Associação Brasileira de Ozonioterapia (ABOZ).

Desde a sua fundação em 2006, a ABOZ vem lutando pela regulamentação da técnica pelos devidos órgãos competentes, logrando até o momento resultado positivo junto ao Conselho Federal de Odontologia (2015).

Dando continuidade às ações estratégicas para o pleno reconhecimento da Ozonioterapia no Brasil, a versão brasileira da Revisão sobre Ozonioterapia Baseada em Evidências Científicas, elaborada pela WFOT, foi realizada com o objetivo de ampliar a divulgação da técnica em seu uso relevante e seguro na área da saúde.

Esta é uma das contribuições que a Ozonioterapia brasileira oferece aos nossos colegas profissionais de Saúde de origen portuguesa. Esperamos que esteja a contento.

*Dra. Maria Emilia Gadelha Serra, M.D., MsC.  
Presidente da ABOZ*

## **Autores e reconhecimentos**

A partir de uma base sólida, temos usado o texto enviado à AEMPS (Agência Espanhola de Medicamento e Produto Sanitário) pela SEOT (Sociedade Espanhola de Ozonioterapia) para regular o uso do ozônio na Espanha. Este documento foi elaborado com base no livro do Professor Velio Bocci, da Universidade de Siena (Itália), com sua permissão expressa, titulado "Ozônio, um novo medicamento" - Editora Springer - New York, de 2011. Houve um acordo com este autor sobre os capítulos fundamentais para uma abordagem completa e científica no uso médico do ozônio.

O conteúdo destes capítulos foi revisado, modificado e ampliado por:

- Dr. José Baeza Noci - Cirurgia Ortopédica e Traumatologia. Professor Associado de Anatomia Humana da Universidade de Valência. Presidente da Sociedade Espanhola de Ozonioterapia;

- Dr. José Ricardo Cabo Soler - Endocrinologia e Nutrição. Catedrático Emérito de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade de Valência. Secretário da Sociedade Espanhola de Ozonioterapia;

- Dr. Manuel Gómez Moraleda - Doutor em Química e Pesquisador Titular. Ex-diretor do Centro de Investigações do Ozônio (pertencente ao CNIC), Havana, Cuba. Membro do Comitê Científico Consultivo da WFOT;

- Dra. Silvia Menéndez Cepero - Doutora em Química, Pesquisadora Titular e Biotecnóloga de Primeiro Nível. Ex-diretora da Clínica Internacional do Centro de Investigações do Ozônio (pertencente ao CNIC), Havana, Cuba. Membro do Comitê Científico Consultivo da WFOT;

- Dr. Lamberto Re - Especialista em Farmacologia Clínica e Toxicologia. Professor - investigador da Faculdade de Medicina da Universidade de Ancona. Itália. Presidente da Federação Italiana de Ozonioterapia. Diretor do Comitê Científico Consultivo da WFOT.

A versão brasileira foi elaborada para ampliar a divulgação da Ozonioterapia de forma sistemática e embasada cientificamente, como uma ação estratégica em prol da profissionalização e do reconhecimento do tema no Brasil, pela Diretoria da *Associação Brasileira de Ozonioterapia* em sua Gestão 2014-2018, constituída pelos seguintes membros:

Diretores Executivos:

Maria Emilia Gadelha Serra  
Ana Cristina de Carvalho Barreira  
Carlos Goes Nogales  
Letícia Maria Borsarini Philippi Nürich  
Arnoldo de Souza

Conselheiros:

Alair Alfredo Berbert  
Adriano Luis Mendes Caquetti  
Francisco Ubiratan Ferreira de Campos  
Luiz Felipe Mendes Caquetti

Jorge Temer Merhi  
Marcos Masini  
Karla Salete Tratsk-Nitz  
André William Alonso

A tradução e revisão da versão brasileira tiveram a colaboração especial de:

Arnoldo de Souza  
Heinz Konrad  
Júnia Jorge Rjeille Cordeiro  
Odilia Brígido de Sousa

Jorge Temer Merhi  
Marcos Masini  
Karla Salete Tratsk-Nitz  
André William Alonso

A tradução e revisão da versão brasileira tiveram a colaboração especial de:

Arnoldo de Souza  
Heinz Konrad  
Júnia Jorge Rjeille Cordeiro  
Odilia Brígido de Sousa

## Introdução

À luz da crescente preocupação com a Ozonioterapia, pretendemos atualizar tanto do ponto de vista científico como clínico, suas aplicações no campo da medicina humana.

É nossa opinião de que é o momento para que a opinião pública e os profissionais de saúde ampliem seus horizontes com a Ozonioterapia e seu grande potencial., pelo menos como apoio complementar ou integrativo aos tratamentos convencionais.

De fato, a Ozonioterapia pode ser útil em numerosas condições patológicas e poderia ser um recurso terapêutico de grande alcance para prevenir os danos do envelhecimento e melhorar muitas funções no nosso corpo.

A nossa convicção científica é de que a molécula de ozônio, um oxidante forte, mas muito seletivo, poderia induzir benefícios em várias doenças, quando usada em doses adequadas se considerada uma teoria não convencional., Agora estamos muito satisfeitos ao observar como este conceito está, finalmente, ganhando uma importante credibilidade científica.

De qualquer forma, evitando salientar usos anedóticos e olhando para as amplas aplicações clínicas das últimas décadas, acreditamos que uma reavaliação crítica positiva da Ozonioterapia não pode ser adiada.

É também o momento de que o dogma da toxicidade do ozônio seja finalmente esclarecido, e reconhecidas suas aplicações seguras bem demonstradas.

Embora a Ozonioterapia não seja totalmente isenta de efeitos colaterais, efeitos esses em sua maior parte devidos à má prática, por má formação e / ou desconhecimento, dada a sua crescente difusão, estes efeitos são insignificantes em comparação com aqueles inerentes a muitas outras técnicas e medicamentos de aceitação universal.,

Reconhecemos que um ceticismo perturbador persiste entre muitas autoridades acadêmicas e governamentais, principalmente por causa do preconceito e da falta de estudos farmacológicos e clínicos mais controlados. Em nossa opinião, isto não justifica tão forte oposição à Ozonioterapia, mas, pelo contrário, deveria incentivá-los a ajudar na organização deste tipo de estudos, considerando-se que a Ozonioterapia não é apoiada pela indústria farmacêutica e que pode contribuir para melhorar a condição de saúde da população, a custos muito mais baixos que outras drogas.

É certo que, diferentemente de qualquer droga comercializada atuando com mecanismo preciso e estatisticamente definido, de acordo com a lei de ação de massas, o ozônio age como uma droga pró-ativadora em uma miríade de eventos celulares, muitos deles esclarecidos e atuais.

Essas ações não são facilmente relacionáveis com uma atividade clínica particular e, portanto, são difíceis de testar. Isto significa que, ainda, não temos uma abordagem metodológica boa que ajude o pesquisador na avaliação e padronização da eficácia clínica da Ozonioterapia.

No entanto, mais uma vez, estamos firmemente convencidos de que este fato por si só não representa uma razão válida para bloquear qualquer progresso, a fim de olhar um pouco além dos nossos conhecimentos atuais.

Podemos concordar em parte com as Autoridades de Saúde sobre a dificuldade em avaliar como cada profissional., utilizando a Ozonioterapia, poderia preparar e administrar a sua "droga" em razão da melhor prática clínica. Na verdade, devido à falta de regulamentos ou disposições da lei, a maioria dos terapeutas de ozônio são autorizados a trabalhar com muito pouco controle em sua formação nesta terapia.

Até agora, a maioria dos dados clínicos sobre o tratamento de ozônio foram claramente definidos a partir de um ponto de vista científico apenas no caso de dor e de hérnia de disco.

Apesar destas condições, os efeitos positivos induzidos por doses apropriadas de ozônio são frequentemente observados em pacientes que sofrem de doenças raras ou degenerativas. No entanto, pouco conhecimento de seu potencial terapêutico pela maioria dos médicos é difícil ou mesmo impossível para uma ampla cooperação entre diferentes especialidades, a fim de produzir evidência estatística da resposta clínica dada por esta terapia.

O ozônio, é igual a alguns outros agentes e a diferença dos medicamentos comuns que atuam sobre um receptor específico induz um pequeno estresse celular quando utilizado em doses adequadas. Este, por sua vez, desencadeia uma série de processos metabólicos intracelulares e promove uma miríade de atividades que estimulam diversos mecanismos celulares. Como resultado dessas reações, os mecanismos de defesa da célula são alertados, melhorando sua funcionalidade. Isso explica, em parte, as ações terapêuticas surpreendentes deste gás.

Como se pode ver, não é fácil de descrever completamente as amplas aplicações clínicas de um agente tão diferente dos medicamentos comuns.

Esta é a razão pela qual o WFOT decidiu propor um documento revisado sobre a literatura científica relacionada à Ozonioterapia.

Esperamos que este documento, que se destina principalmente aos profissionais de saúde que utilizam o ozônio e que queiram melhorar suas técnicas e aprender sobre as bases científicas que suportam a utilização clínica da Ozonioterapia, possa ser igualmente útil às autoridades de saúde como diretriz e um resumo das mais recentes pesquisas publicadas no mundo.

## Capítulo 1

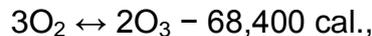
### Propriedades físico-químicas do Ozônio. Produção natural do Ozônio e sua toxicidade

Ozônio (em grego, significa um odor) é uma molécula natural e instável. O gás puro tem uma cor azul e um odor pungente. A molécula é constituída por três átomos de oxigênio ( $O_3$ ) e o peso molecular, em comparação com a molécula diatômica de oxigênio (32,00) é 48,00. O ozônio tem uma estrutura cíclica, com uma distância entre os átomos de oxigênio de 1,26 Å e existe em diversos estados mesoméricos em equilíbrio dinâmico. Para o médico é útil conhecer que a solubilidade (ml) em 100 ml de água (a 0°C) de ozônio e oxigênio é 49.0 e 4,89 ml (dez vezes inferior), respectivamente. Consequentemente, a elevada solubilidade do ozônio na água permite reação imediata com qualquer composto e biomolécula solúvel presente em fluidos biológicos. Qualquer traço de polímeros de oxigênio ( $O_4$ ), polímeros de ozônio ( $O_9$  e  $O_6$ ) podem ser criados, mas a idéia de que os polímeros / grupos podem ter um papel terapêutico é puramente especulativo (Cacace et al., 2001; Murai et al., 2003).

Acredita-se que durante a geração de ozônio, um traço de oxigênio singular ( $1O_2$ ) possa ser formado, porém com importância prática insignificante.

Entre os agentes oxidantes, o ozônio é o terceiro mais poderoso, depois de flúor e persulfato, um fato que explica a sua alta reatividade.

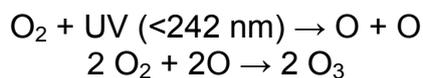
O ozônio é formado por oxigênio puro através de um processo endotérmico, que necessita de gradientes de alta voltagem entre os elétrodos do tubo Siemens:



A reação é reversível, de modo que o ozônio se decompõe espontaneamente e é por isso que não pode ser armazenado. Além disso, a vida média da molécula de ozônio depende da temperatura, de modo que a 20°C a concentração de ozônio é a metade em 40 min., a 30°C em 25 min., enquanto que a -50°C é a metade depois de três meses.

Na estratosfera, cerca de 22 km da superfície da terra, há uma camada de ozônio que pode atingir uma concentração máxima de 10 ppmv (partes por milhão em volume). A manutenção da camada de ozônio é muito importante, pois absorve a maior parte da radiação (<290 nm) de ultravioleta (UV) que é emitida pelo sol. Nos raios UV se incluem a banda A (316-400 nm) responsável pelo bronzeamento da pele e as bandas B e C (100 nm para 315) que são muito mais mutagênicas e responsáveis pela aceleração do envelhecimento da pele e carcinogênese, como foi recentemente demonstrado pelo aumento progressivo de carcinomas e melanomas.

A natureza foi avisada, por cianobactérias, tão logo a concentração de oxigênio começou a aumentar na atmosfera terrestre, há cerca de 2,3 bilhões de anos, a emissão solar UV catalisava a produção de ozônio (mecanismo de Chapman), que então, poderia controlar a radiação UV e proteger os sistemas biológicos da terra:



A camada protetora de ozônio na estratosfera é razoavelmente constante, como resultado de um equilíbrio dinâmico entre a reação formadora de ozônio e a dissociação natural de ozônio. Este equilíbrio foi subvertido durante o século passado devido a um aumento progressivo de poluentes, especialmente os óxidos nitrosos (NO<sub>x</sub>) e cloro derivado de clorofluorocarbonetos (CFC) utilizados em fluidos de refrigeração, imprudentemente dispersos no ambiente. Um único átomo de cloro, através de um mecanismo de reação catalítica descoberto por Molina e Rowland (1974), pode destruir muitas moléculas de ozônio, antes de voltar para a troposfera.

Mais uma vez, as atividades caóticas humanas (processos industriais, tráfego de veículos, etc.) levaram a danos ambientais pela poluição do ar presente na troposfera, estendendo-se 8-17 km da superfície da terra. As emissões antropogênicas exageradas de monóxido de nitrogênio (NO) e a variante dióxido (NO<sub>2</sub>), de monóxido de carbono (CO), de metano (CH<sub>4</sub>), ácido sulfúrico e outros compostos ácidos têm favorecido o aumento quase intolerável na concentração de ozônio até 0,3 mg/l ou mais. Nas grandes cidades, o ozônio, misturado com outras substâncias, compõe a poluição atmosférica fotoquímica: e tornou-se o principal elemento tóxico para os pulmões, olhos, nariz e, em menor grau, para a pele, sendo particularmente prejudicial para mucosa respiratória, por esta não conter suficientes substâncias neutralizantes das nocivas misturas de ácido. Certamente, os fluidos que revestem o trato respiratório (FRTRs), que no total podem ser de apenas 20 a 40 ml dispersos numa camada de película de óleo no espaço alveolar de aproximadamente 70 m<sup>2</sup> é facilmente anulado por esta mistura de agentes oxidantes fortes. Particularmente, crianças, pacientes asmáticos e outros pacientes broncopulmonares estão em risco e a "dependência" de ozônio por via aérea é bem justificado (Devlin et al., 1991; Aris et al., 1993; Broeckeaert et al., 1999; Jerrett et al., 2009). Certamente a toxicidade do ozônio ao nível da rua tem ajudado a suportar o dogma de que o ozônio é sempre tóxico e por isso pode-se perguntar por que o ozônio pode ser usado como agente terapêutico. Toxicologistas e Autoridades de Saúde estão cientes deste problema, que é claramente devido não somente ao ozônio e não deveria conduzir à idéia de que o ozônio é "sempre tóxico."

A molécula de ozônio é sintetizada também *in vivo* em algumas células do nosso organismo. Pesquisas sobre leucócitos humanos ativados que produzem ozônio sob determinadas circunstâncias (Babior et al., 2003; Wentworth e Nieva, 2004) podem ser importantes para compreender a sua utilidade em situações fisiológicas e patológicas.

Se conhecem outras três moléculas gasosas, principalmente CO, NO e H<sub>2</sub>S (Moncada, 1992; Verma et al., 1993; Pannen et al., 1998. Nakao et al., 2009a, b), que, como o ozônio, podem comportar-se surpreendentemente como doses fisiológicas com efeitos essenciais e tornar-se tóxico em altas concentrações. Em outras palavras, o conceito aplica-se a qualquer molécula em que a dose correta se diferencia entre o agente terapêutico e o tóxico.

Portanto, para a segurança dos pacientes e profissionais de saúde, deve haver um controle para que a concentração de ozônio no ambiente não exceda os limites estabelecidos. A Organização Mundial de Saúde (OMS) permite trabalhar durante 8 horas, quando a concentração de ozônio é de 0,06 ppm, que é, muito

antes, percebida como um forte cheiro de ozônio (ppm 0,01 ~ 0,000002 mg/ml). Esta é uma vantagem, porque nos adverte com antecedência sobre vazamentos, embora nos alerte que não devemos confiar apenas em nosso nariz, porque os receptores do olfato se tornam tolerantes e, em qualquer caso, o ar nas clínicas deve ser controlado quanto ao nível de ozônio.

Infelizmente, confunde o fato de que as concentrações de ozônio são relatadas tanto em ppmv como em mcg/ml nos EUA ou Europa, respectivamente. A conversão é como se segue:

$$\begin{aligned}467 \text{ ppm} &= 1.0 \text{ } \mu\text{g/ml ou } 1.0 \text{ mg/l ou } 1.0 \text{ g/m}^3 \\1000 \text{ ppmv} &= 2.1 \text{ } \mu\text{g/ml ou } 2.1 \text{ mg/l ou } 2.1 \text{ g/m}^3 \\1 \text{ ppmv} &= 0.0021 \text{ } \mu\text{g/ml ou } 0.0021 \text{ mg/l ou } 0.0021 \text{ g/m}^3\end{aligned}$$

## Conclusões

O ozônio é uma molécula de gás natural., altamente reativa e gasosa, produzida por um choque elétrico e/ou radiação UV, sozinho ou com NOx. É notável que, mesmo leucócitos ativos geram ozônio *in vivo*. Pode ser protetor ou nocivo, dependendo da concentração e localização. Hoje em dia, o uso do ozônio para aplicações industriais e de desinfecção da água tem recebido amplo consenso, enquanto seu uso medicinal continua a ser controverso, porque muitos cientistas médicos ainda são céticos e não estão interessados em aprender e compreender a utilidade do ozônio.

## Capítulo 2

### Geração de ozônio medicinal

O ozônio medicinal deve ser produzido usando oxigênio medicinal com um gerador não tóxico, na qual todos os materiais em contato com ozônio são resistentes ao mesmo, e que permita medições precisas e reprodutíveis de concentrações de ozônio (1-80 mg/ml), através de um dispositivo adequado. O ozônio medicinal é uma mistura de ozônio em oxigênio, no intervalo de concentrações de cerca de 0,5 a 5% de ozônio. A dose total de ozônio é equivalente ao volume de gás de ozônio (ml) multiplicada pela concentração de ozônio ( $\mu\text{g/ml}$ ). Na União Europeia, geradores de ozônio são considerados produtos para saúde com classificação IIb e devem ser registrados no organismo notificado de referência para o fabricante. Para diferentes aplicações médicas, o médico deve conhecer as doses ideais de ozônio, que serão discutidas no Capítulo 9.

## Capítulo 3

### Preparação da água e azeite ozonizados

A ozonização da água bidestilada e de óleos vegetais se realiza borbulhando neles a mistura de gases ( $O_2-O_3$ ). No caso da água, 5 minutos é o suficiente para 2 ou 3 litros, enquanto que para 100 gramas de óleo vegetal são necessárias várias horas, se um dispositivo médico de ozônio for utilizado. Deve-se notar que muitos dos ozonídeos formados em óleos vegetais têm uma natureza explosiva e, portanto, envolve um perigo potencial; portanto, não é aconselhável que pessoas inexperientes realizem este procedimento. É por isso que o óleo ozonizado é produzido principalmente em laboratórios semi-industriais com medidas de segurança e pessoal adequados.

O ar não deve ser utilizado para gerar ozônio médico, por que pode causar a geração de compostos tóxicos de nitrogênio. A concentração de ozônio em água pura corresponde a cerca de 25% da concentração do ozônio no gás utilizado à temperatura ambiente, o que é suficiente para uma ótima desinfecção. Um grama do óleo pode absorver mais de 160 mg de ozônio. Enquanto a água ozonizada é eficiente por um dia, conservada fria, o óleo é estável por dois anos, se conservado frio. Ambos agem como desinfetantes poderosos e aceleram a cicatrização, mediante a estimulação da proliferação celular. Quando a comunidade médica apreciar a sua eficácia, tanto a água como o óleo ozonizado poderão ser ferramentas indispensáveis em unidades de cuidados para feridas crônicas. Atualmente existem nas farmácias europeias produtos como Azexin - óleo de girassol ozonizado - registrados na *European Medicines Agency* (EMA) como um produto de saúde com a indicação do tratamento de úlceras cutâneas.

Os problemas de desinfecção de água potável e a prevenção de infecções hospitalares adquiriram primordial importância, pois sua resolução determina a vida ou a morte de muitas pessoas. Em comparação com cloro, a versatilidade e efetividade do ozônio ainda é desconhecida. Como o cloro tem propriedades organolépticas insatisfatórias, está sendo progressivamente substituído pelo ozônio, graças em parte às recomendações da OMS a este respeito. O ozônio é um poderoso desinfetante de água mais potente do que o cloro, e pode inativar vários patógenos humanos, por exemplo, 63 bactérias diferentes (*Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Legionella*, etc.), várias cepas de leveduras e 13 fungos patogênicos (*Alternaria*, *Monilia*, *Rhizopus*, etc.). Mais recentemente, devido a contaminação de águas subterrâneas por material fecal., o problema de desinfecção tornou-se mais complexo, pois protozoários encistados tais como *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* ou ovos de helmintos (*Ascaris suum* e *Ascaris lumbricoides*), requerem mais contato com o ozônio que as bactérias e os vírus. A cada ano, o *Cryptosporidium* causa surtos de doenças que podem ser fatais para pacientes idosos ou muito doentes da Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (SIDA).

Outro aspecto na prevenção de surtos de infecções intestinais é a possibilidade de utilização de ozônio como agente antimicrobiano em contato direto com alimentos e frutas. Em 26 de junho de 2001, a *Food and Drug Administration* (FDA) aprovou formalmente o uso de ozônio, em fases gasosas e aquosas, como

um agente antimicrobiano para o tratamento, armazenamento e processamento de alimentos (Rice, 2001). Deve-se notar que, além da desinfecção da água potável, o uso de ozônio pode melhorar as características organolépticas. De fato, a melhora da coagulação e da floculação, componentes oxidados com mau gosto e odor (bem como ferro e manganês), melhora a remoção de partículas em filtros através de carvão granulado bioativado. A eficácia do ozônio foi validada por mais de 3.000 estações de tratamento de água municipal em todo o mundo (incluindo Espanha).

## Capítulo 4

### Farmacologia e toxicidade do ozônio

Este é um dos capítulos mais importantes, porque acreditamos que se o médico sabe como o ozônio funciona com os fluidos e células corporais pode alcançar resultados terapêuticos úteis. A administração de ozônio faz com que determinadas reações bioquímicas ocorram no paciente, e esta é parte essencial do processo.

O ozônio, o oxigênio triatômico, sintetizado na estratosfera nos protege da excessiva radiação UV, e pode ser produzido com precisão por um gerador medicinal., mas depende de nós usá-lo como uma droga ou não. O ozônio é um dos oxidantes mais potentes; o terceiro na escala química, e temos que aprender a usá-lo. O objetivo deste capítulo é definir a relação terapêutica, em palavras mais simples, distinguir a dose terapêutica da tóxica.

Embora o oxigênio represente a maioria (95-99%) da mistura com ozônio médico, tem um papel insignificante sobre os parâmetros do sangue ozonizado em que as condições *in vitro* no processo de permuta de oxigênio com a hemoglobina é muito lenta e o plasma é transportado apenas no conteúdo de oxigênio inferior a 1% no sangue.

Embora, somente sobrevivamos devido ao oxigênio, este gás tem um efeito negativo a longo prazo porque a respiração celular cria espécies reativas de oxigênio (ERO), entre outros, o radical hidroxilo (OH•), que é um dos radicais compostos mais destrutivos para a enzimas e DNA. Halliwell (1994) estimou que, mesmo em repouso, o ser humano produz cerca de 5 g de ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) que é o pai de várias moléculas envolvendo radicais. O ânion superóxido é produzido fisiologicamente pelas mitocôndrias, desde o Complexo I e II (Kowaltowski et al., 2009), mas outra ERO, tal como peróxido de hidrogênio, ácido hipocloroso e o óxido nítrico são continuamente gerados por várias oxidases e mieloperoxidases, que então têm um papel defensivo crucial frente a agentes patogênicos. Por outro lado, a maioria das pessoas sabe que o envelhecimento e as doenças metabólicas (aterosclerose, diabetes, degeneração celular) podem ser agravados pela produção excessiva de ERO e, apenas parcialmente, podemos prevenir seus efeitos nocivos. Ironicamente, até mesmo ausência parcial de oxigênio (hipóxia), observada em doenças vasculares isquêmicas, é uma causa de morte por isquemia de extremidades, infarto cardíaco e cerebral., Além disso, a hipóxia promove metástases neoplásicas e ainda resulta em morte.

Em comparação com outras terapias baseadas em aplicações filosóficas ou hipóteses não verificáveis, o aspecto positivo da Ozonioterapia é que ela pode ser determinada pelas investigações científicas objetivas com métodos padronizados bioquímicos, farmacológicos e clínicos. Infelizmente por várias décadas, o empirismo e a falta de estudos básicos atrasaram a compreensão dos mecanismos de ação. Uma boa dose de preconceito e dogmas inconsistentes de que o "ozônio é sempre tóxico" são responsáveis pela forte oposição da medicina convencional ao uso da Ozonioterapia, que fazia parte do arsenal terapêutico desde os anos 40.

Atualmente, nosso dever é tentar mostrar esquematicamente que o ozônio obedece perfeitamente às noções físicas, químicas, fisiológicas e farmacológicas, além das atividades que modulam funções celulares já conhecidas.

Em primeiro lugar, o ozônio, como qualquer outro gás, se dissolve imediatamente na água como no plasma (a parte líquida do sangue), em fluidos extracelulares assim como na fina camada de água que cobre a pele, e em particular nas mucosas do trato respiratório, garganta, vagina, etc. À temperatura ambiente e à pressão atmosférica, devido à elevada solubilidade e, dependendo da pressão relativa, o ozônio se dissolve na água do corpo, mas, ao contrário do oxigênio, não se equilibra com o ozônio restante em fase gasosa. Isto ocorre porque o ozônio, com a sua elevada afinidade para ligações duplas carbono-carbono e sendo um poderoso oxidante reage imediatamente com determinadas biomoléculas presentes nos fluidos biológicos, preferencialmente ácidos graxos poli-insaturados (*PUFA* em inglês) ligados a albumina e presentes na imensa maioria de lípidos e fosfolípidios, assim como antioxidantes (Tabela 4.2), proteínas, carboidratos, etc. Na verdade, os fosfolípidios e colesterol presentes em membranas celulares e/ou lipoproteínas são protegidos por antioxidantes e moléculas de albumina ricas em *PUFA* (Bocci e Di Paolo, 2009, Travagli et al., 2010b).

A reação do ozônio com muitas moléculas envolve vários processos fundamentais que ocorrem ao mesmo tempo. Mais consumida numa reação de "adição das ligações duplas carbono-carbono de ácidos graxos insaturados", conhecida como "reação Criegee" que é uma das reações químicas moleculares mais rápidas da natureza (velocidades de milhões de moles/l por segundo), que está bem descrita. Esta reação, cujo primeiro produto é chamado "ozonide primário" em condições fisiológicas hidrofílicas, com presença de água abundante, produz ruptura e imediato rearranjo de seus fragmentos, resultando finalmente na presença abundante de água (tal como o ambiente fisiológico), basicamente aldeídos e um tipo particular de  $\alpha$ -hidroxi-hidroperóxido de diferentes estruturas, dependendo dos ácidos graxos de partida (Figura 4.1).

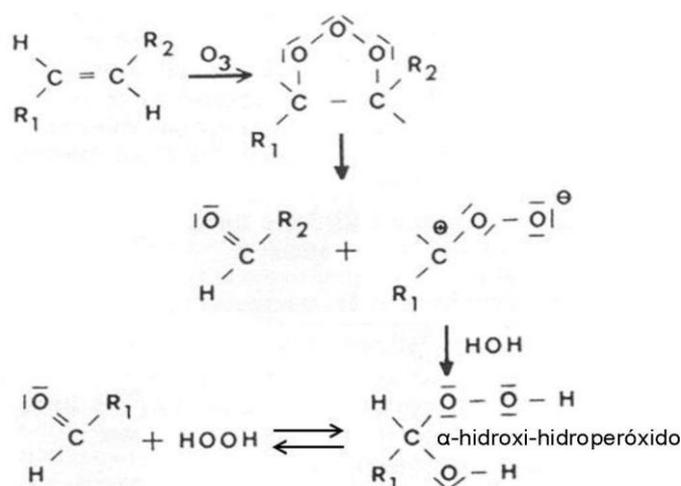


Fig. 4.1

É importante destacar que este tipo particular de hidroxí- $\alpha$ -hidroperóxido, localizado no carbono terminal da cadeia de lípidos, e com um grupo OH nela, possui um caráter oxidante muito menor que os peróxidos clássicos, e a diferença para com estes últimos, é que não gera radicais livres. Pode decompor-se em pequena proporção em peróxido de hidrogênio e em aldeído correspondente, com os quais estabelecem um equilíbrio.

Parte dos ozonides primários podem dar lugar também, em menor grau, a uma reação paralela, com a formação direta de aldeídos e de peróxido de hidrogênio. Isto depende da quantidade de água presente; a uma maior presença de água, mais ozônio reage por esta via (Figura 4.2).



Fig. 4.2

Estas reações, por serem molécula a molécula, terminam rapidamente com o esgotamento do ozônio fornecido e, por conseguinte, o estresse oxidativo produzido é bem controlável. Esta é uma diferença fundamental com a reação comumente conhecida em bioquímica como "PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA", que é uma reação de preferência por via radical (mas rápida ainda), e uma vez iniciada, pode propagar-se muito rapidamente, extensivamente, e oxidar um grande número de moléculas lipídicas e muitos outros tipos descontroladamente.

Estas reações de ozônio, completadas em segundos, utilizando uma "determinada" dose de ozônio geram somente uma "determinada" dose de hidroxí- $\alpha$ -hidroperóxidos, aldeídos e peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), semelhantes aos conhecidos como PRODUTOS DE OXIDAÇÃO LIPÍDICA (LOPs, em inglês).

Bocci (2002) mediu a produção de ambas substâncias no plasma, LOPs e

$H_2O_2$ , após a administração de ozônio (Figura 4.3). No entanto, medir a produção de  $H_2O_2$  em sangue total depois da administração de ozônio é muito complicado, uma vez que  $H_2O_2$  é rapidamente capturado pelos eritrócitos e 1 minuto após a mistura de ozônio e sangue, nenhum traço de  $H_2O_2$  pode ser detectado. Felizmente, alguns estudos (Bocci et al., 1993b; Shiriki et al., 1998) confirmaram uma diminuição de glutathiona GSH intraeritrocitário destas amostras de sangue ozonizadas, diretamente proporcional à quantidade de ozônio, confirmando o fato de que o  $H_2O_2$  é capturado, principalmente, por eritrócitos (Figura 4.4). Esta redução de GSH se recupera totalmente após 20-30 minutos de nova síntese de GSH no citosol dos eritrócitos.

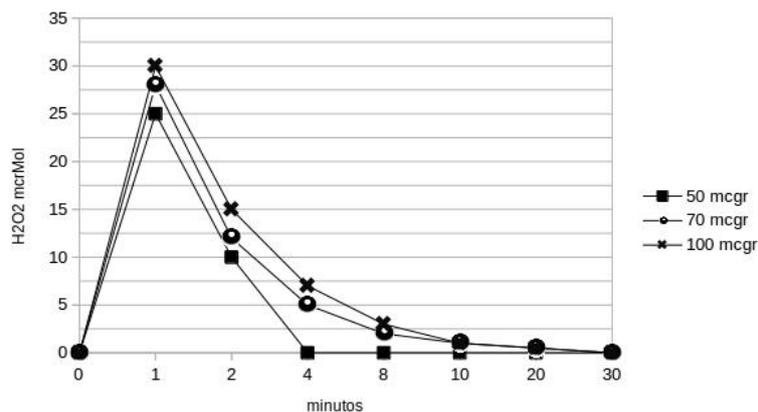


Fig. 4.3 - O peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) produzido por distintas quantidades de ozônio dissolvido em plasma é neutralizado pelas substâncias antioxidantes do mesmo em poucos minutos (Bocci, 2002).

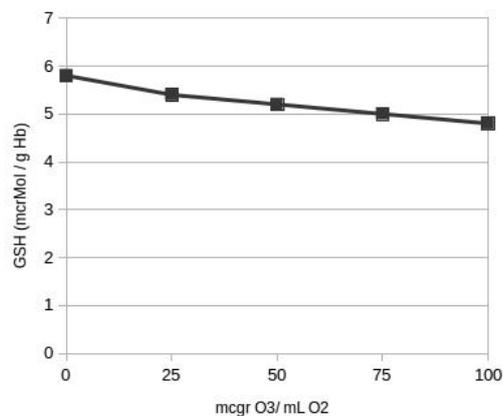


Fig. 4.4 - Após 1 minuto da mistura de ozônio com sangue total há uma diminuição da GSG intraeritrocitária que tem grande afinidade por  $H_2O_2$ . A 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  a diminuição é de somente 17%. Este decréscimo é recuperado em menos de 30 minutos. (Shirinki et al., 1998).

Uma pequena parte da dose de ozônio é consumida inevitavelmente na oxidação de outras substâncias antioxidantes presentes tais como ácido ascórbico e ácido úrico, grupos sulfidrilo (SH) da GSH, proteínas e glicoproteínas presentes na água do plasma, que são rapidamente reciclados para a sua forma reduzida. A quantidade destas substâncias antioxidantes varia muito de um tecido para outro, o que justifica que as concentrações de ozônio que podem ser utilizados são muito diferentes, dependendo do tecido com o qual ele reage (Tabela 4.1).

Tabela 4.1 - Determinação empírica das doses de ozônio toleráveis e a capacidade de antioxidantes de diferentes tecidos e fluidos (modificado por Bocci et al., 2003)

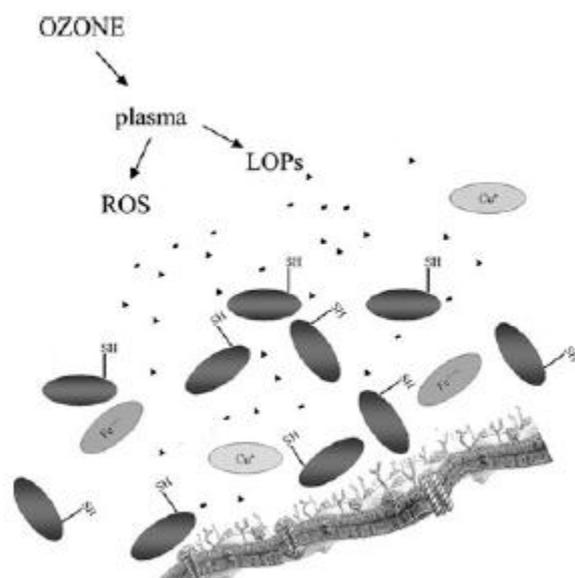
Fluidos e tecidos	Capacidade antioxidante	Composição	Capacidade antioxidante total	Concentração de ozônio ( $\mu\text{g/ml}$ )	Volume de gás ( $\text{O}_2\text{-O}_3$ ) (ml)	Resposta
Plasma	Alta	Ver tabela 4.2	1,28-1,83 mM	-	-	-
Sangue total	Muito alta	Ver tabelas 4.2 e 7.1	+++++	15-80	50-250	Terapêutica
FRE*	Muito baixa	Ver tabela 7.1	+	Nenhuma	-	Tóxica
Pele (local) Pele (sauna)	Baixa	Lípidos, proteínas não enzimáticas	++	5-80 0,1-0,9	Fluxo contínuo Diluído ar	Terapêutica
Subcutâneo	Moderada	Similar ao plasma	++	2-20	1-100	Terapêutica
Mucosa e fluidos coloriais	Baixa	Muco, Glucocálix, Lípidos, Proteínas, Enzimas	++	5-35	50-350	Terapêutica
Dentes	Baixa	Bactérias, proteínas	?	4	100 em 10 segundos	Terapêutica
Núcleo pulposo	Moderada	Proteoglicanos e colágeno tipo I, II e IV	++	25-35	2-5	Terapêutica
Fluido intraforaminal	Moderada	Similar ao plasma	++	30	15-20	Terapêutica
Espaço epidural	Baixa	Similar ao plasma	+	10-20	20	Terapêutica
LCR**	Muito baixa	Similar ao plasma porém muito diluído	+	Nenhuma	-	Tóxica
Tecido muscular	Moderada	Similar ao plasma	++	10-30	15-30	Terapêutica
Líquido sinovial	Moderada	Similar ao plasma	++	10-30	1-20	Terapêutica

\* FRE: Fluido de recobrimento epitelial bronco-alveolar  
\*\* LCR: Líquido céfalo-raquídeo

A diferença dos efeitos que se referem os estudos sobre toxicidade de ozônio por via respiratória e sobre os tecidos pulmonares (Pryor et al., 1995), nos quais os sistemas antioxidantes naturais estão praticamente ausentes, por quaisquer

das demais vias de administração terapêutica, a abundância destes sistemas antioxidantes naturais neutraliza rapidamente o estresse oxidativo "transitório" que acompanha a administração terapêutica de ozônio.

O diagrama (Figura 4.5) representa como o ozônio dissolvido na água orgânica reage simultaneamente com antioxidantes hidrossolúveis e lípidios ligados a albumina. Também mostra como o ozônio, em concentrações terapêuticas, não pode atingir a bicamada fosfolipídica que constitui a membrana eritrocitária protegida por moléculas de albumina. Parece evidente que as experiências artificiais realizadas com eritrócitos lavados com solução salina e doses muito elevadas de ozônio têm demonstrado danos nas membranas celulares e isto tem levado erroneamente à crença de que o ozônio seja citotóxico.



*Fig. 4.5 - O esquema (Bocci, 2011) ajuda a imaginar a multiplicidade do substrato reagindo com o ozônio dissolvido na água plasmática. Os pequenos círculos, triângulos e quadrados simbolizam os antioxidantes hidrossolúveis presentes em 100 ml de sangue humano (ácido úrico 4,5 mg/dl, ácido ascórbico 1,5 mg/dl, glicose 80 mg/dl, etc). Moléculas grandes de albumina (4.000 mg/dl) a exposição de grupos -SH formam uma nuvem sobre a membrana celular e a protegem. Moléculas como a transferrina e a ceruloplasmina unidas a Fe<sup>3+</sup> e Cu<sup>2+</sup> previnem a formação de OH<sup>-</sup>. A adição exógena de 4-8 mg de ozônio em 100 ml de sangue é transitória e controlada por antioxidantes. Em contraste, a produção endógena de ERO é contínua e só pode ser controlada por antioxidantes intracelulares enzimáticos.*

#### **4.1 Peróxido de hidrogênio e Produtos de Oxidação Lipídica (LOPs) como mensageiros biológicos do ozônio**

Portanto, deve ficar claro que as doses de ozônio são neutralizadas pelos antioxidantes presentes no plasma e unicamente a reação com *PUFA* é responsável pelos efeitos biológicos e terapêuticos. Isto deve esclarecer por que uma dose muito baixa de ozônio pode ser ineficaz ou equivalente a placebo. No sangue de indivíduos com uma quantidade total de antioxidantes (TAS) padrão (ver Tabela 4.1),

as concentrações abaixo de 15 µg/ml são completamente bloqueadas pelos antioxidantes plasmáticos e não são gerados LOPs em H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Figura 4.6). Além disso, após a ozonização do sangue humano, a capacidade antioxidante medida no plasma diminui não mais que 30% após cerca de 5 minutos, devido à rápida redução dos antioxidantes oxidados, com a intervenção dos eritrócitos (Bocci et al., 1998b; Bocci e Aldinucci, 2006). Este resultado enfatiza que mesmo doses elevadas de ozônio (16.000 µg para 200 ml. de sangue venoso) nunca excedem a capacidade antioxidante do plasma e não causam danos às células sanguíneas.

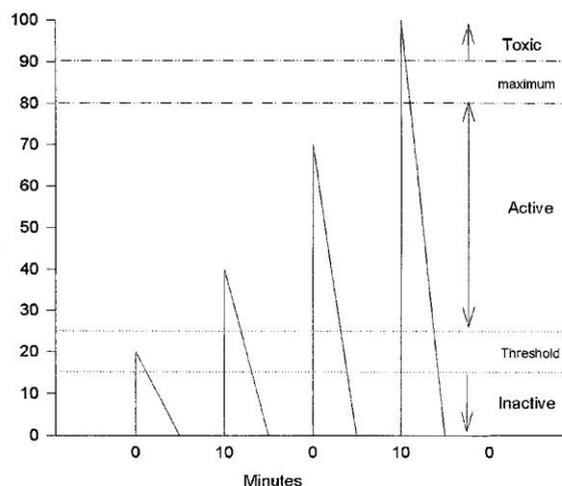


Fig. 4.6 - Esquema tomado do livro de Bocci (2002), mostrando o intervalo terapêutico do ozônio para o sangue. Concentrações entre 15 e 25 µg/ml podem ser ineficazes segundo a TAS do indivíduo. As concentrações abaixo de 15 µg/ml não são eficazes mesmo em pacientes com TAS muito baixas.

Os ERO incluem vários radicais tais como o anião superóxido (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), monóxido de nitrogênio (NO<sup>•</sup>), peroxinitrito (O = NOO<sup>-</sup>), os radicais já mencionados, hidroxilo e outros componentes tais como peróxido de hidrogênio e ácido hipocloroso (HClO). Todos os compostos são potencialmente citotóxicos (Fridovich, 1995; Pullar et al., 2000; Hooper et al., 2000), mas felizmente, têm uma vida média muito curta (normalmente uma fração de segundo) e tanto o plasma como as células têm antioxidantes capazes de neutralizar se suas concentrações não excederem a sua capacidade antioxidante. Este conceito enfatiza por que a dose de ozônio deve ser precisa e bem calibrada em relação a capacidade antioxidante do sangue para, conseqüentemente, desencadear reações úteis sem causar qualquer dano.

Os LOPs gerados após a ozonização de uma variedade de PUFAs são heterogêneos e, em resumo, são representados por uma variedade de a-hidroxi-hidroperóxidos no carbono terminal (R-OOHOH) e uma mistura complexa de aldeídos de baixo peso molecular, principalmente, malon-dialdeído (MDA) e alcalinos, incluindo 4-hidroxi-2,3 transnonenal (4-HNE), que é considerado por muitos como um elemento chave na transmissão de sinais celulares (Awasthi, Y. et. al., 2004). A química e bioquímica destes compostos foi descrita com maestria pelo grupo de Esterbauer (1991). Se pensar na riqueza e heterogeneidade química dos lipídios, glicolipídios e fosfolipídios presentes no plasma, é difícil imaginar que muitos compostos potentes, potencialmente nocivos, podem ser gerados pelos lipídios que reagem com pequenas quantidades de ozônio utilizadas na Ozonioterapia.

Desde que possamos controlar a quantidade de LOPs (utilizando concentrações precisas de ozônio associado ao volume sanguíneo e à capacidade antioxidante), podemos conseguir muitos efeitos biológicos impensáveis com uma única droga. Certamente, um grande especialista em antioxidantes, Prof. E. Lester Packer, da Universidade da Califórnia em Berkeley, escreveu que a hipótese de que uma pequena dose de ozônio pode obter um número de respostas antioxidantes úteis para o organismo é bastante razoável e está em concordância com os pensamentos atuais.

O seguinte esquema destaca este ponto crucial e a seqüência de eventos que, eventualmente, cria os efeitos terapêuticos: os ERO são produzidos unicamente durante um período curto de tempo, alguns segundos, e estes produzem efeitos biológicos precoces no sangue, durante a mistura com ozônio, enquanto que os LOPs, que são produzidos simultaneamente, têm uma vida média muito mais longa e chegam ao sistema vascular, na reinfusão do sangue ozonizado, e praticamente a todos os órgãos onde são produzidos os efeitos tardios (Figuras 4.7 e 4.8).

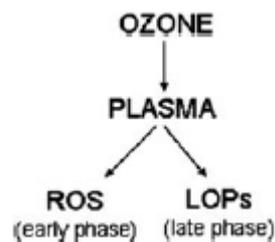


Fig. 4.7 - O esquema pretende demonstrar que o ozônio dissolvido em água plasmática reage imediatamente com certas biomoléculas e desaparece. Os compostos gerados durante as reações (ROS e LOPs) representam os “mensageiros de ozônio” e são responsáveis pelos efeitos biológicos e terapêuticos. (Bocci, 2002)

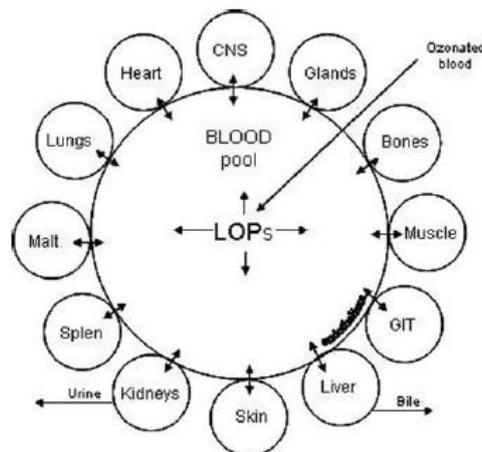


Fig. 4.8 - As múltiplas respostas biológicas no organismo frente ao sangue ozonizado podem ser concebidas se consideramos que as células do sangue ozonizado e os LOPs gerados interagem com certos órgãos. Alguns destes representam objetivos reais (fígados com hepatites crônicas, vasculopatias no sistema vascular), enquanto que outros órgãos podem, provavelmente, estar envolvidos em restaurar a homeostase. CNS: sistema nervoso central., GIT: trato gastrointestinal., MALT: tecido linfóide associado à mucosa. (Bocci, 2011)

Como conciliar a produção de compostos potencialmente tóxicos com a ideia de que eles têm efeitos terapêuticos e biológicos importantes?

Vamos primeiro examinar o comportamento e a farmacodinâmica do peróxido de hidrogênio, o que, em termos práticos, é o ERO mais importante. Logo que o ozônio se dissolve na água plasmática e reage com PUFA's, a concentração de peróxido de hidrogênio começa a aumentar, mas diminui com rapidez porque a molécula difunde-se rapidamente em eritrócitos, leucócitos e plaquetas, o que ativa várias vias bioquímicas.

O aumento da concentração intracelular de peróxido de hidrogênio não é tóxico para a célula, porque ao mesmo tempo, tem lugar uma redução de água tanto no plasma como na água intracelular, graças à presença de enzimas antioxidantes poderosas, tais como a catalase, a glutathione peroxidase (GSH-Px) e a glutathione (GSH) reduzida livre, como já foi discutido anteriormente. Talvez por alguns segundos, o gradiente químico entre o plasma e a concentração intracelular de peróxido de hidrogênio foi estimado em um intervalo que começa entre 1 e 4-5  $\mu\text{M}$  equivalente a cerca de 10% da concentração plasmática, o que impede qualquer toxicidade (Antunes e Cadenas, 2000; Stone e Collins, 2002; Stone e Yang, 2006; Forman, 2008). A presença transitória de peróxido de hidrogênio no citoplasma atua como um dos mensageiros químicos do ozônio e seu nível é crucial: deve exceder certos limites a fim de ser eficaz e não deve ser muito alto para não ser prejudicial., Em estudos realizados com sangue humano (200 ml) expostos a concentrações de ozônio entre 20 e 80 mg/ml (correspondente a dose total entre 4.000 a 16.000  $\mu\text{g}$  de  $\text{O}_3$  por sessão, ou de 4 a 16 mg por sessão), o processo de geração de peróxido de hidrogênio, difusão e redução foi sempre transitório (Bocci et al., 1993a, b, 1998a, b) também Halliwell et al., (2000a, b), considera que a molécula é realmente fisiológica no organismo.

Corroborando esta ideia, o peróxido de hidrogênio é reconhecido como uma molécula de sinalização intracelular que é capaz de ativar a tirosina-quinase que fosforila um fator de transcrição (Fator Nuclear kappa B, NFkB), que permite a síntese de um certo número de proteínas diferentes (Baeuerle e Henkel, 1994; Barnes e Karin, 1997). Basicamente, o peróxido de hidrogênio funciona oxidando cisteínas (Rhee et al., 2000) e vários autores descobriram que atua sobre células sanguíneas mononucleares (Bocci e Paulesu, 1990; Bocci et al., 1993b, 1998a; Reth, 2002), plaquetas (Bocci et al., 1999a), sobre células endoteliais (Valacchi e Bocci, 2000) e sobre eritrócitos (Bocci, 2002)

As ERO que entram nos eritrócitos são reduzidas quase que imediatamente, como mencionado anteriormente (peróxido de hidrogênio à água e lipoperóxidos a hidroperóxidos) pela GSH. A enorme massa de eritrócitos pode facilmente esgotar o peróxido de hidrogênio e em 10-15 min., reciclar os antioxidantes oxidados recuperando-os em sua forma reduzida (Mendiratta et al., 1998a, b). Enquanto a glutathione redutase (GSH-Rd) utiliza fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido (NADPH); esta coenzima serve como doador de elétrons para várias reações bioquímicas, permite reciclar o glutathione oxidado (GSSG) para o seu nível original de GSH, e NADP oxidado é reduzido após a ativação da via de pentoses fosfato, dos quais a glicose-6 fosfato desidrogenase (G6PD) é uma enzima chave. Portanto, a glicólise é acelerada com o consequente aumento dos níveis de ATP. Além disso, a

reinfusão do eritrócito, durante um período de tempo, melhora a entrega de oxigênio aos tecidos isquêmicos por deslocamento para a direita da curva de dissociação de oxigênio-hemoglobina devido à ligeira diminuição do pH intracelular (efeito de Bohr) e/ou o aumento dos níveis de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) (Figura 4.9).

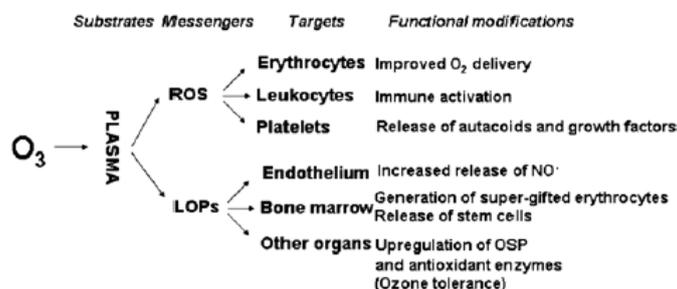


Fig. 4.9 - Um resumo dos efeitos biológicos obtidos durante a exposição de sangue humano a oxigênio-ozônio, "ex vivo" (ROS) e após a reinfusão no doador

Existe extensa literatura sobre a citotoxicidade dos LOPs (Poli et al., 2008). Estes compostos, quando são testados em cultura de tecidos ou examinados no contexto do delicado sistema respiratório, são tóxicos, mesmo na concentração de 1  $\mu$ M. Surpreendentemente, em concentrações submicromolares (0,01-0,5  $\mu$ M), testadas em vários tipos de células, pode estimular a proliferação e atividades bioquímicas úteis. Estes resultados nos levam a crer que a toxicidade dos produtos lipídicos ozonizados depende das concentrações finais e da localização do tecido, e que pode atuar como sinal prejudicial ou útil (Dianzani, 1998; Parola et al., 1999; Bosch-Morell et al., 1999; Larini et al., 2004; Aldini et al., 2006, 2008). O sangue, em comparação com os pulmões, é um "tecido" muito mais ozônio resistente e nunca foi observado qualquer dano. Já foi medida a cinética do desaparecimento dos LOPs no sangue ozonizado e reinfundido, e sua vida média em seis pacientes com degeneração macular senil (DMRI) foi de  $4,2 \pm 1,7$  min. Além disso, as mesmas amostras de sangue ozonizado foram incubadas *in vitro* e os níveis de LOPs diminuíram pouco durante as 2 horas seguintes, tornando claro sua possível toxicidade em culturas de células estáticas. Em relação ao hidroperóxido de éster de colesterol, Yamamoto (2000) enfatizou o papel da degradação enzimática e a absorção hepática. Portanto, a toxicidade dos LOPs *in vivo* é irrelevante para os seguintes processos:

(1) Formação de adutos de Albumina-HNE-4. Assumindo a ozonização de 200 ml de sangue com uma dose de 8 mg de ozônio, a presença de cerca de 5 g de albumina (Cys 34) é suficiente para formar adutos com 4-HNE. No conteúdo corporal total de 320g de albumina, a alíquota ozonizada é inferior a 1% (Aldini et al., 2006).

(2) Diluição (até 150-200 vezes) destes compostos no sangue e fluidos corporais rapidamente, reduzindo assim suas concentrações iniciais para farmacológicas, normais não tóxicas. Obviamente a dose de ozônio deve estar dentro do intervalo terapêutico.

(3) Neutralização dos LOPs devido à capacidade antioxidante de fluidos corporais e células.

(4) Detoxificação dos LOPs devido à interação de bilhões de células dotadas de enzimas desintoxicantes tais como as peroxidases, os aldeídos e álcool desidrogenases, aldose redutases e GSH-transferases (GSH-T) (Grune e Siems, 2003; Awasthi et al., 2005).

(5) Excreção dos LOPs na urina e bÍlis após desintoxicação hepática e excreção renal (Alary et al., 2003).

(6) Bioatividade sem toxicidade. Como mencionado anteriormente, as concentrações sub-micromolares dos LOPs podem atuar como mensageiros fisiológicos capazes de reativar um sistema biológico alterado.

Do ponto de vista farmacocinético, vestígios de LOPs podem atingir todos os órgãos e particularmente a medula óssea e o sistema nervoso central (Fig. 4.9). Os LOPs são extremamente importantes para informar as células do eestresse oxidativo mínimo e calculado, causando uma resposta adaptativa. Em relação aos eritrócitos, os LOPs podem influenciar na linhagem eritoblástica, criando assim células com características bioquímicas melhoradas. Estes "eritrócitos superdotados", como alguns chamam, devido a uma indução por glicose 6-fosfato desidrogenase, um teor mais elevado de 2,3-DPG e enzimas antioxidantes nas próximas semanas, são capazes de transportar mais oxigênio para tecidos isquêmicos. A consequência de tratamentos repetidos, obviamente, dependendo do volume de sangue ozonizado, a concentração de ozônio e a frequência do tratamento, é, após vários tratamentos iniciais, um coorte (cerca de 0,8% do pool) de "eritrócitos superdotados" que entram diariamente na circulação e substituem inevitavelmente os eritrócitos gerados antes da terapia. Isto significa que, depois da Ozonioterapia prolongada, a população de eritrócitos inclui, não apenas, células de diferentes idades, como também, eritrócitos com capacidades bioquímicas e funcionais diferentes. Durante o curso da Ozonioterapia, foi medido um aumento acentuado de G6PD e outras enzimas antioxidantes em eritrócitos jovens (Bocci, 2004). O processo de ativação celular é muito dinâmico e não dura para sempre, porque as células do sangue têm expectativa de vida definida e memória bioquímica limitada, assim, o benefício terapêutico deve ser mantido com tratamentos periódicos.

A toxicidade no sangue, nos fluidos biológicos e nos órgãos internos pode ser totalmente evitada quando a dose de ozônio reduz só parcial e transitariamente a capacidade antioxidante multiforme e potente. O sistema antioxidante tem evoluído nos últimos dois bilhões de anos como uma defesa essencial contra o oxigênio: é feita de componentes diferentes, principalmente a albumina, vitaminas C e E, ácido úrico, bilirrubina, cisteína, ubiquinol, ácido alfa-lipóico e antioxidantes intracelulares tais como GSH, tioredoxina e enzimas (superóxido dismutase, SOD, GSH-Px, GSH-Rd, GST-T, catalase, etc.) e proteínas, tais como, transferrina e a ceruloplasmina, capazes de quelar ferro e cobre que, caso contrário, favoreceria a formação de radicais hidroxilo. A riqueza e variedade de antioxidantes extracelulares e intracelulares, descritos em detalhe por Chow e Kaneko (1979), Halliwell (1994, 1999a, b, 2001), Frei (1999), Holmgren (1989), Di Mascio et al., (1989), Jang et al., (1997), Packer et al., (1997), Bustamante et al., (1998) e Chae et al., (1999), são capazes de explicar como certas quantidades de ozônio podem estimular vários sistemas biológicos sem produzir efeitos deletérios. Até que este conceito essencial

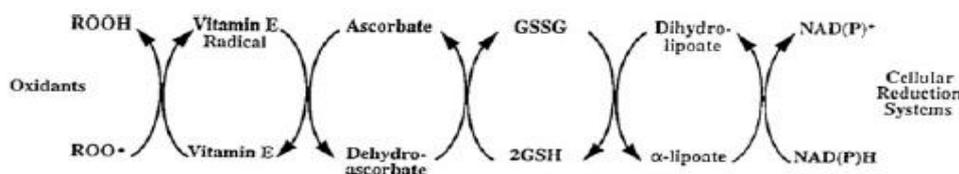
seja compreendido, o dogma da toxicidade por ozônio continuará, o que torna difícil estender os benefícios desta excelente terapia.

Tabela 4. 2 - Sistema de antioxidantes

Não enzimáticos		Enzimáticos	
<u>Hidrossolúveis</u>	<u>Lipossolúveis</u>	<u>Proteínas quelantes</u>	
Ácido úrico	Vitamina E	Transferrina	Superóxido Dismutase (SOD)
Ácido ascórbico	Vitamina A	Ferritina	Catalase
Glucosa cisteína	Carotenóides	Ceruloplasmina	Glutathione peroxidase
Cisteamina, taurina	Coenzima Q	Lactoferrina	Sistema redox de glutathione
Triptofano	Ácido $\alpha$ -lipóico	Hemopesina	Redutores equivalentes via
Histidina	Bilirrubina	Albumina	NADPH e NADH
Metionina	Tioredoxina		
GSH	Bioflavonoides		
Proteínas plasmáticas	Melatonina		
	Licopeno		

A interação entre os antioxidantes, enzimas e sistema metabólico é muito importante e permite a rápida regeneração, assim como, a manutenção do estado normal antioxidante.

O seguinte esquema, elaborado pelo Prof. L. Packer, ilustra a cooperação entre vários sistemas antioxidantes para neutralizar o radical lipoperóxido  $ROO\cdot$  (ilustrado na extremidade esquerda) transformando-se em um hidroperóxido menos reativo ou  $ROOH$ . A atividade redutora é continuamente gerada pelo metabolismo celular através da redução contínua de  $NAD(P)^+$  em  $NAD(P)H$ .



Basta dizer que, durante a administração de ozônio no sangue, as reservas dos antioxidantes diminuem não mais que 35% em relação a dose de ozônio, entre 20 e 80  $\mu\text{g/ml}$  de gás, por ml de sangue (4000 e 16000  $\mu\text{g}$  de dose total em 200 ml de sangue). É importante acrescentar que, nos casos em que esses parâmetros foram medidos nas amostras de sangue mantidas *in vitro*, a redução parcial é corrigida entre 15 e 20 minutos devido a reciclagem do ácido dehidroascórbico, GSSG, radical alfa-tocoferol, etc. a seus compostos reduzidos.

#### 4.2 Algumas considerações acerca do estresse oxidativo natural e induzido por terapias oxidantes. Base racional para uma dosagem eficaz de Ozonioterapia

A principal fonte de oxigênio reativo em condições normais em organismos aeróbicos, é provavelmente a perda de oxigênio ativado da mitocôndria durante a operação normal da respiração oxidativa. O estresse oxidativo é inerente à própria vida dos organismos superiores aeróbicos. Isso é facilmente compreensível,

considerando que nossa fisiologia desenvolveu-se imersa em um ambiente gasoso com nada menos que 18% de oxigênio, e que este participa de modo vital nos processos essenciais de produção de energia, bem como em muitos outros não menos importantes.

Isto levou ao desenvolvimento de vários mecanismos e substâncias envolvidas na utilização de oxigênio. Do mesmo modo que a partir do oxigênio se desenvolveram inúmeros metabólitos, processos e substâncias imprescindíveis para a vida, também se produziram as conhecidas espécies reativas de oxigênio, ERO, que têm a capacidade de danificar várias substâncias e estruturas vitais. Por isso, em paralelo com esses processos, foram desenvolvidas também várias substâncias e processos que naturalmente cumprem a função de controlar os níveis de ERO e evitar a propagação dos danos que causam. Algumas delas foram discutidas nos parágrafos anteriores e aqueles processos enzimáticos mais eficazes estão representados esquematicamente nas seguintes Figuras 4.10 e 4.11.

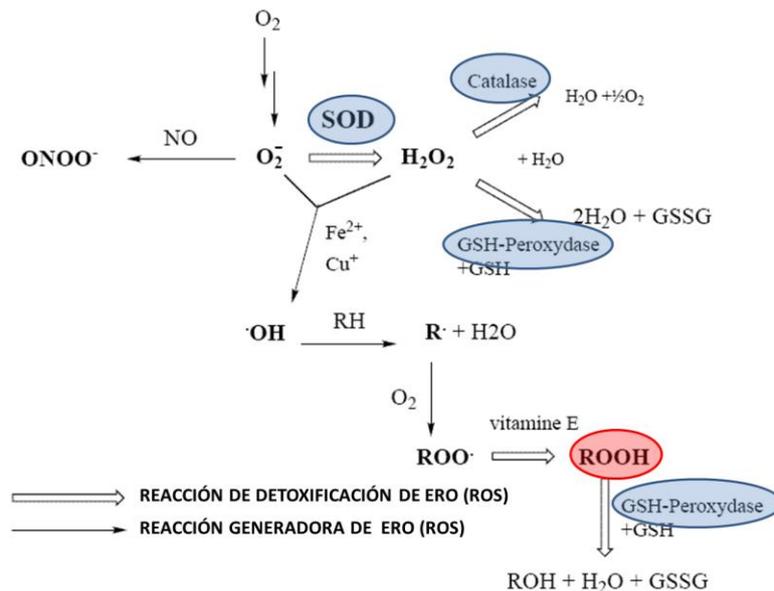


Fig. 4.10 - O estresse oxidativo é natural e fisiológico e aumentos agudos do mesmo se produzem constantemente durante a vida nas múltiplas atividades humanas, ao mesmo tempo em que os mecanismos e substâncias ANTIOXIDANTES se encarregam de neutralizá-lo e restabelecer seus valores normais de base.

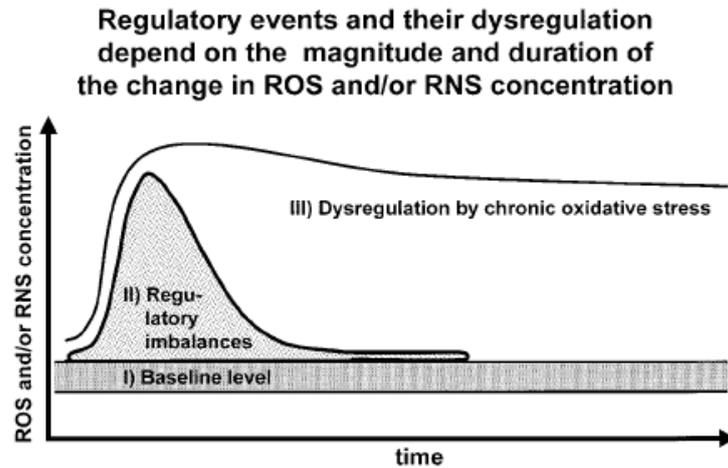


Fig. 4.11 - Somente quando por alguma causa geralmente patológica, não se consegue restabelecer este equilíbrio, é que se pode falar de ESTRESSE OXIDATIVO CRÔNICO, e considerar PATOLÓGICO E POTENCIALMENTE DANOSO.

Para exemplificar situações cotidianas de estresse oxidativo transitório, que se autoregulam por mecanismos antioxidantes normais, podemos dizer que, em princípio, TUDO AQUILO QUE NOS CAUSA UM AUMENTO DE NOSSA DEMANDA DE OXIGÊNIO, CRIARÁ UM ESTRESSE OXIDATIVO. Se as nossas defesas antioxidantes estão em boas condições, isso será temporário e se autoregulará. Exemplos: alimentação, higiene, exercício físico, trabalho físico, situações eestresseantes (térmico, físico, psicológico, etc.), inúmeras drogas oxidantes (adriamicina, etc.), alguns procedimentos terapêuticos oxigenantes, etc.

Tem sido relatado (Bloomer et al., 2010) o chamado “Estresse Oxidativo pós-prandial”, demonstrado na Figura 4.12, onde incremento de estresse oxidativo de cerca de 100% é observado após a ingestão de 150 g de glicose e até 400% em 2 horas após a ingestão de 60 g de lípidos.

**Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size**

Richard J Bloomer\*, Mohammad M Kabir, Kate E Marshall, Robert E Canale, Tyler M Farney

Lipids in Health and Disease 2010, 9:79

UNIVERSO: N = 9 HOMBRES JOVENES, DE 20-22 AÑOS, SANOS, CON HABITOS SALUDABLES Y QUE NO CONSUMEN MEDICAMENTOS.  
-DESPUES DE 10 HORAS DE AYUNO NOCTURNO.

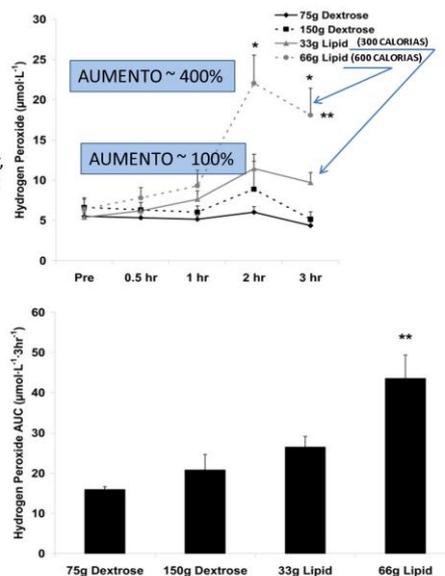


Fig. 4.12

Também tem sido mencionado (Singh et al., 2004) que o nível de peróxidos lipídicos no sangue e a atividade de enzimas antioxidantes se comportam segundo um ritmo circadiano, em sujeitos saudáveis e em doentes (Figura 4.13).

**CIRCADIAN PERIODICITY OF PLASMA LIPID PEROXIDES AND ANTI-OXIDANT ENZYMES IN PULMONARY TUBERCULOSIS**

*Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2004, 19 (1) 14-20*  
**Ranjana et al.**  
 Departments of Biochemistry, Medicine and TB & Chest Diseases, King George's Medical University, Lucknow.  
 \*Department of Biochemistry, G.S.V.M. Medical College, Kanpur, \*\*Department of Community Medicine, Era's Lucknow Medical College, Lucknow

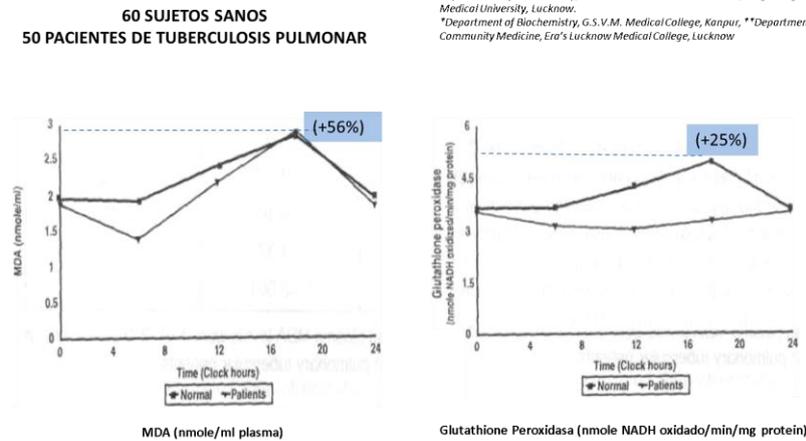


Fig 4.13

Por outro lado, têm sido demonstrados (Marin et al., 2011) incrementos de estresse oxidativo de 118% no plasma e 152% nos eritrócitos, 24 horas depois do exercício físico forte (Figura 4.14).

**Cytokines and Oxidative Stress Status Following a Handball Game in Elite Male Players**

*Oxidative Medicine and Cellular Longevity*  
 Volume 2011, Article ID 804873, 10 pages  
 Douglas Popp Marin,<sup>1,2</sup> Rita de Cassia Macedo dos Santos,<sup>1</sup> Anaysa Paola Bolin,<sup>1</sup> Beatriz Alves Guerra,<sup>4</sup> Elaine Hatanaka,<sup>4</sup> and Rosemari Otton<sup>1,4</sup>  
<sup>1</sup> Postgraduate Program-Health Sciences, Cruzeiro do Sul University, 03342-000, São Paulo, SP, Brazil  
<sup>2</sup> Metodista University of São Paulo, 09640-000 São Bernardo do Campo, SP, Brazil  
<sup>3</sup> Postgraduate Program-Human Movement Sciences, Institute of Physical Activity and Sport Sciences, Cruzeiro do Sul University, 01506-000, São Paulo, SP, Brazil  
<sup>4</sup> Laboratório de Fisiologia Celular, Universidade Cruzeiro do Sul, Av. Regente Feijó, 1295, 03342000 São Paulo, SP, Brazil

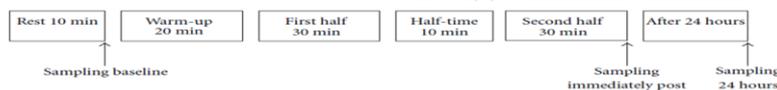


FIGURE 1: Experimental design.

**14 male elite Brazilian handball athletes. Results before and after a single friendly handball game**

TABLE 2: Plasma and erythrocyte TBARS levels, protein carbonyl, and thiol content of handball athletes. Results are presented as mean  $\pm$  SEM. \* Indicates significant differences in respect to baseline values ( $P < 0.05$ ).

	Baseline	Postgame	24 h
<b>TBARS</b>		<b>+64%</b>	<b>+118%</b>
Plasma ( $\mu\text{mol MDA/mL}$ )	0.11 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01*	0.24 $\pm$ 0.02*
Erythrocytes ( $\mu\text{mol MDA/mg of protein}$ )	668.80 $\pm$ 50.87	595 $\pm$ 62.42	1687 $\pm$ 184.20*
<b>Protein Carbonyls</b>		<b>-11%</b>	<b>+152%</b>
Plasma (protein carbonyls/mL)	16.16 $\pm$ 0.37	14.73 $\pm$ 0.58	14.64 $\pm$ 0.27
Erythrocytes (protein carbonyls/mg of protein)	42.77 $\pm$ 0.92	59.95 $\pm$ 2.94*	62.78 $\pm$ 2.30*
<b>Thiols</b>		<b>+40%</b>	<b>+47%</b>
Plasma (mmol thiols/mL)	20.40 $\pm$ 2.09	8.23 $\pm$ 1.01*	16.67 $\pm$ 1.35
Erythrocytes (mmol thiols/mg of protein)	1.57 $\pm$ 0.29	1.22 $\pm$ 0.22	1.05 $\pm$ 0.21

AUMENTO EN MDA PLASMÁTICO	$\mu\text{mol/ml}$	%	AUMENTO EN MDA ERITROCIT.	$\mu\text{mol/ml}$	%
DESPUÉS DEL PARTIDO	0,07	64	DESPUÉS DEL PARTIDO	-73,80	-11,0
24 H.DESPUÉS DEL PARTIDO	0,13	118	24 H.DESPUÉS DEL PARTIDO	1018	152

Fig. 4.14

Como terapia oxigenante, serve de exemplo a Oxigenação Hiperbárica, considerada uma terapia "nobre", aceita pelas autoridades de saúde de todos os países, e sobre a qual foram relatados efeitos colaterais somente em poucas condições particulares.

Esta terapia é capaz de gerar um estresse oxidativo muito importante durante um longo período de tempo, pelo menos, durante todo o tempo do tratamento, e possivelmente até vários dias. A Figura 4.15 apresenta um exemplo de um estudo com 20 indivíduos, entre voluntários e 15 pacientes com tratamentos. De acordo com os resultados, o aumento do estresse oxidativo, medido por dois métodos diferentes, aumenta e se mantém durante todo o tratamento, o que se comprova antes da última sessão, quando o MDA no plasma alcança níveis médios de 46% acima dos valores normais iniciais, e em seguida chega a uma média de 61%.

### Oxidative stress and antioxidant status in patients undergoing prolonged exposure to hyperbaric oxygen

**Clinical Biochemistry 37 (2004) 312–317**  
 Serena Benedetti, Antonio Lamorgese, Michele Piersantelli, Silvia Pagliarini, Francesca Benvenuti, and Franco Canestrari,  
 a Institute of Biological Chemistry "G. Fornalini", University of Urbino "Carlo Bo", I-61019 Urbino (PU), Italy  
 b Hyperbaric Medicine, Therapy and Research Center, Fano (PU), Italy

- 8 Voluntarios

- 12 Pacientes (M = 8, F = 4, edad media: 57.5 ± 15.0 años)

PROTOCOLO: 15 tratamientos consecutivos de HBO, (1 sesión/día).

Los pacientes respiraron 100% de O2 usando máscara, a presión de 2.5 AT. Para un total de 2 periodos de 30-min con un intervalo de 3-min, durante los cuales respiraron aire.

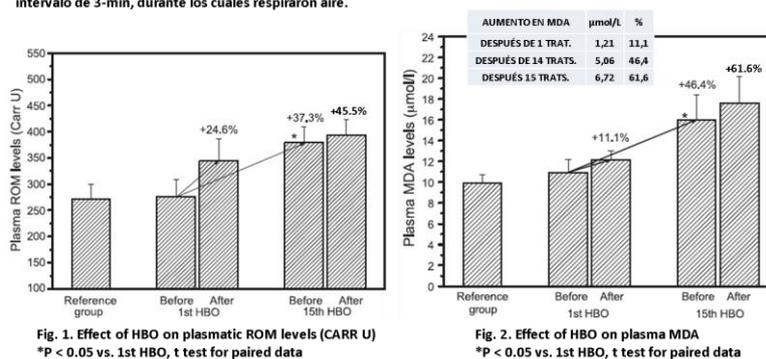


Fig. 4.15

No entanto, no caso da Ozonioterapia, o estresse oxidativo causado pela administração de um ciclo de tratamento por auto-hemoterapia maior ozonizada (AHT MAIOR), em comparação com o produzido por outras causas, é muito menor e se autoregula intrinsecamente durante o tratamento, graças à sua capacidade de estimular os sistemas naturais de enzimas antioxidantes.

Este fenômeno é demonstrado em vários estudos clínicos (Bocci, 2002), nos quais foram medidos peróxidos lipídicos no sangue e a atividade de algumas enzimas antioxidantes durante o ciclo de tratamento. Na Figura 4.16 se observa no decorrer de 9 tratamentos realizados em um período de um mês, inicialmente, os peróxidos lipídicos aumentam ligeiramente (sem exceder os níveis de referência considerados normais) e, a partir do 5º tratamento começam a ativar sensivelmente a SOD, e, conseqüentemente, os peróxidos lipídicos começam a diminuir novamente. Assim, no final do tratamento, as defesas antioxidantes dos pacientes estão a um nível de atividade mais alto que antes do mesmo.

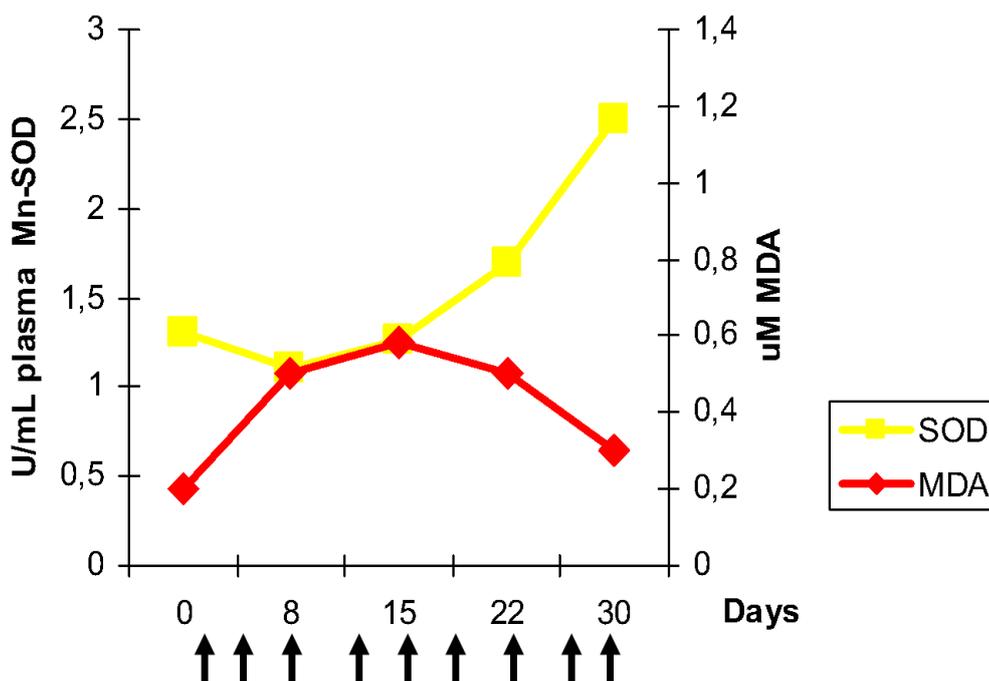


Fig. 4.16 - Comportamento da SOD e dos LOPs (MDA) na degeneração macular associada à idade do paciente tratado com AHT MAIOR (Bocci, 2002). As setas indicam as sessões de AHT MAIOR.

Há outros estudos clínicos que ilustram como, dentro dos limites fixados por estudos básicos realizados e a experiência, um ciclo de tratamentos de AHT MAIOR mais intenso e enérgico e com maior dose de ozônio diário, pode conseguir melhores resultados.

Um destes exemplos é a comparação entre os resultados obtidos em dois estudos (F. Hernandez et al., 1989 e 1995) independentes, mas realizado com um protocolo comparável (total de 15 sessões, uma por dia, durante 3 semanas), que diferiram em aplicar doses diárias de 5.000 μg de ozônio, num caso, e 10.000 μg no outro. A Figura 4.17 mostra o comportamento dos LOP e a atividade da glutathiona peroxidase (GPX) durante o ciclo de tratamento em ambos os estudos, observando que no caso em que a dose mais elevada de ozônio é utilizada, o efeito antioxidante foi maior durante todo o tratamento.

20 Sujetos, 5.000 µg.O<sub>3</sub>/sesión-día

22 Sujetos, 10.000 µg.O<sub>3</sub>/sesión-día

PROTOCOLO: SESIONES DIARIAS POR AUTOHEMOTERAPIA MAYOR, HASTA COMPLETAR 15 SESIONES EN 3 SEMANAS

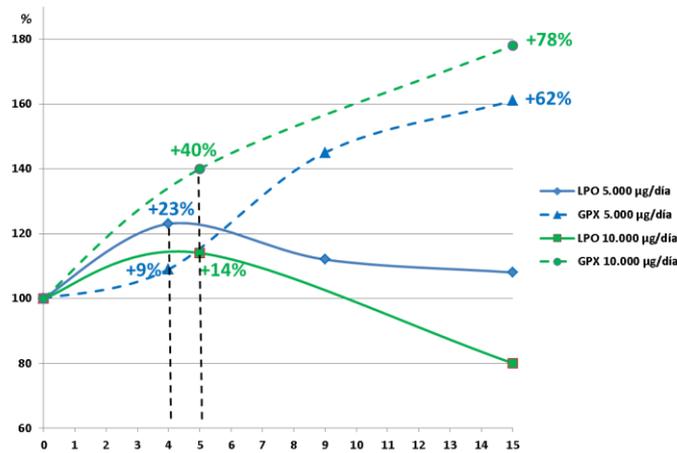


Fig. 4.17

Pode ser visto que entre o 4<sup>o</sup> e o 5<sup>o</sup> tratamentos foram obtidos ativações enzimáticas de 9% (dose menor) e 40% (dose maior) e, conseqüentemente, o aumento dos LOPs foi de 23% (dose menor) e apenas 14% com a dose maior. A ativação da GPX com dose maior ocorreu a um nível de atividade final maior (78%) do que no caso da dose menor (62%). O nível final de LOP também foi muito menor do que o inicial., no caso do tratamento realizado com dose maior de ozônio.

Isto pode ser compreendido pela capacidade muito particular dos metabólitos de ozônio, produzidos na sua interação com o sangue, de ativar de maneira muito marcante os sistemas de defesa naturais enzimáticos.

Considerando que os níveis máximos de estresse oxidativo obtidos nestes estudos clínicos com AHT MAIOR estão muito abaixo dos níveis que foram documentados no plasma durante muitas atividades humanas normais (ingestão de lipídios: de + 100 a + 400% exercício físico + 152%) das variações circadianas (+ 56%) e os produzidos por terapias consideradas nobres pelas autoridades de saúde (oxigenação hiperbárica: + 61%), devemos concluir que a Ozonioterapia sistêmica, por meio de AHT MAIOR, produz apenas um ligeiro estresse oxidativo de curta duração, e é muito segura e quase isenta de efeitos colaterais adversos.

### 4.3 Conclusões

Quando o sangue humano é exposto a doses terapêuticas de oxigênio - ozônio, ambos os gases se dissolvem no plasma, dependendo da sua solubilidade, pressão parcial e temperatura. Enquanto o oxigênio se equilibra entre a fase gasosa e o plasma, o ozônio, dez vezes mais solúvel, não pode equilibrar-se porque

imediatamente reage com biomoléculas (PUFA, antioxidantes) presentes no plasma e se esgota totalmente. A reação gera produtos de oxidação lipídica (LOPs) e peróxido de hidrogênio (entre outras possíveis ERO), o que poderia ser chamado "metabólitos de ozônio". O aumento repentino da concentração de peróxido de hidrogênio gera um gradiente, que causa sua transferência rápida para as células sanguíneas, nas quais, em poucos segundos, ativa vários processos bioquímicos, e, simultaneamente, o peróxido de hidrogênio é reduzido a água através de um sistema antioxidante intracelular muito eficiente (GSH, catalase, GSH-Px). Esta fase crítica corresponde a um estresse oxidativo leve, controlado, agudo e transitório, necessário para a ativação biológica sem concentração concomitante tóxica, desde que a dose de ozônio seja compatível com a capacidade antioxidante do sangue, que comparativamente é elevada.

Enquanto os EROs são responsáveis pelos efeitos biológicos imediatos, os LOPs são efetores importantes tardios, quando o sangue ozonizado *ex vivo* retorna à circulação pela reinfusão. Quando o ozônio é administrado localmente, os EROs e LOPs exercem seus efeitos diretamente sobre o tecido.

Os LOPs podem atingir todos os órgãos, particularmente a medula óssea, onde, após induzir a estimulação do núcleo da célula (NFKB e Nrf2) mediante variação intracelular de peróxido de hidrogênio e glutathione, induzem a adaptação ao estresse oxidativo agudo repetido. Devido à terapia prolongada, a atividade dos LOPs culminará com a regulação positiva ("upregulation") de enzimas antioxidantes, a ocorrência de proteínas de estresse oxidativo (hemo-oxigenase I como marcador típico) e a provável liberação de células-tronco, representando fatores cruciais que explicam alguns dos efeitos extraordinários da Ozonioterapia (Capítulo 8). Uma publicação recente da equipe de Bocci (Pecorelli et al., 2013), confirmada por Re (Re et al., 2014) demonstrou a modulação de Nrf2 em pacientes tratados com ozônio. O Nrf2 é uma proteína nuclear chave para a desintoxicação (cura) ou a morte celular (doença) (Zucker et al., 2014), demonstrando novamente a necessidade de estabelecer a dosagem apropriada para induzir a cura.

É de se salientar que o SANGUE EXPOSTO A OZÔNIO ATRÁVES DE UM ESTRESSE OXIDATIVO LEVE E TRANSITÓRIO é absolutamente necessário para ativar funções biológicas, sem efeitos nocivos. O estresse deve ser adequado (não subliminar) aos mecanismos ativos fisiológicos, mas não excessivo, para superar o sistema antioxidante intracelular e causar danos, embora este limite seja muito alto. Estima-se que as doses de ozônio que podem ser consideradas excessivas para um usuário médio seria da ordem de  $> 30.000 \mu\text{g}$  de  $\text{O}_3$  por sessão (Bocci, 2011). As concentrações superiores a  $80 \mu\text{g/ml}$  podem exceder as capacidades antioxidantes de alguns tecidos (Greenberg 1993), e sua segurança não tem sido demonstrada em suficientes estudos experimentais. Por outro lado, uma dose muito baixa de ozônio (abaixo do limiar de  $15 \mu\text{g/ml}$ ) é completamente neutralizada pela riqueza em antioxidantes e ácidos graxos insaturados plasmáticos e só pode produzir um efeito placebo. Da mesma forma, as quantidades de ozônio na AHT MAIOR de 1 mg por sessão provaram ser ineficazes para corrigir o estresse oxidativo em diferentes patologias, em comparação com 5 mg por sessão que foram eficazes (Borrelli, 2014). Também se verificou (Hernandez, 2005) que na DPOC, 4 mg são capazes de estimular as enzimas antioxidantes, mas não melhoram os parâmetros clínicos, sendo necessários 8 mg para alcançar um efeito terapêutico. Portanto, é necessário estabelecer cientificamente a dose mínima eficaz para cada patologia mediante os estudos adequados.

A RESPOSTA TERAPÊUTICA alcançada após o estresse oxidativo repetido pode ser concebida como um EFEITO PRÉCONDICIONANTE, capaz de reequilibrar e reforçar o sistema redox alterado por causas patológicas.

## Capítulo 5

### Vias de administração de Ozônio

Exceto por inalação (proibida pela toxicidade trâqueo-brônquio-pulmonar) se tem utilizado muito as vias parenterais e tópicas para administrar o ozônio, sem efeitos tóxicos e com o mínimo de desconforto (Tabela 5.1).

Tabela 5.1 – Vias de administração de Ozônio

Parenteral	Tópico ou locorregional
Intravenosa (Auto-hemoterapia ozonizada)	Nasal <sup>a</sup>
Intra-arterial (IA) <sup>b</sup>	Tubal <sup>a</sup>
Intramuscular (IM)	Auricular
Subcutânea (SC)	Oral <sup>a</sup>
Intraperitoneal (IPE)	Vaginal
Intrapleural (IPL)	Uretral e intravesical
Intra-articular (IAT)	Retal
(A) Periarticular	Cutânea
(B) Miofascial	Dental
Intradiscal (ID)	
Intraforaminal (IF)	
Intralesional (IL) <sup>c</sup>	

<sup>a</sup> A ser realizada durante 30 segundos em apneia.

<sup>b</sup> Já não é utilizada para isquemia de extremidades. Metástases hepáticas

<sup>c</sup> Intratumoral ou via fístula ou intra-abcesso

A mistura gasosa, que consiste em pelo menos 95% de oxigênio e menos de 5% do ozônio produzido pelo gerador de ozônio medicinal tem uma ligeira pressão positiva e pode ser recolhida com uma seringa calibrada (idealmente de vidro, mas impraticável e tem sido substituída por polipropileno revestido de silicone). Se é necessário um fluxo contínuo de gás, é possível inserir uma conexão adequada para a válvula de saída do gerador de ozônio. NÃO PODEM SER USADOS TUBOS DE BORRACHA OU LÁTEX visto que absorvem rapidamente o ozônio e se desintegram; por conseguinte, tubos de silicone, PVC, polietileno, etc. inertes ao ozônio são ideais.

Embora o ozônio seja um poderoso desinfetante, o ozônio, como gás seco, é extraído de uma válvula que é exposta ao meio ambiente, pelo qual deve ser filtrado para as aplicações médicas, para evitar possível contaminação. Atualmente, se utilizam filtros de seringas estéreis, antibacterianos, ozônio resistentes e hidrofóbicos, de teflon e com uma porosidade de 0,2 µm.

Desde 1984, devido a um caso de morte causada por embolia pulmonar, AS VIAS DE ADMINISTRAÇÃO INTRAVENOSAS DIRETAS E INTRA-ARTERIAIS contendo quantidades variáveis de ozônio SÃO DESACONSELHADAS pelas sociedades científicas. No caso da INTRAVENOSA DIRETA, embora o gás seja injetado lentamente, produz a formação de uma corrente de bolhas de gás, onde o ozônio (mais solúvel do que o oxigênio) se dissolve e reage com o sangue, enquanto, o oxigênio, cuja dissolução é muito lenta na corrente sanguínea, pode chegar ao ventrículo direito e, em seguida, passar para a circulação pulmonar. É de se lembrar que a solubilidade do oxigênio a 37°C é apenas de 0,23 ml por 100 ml de líquido plasmático e, por conseguinte, o plasma venoso pode não dissolver o oxigênio de maneira suficientemente rápida se o ritmo de infusão for inadequado causando formação de embolia gasosa. Além disso, a falta de estudos pré-clínicos da citotoxicidade sobre o endotélio vascular e o adequado ritmo de infusão, juntamente com a ausência completa de relatórios que não sejam puramente anedóticos, faz com que esta via não seja em absoluto recomendada na atualidade.

No caso da via INTRA-ARTERIAL DIRETA, devido ao pequeno volume de gás e a fragmentação gasosa no leito capilar das extremidades, a administração IA não implica risco de embolia, mas verificou-se que não há vantagens em comparação com a clássica AHT MAIOR ou mesmo o gás de insuflação retal., Portanto, não se usa mais porque as injeções intra-arteriais induzem as contrações pré-capilares. Além disso, a prática de embolia terapêutica (com álcool e compostos citotóxicos) para metástases hepáticas está em uso, atualmente, e parece relativamente útil. Sob estas premissas, é possível aplicar a administração lenta intra-arterial (através da artéria hepática) de 20-40 ml de gás com uma concentração de ozônio de até 80 µg/mL. O risco de produzir embolia gasosa por oxigênio é mínimo porque o gás se dispersará nos sinusóides e capilares tumorais, possivelmente, com citotoxicidade direta por ozônio em células neoplásicas sem efeitos secundários, como podem ocorrer com os compostos quimioterapêuticos. Até agora, este procedimento foi testado com um paciente com metástases hepáticas difusa, sem efeitos colaterais.

As vias INTRAPERITONEAL E INTRAPLEURAL são, até onde sabemos, usadas por médicos russos utilizando, primeiro, água ozonizada para lavar o pus e depois insuflando para as cavidades 100-300 ml de ozônio nas concentrações de 5-50 µg/ml, dependendo da gravidade da infecção. O ozônio se dissolve rapidamente e reage com exsudatos, o que pode reduzir infecções. Além disso, estimulando a vasodilatação e a proliferação de células, pode trazer uma rápida cicatrização. Este tratamento não danifica o peritônio, como vimos, após, o teste de gás de insuflação de 300 ml em cavidade peritoneal em coelhos com concentração de ozônio de 20 µg/mL. Não havia nenhum desconforto nos animais, nem no revestimento peritoneal havia danos na autópsia, após 24 e 48 h. Em nossa opinião, estas vias merecem ser avaliadas em carcinomatose peritoneal e mesotelioma pleural: insuflações diárias de 2-3 litros de gás quantas vezes forem possíveis, atualizando as concentrações de ozônio desde 5 até 10 a 15 µg/ml com base na reatividade do paciente. O ozônio durante os primeiros 5-10 minutos pode ser diretamente citotóxico nas células neoplásicas, assim como os compostos quimioterápicos, com a vantagem de evitar a quimiorresistência, sem causar efeitos tóxicos, depressão da medula óssea, mucosite, e com custo mínimo. O risco de embolia é praticamente nulo e a vantagem de uma hiperóxia local e transitória não pode ser ignorada. Uma cânula de silicone pode ser facilmente inserida de forma permanente no interior das cavidades

para uma administração diária. A diálise peritoneal nos ensinou tudo sobre o grande potencial da cavidade peritoneal., onde, normalmente, 1-2 litros de solução são trocados a cada 4-6 horas para eliminar catabólitos. O ozônio mata diretamente as células neoplásicas, ativa os macrófagos resistentes e os neutrófilos, enquanto a absorção através do sistema linfático dos mensageiros de ozônio pode induzir citocinas, tais como TNF-alfa, IFN-gama e IL-2, que podem ativar o sistema imunológico para completar a destruição das células cancerosas. Também o pré-condicionamento de ratos que sofreram um aloenxerto cardíaco agudo com ozônio por via intraperitoneal prolonga a sobrevivência do enxerto (Stadlbauer et al., 2008).

As administrações intra-articular, intradiscal e intraforaminal serão abordadas no contexto de doenças ortopédicas.

As APLICAÇÕES TÓPICAS podem ser realizadas por meio do isolamento das lesões com bolsas ou capuzes resistentes ao ozônio, e insuflando o gás ou mediante água e/ou óleo ozonizados.

As infecções nasais, tubárias e orais (gengivais, mucosas e amígdalas) podem ser tratadas com cateteres de silicone ou metal adequado. Se usa o gás, um volume de cerca de 20 ml (concentração de ozônio de 5 a 20  $\mu\text{g/ml}$ ) pode ser suficiente, mas o paciente, após uma inspiração profunda, tem de permanecer em apneia durante 40-60 segundos e depois expirar para expulsar os resíduos de ozônio. As aftas na boca podem ser tratadas com pequenas injeções intralesionais de ozônio (concentração 5-10  $\mu\text{g/ml}$ ), seguidas de uma aplicação tópica diária de óleo ozonizado. Atualmente é "moda" usar um capuz de silicone que contém e expõe uma lesão de herpes a ozônio durante 20-30 segundos. A aplicação de óleo ozonizado na lesão é muito mais prática e econômica.

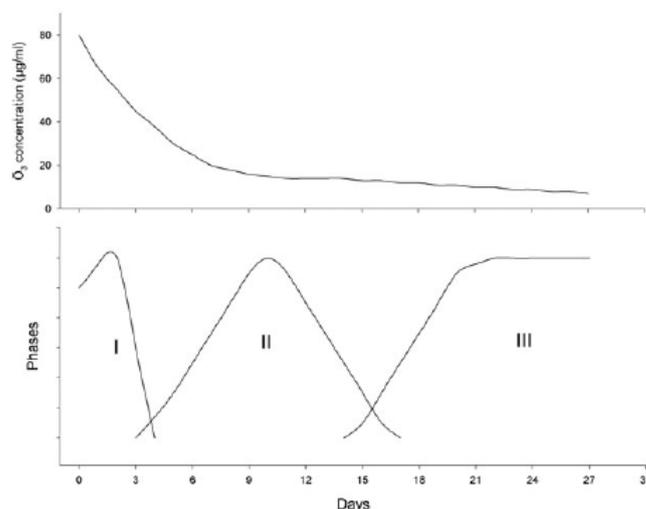
As infecções crônicas retais e vaginais (bacterianas, virais, fúngicas e protozoários), resistentes aos tratamentos convencionais, respondem muito bem à Ozonioterapia. Após a inserção de catéter de silicone (lubrificado com gel de silicone), aproximadamente 10-20 cm pode-se começar a limpar as cavidades com abundante água ozonizada para eliminar as secreções purulentas. Então, podemos insuflar 50-300 ml de gás (para cavidades vaginais ou retais, respectivamente) durante uns minutos, tendo o cuidado de reduzir a concentração de ozônio a medida que a infecção diminui. Os pessários e supositórios vaginais e retais de óleos ozonizados podem ser aplicados antes de dormir. Uma estratégia semelhante pode ser usada para tratar infecções uretrais ou da bexiga, considerando-se a redução das concentrações de ozônio entre 3 e 10 -15  $\mu\text{g/ml}$ , respectivamente.

As aplicações cutâneas se contemplam para todos os tipos de infecções (desde dor até úlceras diabéticas, queimaduras, picadas de insetos e medusas), acidentes e lesões. O gás pode ser usado, mas a lesão deve ser hermeticamente vedada com materiais resistentes ao ozônio para evitar o escape de ozônio. Para extremidades, geralmente, usam-se bolsas flexíveis e para outras áreas se usam cúpulas com duas ligações para aplicar vácuo e ozônio. Com cápsulas a vácuo se pode, segundo Wekmeister (1995), promover a hiperemia, que também é conveniente. Nestes casos, o médico precisa de um gerador de ozônio equipado com uma bomba de sucção com um destruidor catalítico de ozônio. Se uma exposição dinâmica não for possível, o sistema estático pode ser alcançado mediante uma bolsa de polietileno selada com fita adesiva larga, sem ser muito apertado para evitar a estase venosa. Também pode ser aplicada duas vezes por

dia uma compressa embebida com água ozonizada durante, aproximadamente, 20 min e aplicar o óleo ozonizado durante a noite.

Ninguém questiona a potente atividade desinfetante do ozônio (provavelmente apenas um pouco mais baixa do que, a do iodo, que é de fato muito agressivo aos tecidos) em relação às bactérias gram positivas e negativas, vírus, fungos e protozoários. O tratamento simples e barato com água e óleo ozonizados é bem tolerado, não tem efeitos nocivos e o tempo de cura é muito mais curto do que com qualquer tratamento convencional., O benefício final é devido a vários fatores concomitantes, tais como a desinfecção, vasodilatação e oxigenação com a normalização da acidose tecidual e reabsorção do edema (Bertolotti e Izzo, 2006; Borrelli et al., 2008; Faus Vitória, 2008). A sequência teórica de cicatrização de feridas tem sido demonstrada esquematicamente como acontecendo em três fases (Martin, 1997).

O esquema apresentado na Figura 5.1 mostra as três fases: Fase I mostra a inflamação, que geralmente tem duração de 2-3 dias. A infecção bacteriana subsequente após um trauma, diabetes, isquemia local e possível resistência aos antibióticos, pode se tornar crônica a menos que intervenhamos com a Ozonioterapia. A Fase II corresponde à fase intermediária e normalmente tem a duração de 2 semanas. Estimula a síntese de matriz extracelular (fibronectina, colágeno III/I, ácido hialurônico e sulfato de condroitina), e é acompanhada por uma proliferação ativa de fibroblastos e queratinócitos. O uso de óleo ozonizado não só previne a infecção, mas estimula a reconstrução inicial do tecido. A restituição e integração, isto é, a Fase III, inclui a cura final e a remodelação do tecido cicatrizado. Pode levar um longo tempo em pessoas idosas e/ou pacientes diabéticos.



*Fig. 5.1 - As três fases da cura de feridas (Bocci, 2011). Na primeira, Fase (I), a inflamação prevalece, com a presença de neutrófilos, macrófagos, mastócitos, plaquetas, bactérias e toxinas. A aplicação de ozônio inibe a infecção e promove a segunda Fase (II), que dura aproximadamente 2 semanas. Durante esta fase, a aplicação constante de ozônio com concentrações progressivamente mais baixas não só previne a infecção como estimula a proliferação celular, a síntese de fibroblastos e queratinócitos. A restituição e integração, isto é, a completa reconstrução da ferida, ocorre durante a última Fase (III).*

Por esta experiência, a cura bem sucedida e relativamente rápida de úlceras necróticas em pacientes arteriopáticos, diabéticos e imunodeprimidos pode ser alcançada por meio de tratamento parenteral (auto-hemoterapia), e com a aplicação adequada e uma diminuição progressiva da concentração de água e óleo ozonizados. O controle rigoroso da glicemia e a combinação destas terapias parecem agir sinergicamente. A utilização tópica de antibióticos e de fatores de crescimento são muito caros e, muitas vezes, ineficazes.

## **5.1 Conclusões**

Foi apresentada uma variedade de vias de administração de ozônio. Apesar da toxicidade intrínseca por via respiratória (que está totalmente excluída), quando utilizado em doses razoáveis, o ozônio é um agente versátil, que pode ser surpreendentemente útil em várias doenças. Mesmo em infecções locais ou neoplasias, e na região oral-naso-faríngea pode ser aplicado, sempre que o paciente possa permanecer em apneia durante cerca de 40s, ou tenha sido entubado. Devido às falsas afirmações de curandeiros, de que a administração IV direta do gás pode curar infecções por HIV, esta via, como mencionado, se há de proibir, pois há muitos outros métodos mais seguros para a administração de ozônio.

No que diz respeito à administração subcutânea (SC), os médicos que tratam lipodistrofias devem injetar pequenos volumes (1-2 ml) de gás (concentração de ozônio: 2-3 µg/ml) em vários locais até um total de 80-100 ml por sessão. Durante o descanso subsequente de cerca de 30 minutos, se pode massagear as áreas injetadas com óleo ozonizado. Com este procedimento nunca houve nenhum efeito secundário negativo, mesmo após a injeção distribuída de 300-400 ml de gás. As administrações intraperitoneais e intrapleurais têm sido aplicadas com escassez, mas são de grande interesse para o tratamento de peritonite que ameaçam a vida, empiema, carcinomatoses peritoneal e pleural e hepatite viral crônica em pacientes submetidos a diálise peritoneal.,

Acidentes e traumas, queimaduras e todo tipo de infecções cutâneas crônicas podem ser tratadas corretamente com água e óleo ozonizados, que, comparados com cremes convencionais, merecem grande atenção. O uso tópico em úlceras crônicas presentes em pacientes diabéticos e idosos permite uma rápida cicatrização.

## **Capítulo 6**

### **As três modalidades terapêuticas sistêmicas**

A administração parenteral de ozônio pode representar a chave para resolver alguns problemas médicos quando a medicina alopática falhou, permitindo administrar doses suficientemente "altas" como para alcançar os benefícios desejados.

## 6.1 Auto-hemoterapia maior ozonizada (AHT MAIOR)

Este termo indica o clássico procedimento em que um dado volume de sangue é retirado de uma veia periférica, logo é exposto a oxigênio-ozônio durante cerca de um minuto (dependendo do dispositivo utilizado) e reintroduzido no paciente pela mesma via, (AHT MAIOR) ou por via intramuscular (auto-hemoterapia menor). "Maior" e "menor" distinguem-se pelo volume diferente de sangue: 50-225 ml para o primeiro e 5-10 ml para o segundo. A ideia original da exposição do sangue *ex vivo* a uma mistura gasosa foi proposto por Wehrli e Steinbart (1954), que publicaram o método de sangue irradiado com luz UV na presença de oxigênio puro. Este procedimento, chamado HOT (*Hematogenous Oxidation Therapy* - Terapia de Oxidação Hematógena), não é usado por causa da incerteza referente a concentração real de ozônio durante a irradiação UV do oxigênio uma vez que era complicado e arriscado, porque a ampola de quartzo tem que ser limpa e esterilizada após cada tratamento. É verdade que alguns casos de infecção cruzada com HCV, devido à esterilização imperfeita, tiveram uma ampla divulgação e denegriram a Ozonioterapia moderna (Gabriel et al., 1996). Este tipo de infecções cruzadas graves ocorreram no passado devido à negligência de médicos e enfermeiros que comprometeram o progresso da Ozonioterapia. Na década de 60, os geradores médicos confiáveis estavam disponíveis e HANS WOLFF PROPÔS A EXPOSIÇÃO DE SANGUE DIRETAMENTE A OXIGÊNIO-OZÔNIO, com a vantagem de conhecer a sua concentração exata. Em 1974, foi relatado que ele usou este método para muitos pacientes, sem problema algum.

Para a introdução de ozônio no sangue retirado do paciente têm sido utilizado historicamente vários sistemas, alguns dos quais apresentam certos riscos e/ou excessiva manipulação. Exemplo disso são os sistemas que utilizam bolsas macias, tais como as utilizadas para a conservação de sangue de banco, e que têm a grande desvantagem de conter grande quantidade de plastificante, principalmente, cerca de 43% dos ftalatos (1973 Valeri et al., Lewis et al., 1977; Lawrence, 1978; Thomas et al., 1978; Callahan et al., 1982; Labow et al., 1986; Whysner et al., 1996). Demonstrou-se que a interação de ozônio com o plástico destas bolsas faz com que as partículas das mesmas se desprendam e acelera a dissolução parcial dos ftalatos no sangue, que logo irão infundir no paciente e cujas consequências, em ambos os casos podem ser preocupantes. Na verdade, na Itália, onde se generalizou em certa medida a utilização destas bolsas nos anos 90, vieram a ser relatados em alguns casos um pouco conhecidos "alergia ao ozônio" (que é difícil, por causa da simplicidade e instabilidade da molécula), quando, provavelmente, os causadores de algumas reações de febre e mal-estar foram realmente devidas aos fatores acima mencionados. Além disso, a utilização de bolsas macias prolonga significativamente o processo de extração de sangue, dado que na prática, as cânulas usadas para esta finalidade devem ser mais calibrosas do que G21 ou G19 (1,1 mm) no máximo.

Felizmente, em 2000, foram desenvolvidos novos recipientes plásticos, sem plastificantes, resistentes ao ozônio e mais fortes e seguros, com certificação da Comunidade Européia (CE) para uso exclusivo na AHT MAIOR. Com estes, a reação de "alergia" desapareceu devido à ausência de ftalatos e a ausência de liberação de micropartículas plásticas.

Atualmente, existem três sistemas principais, que são circuitos fechados, descartáveis, de uso único:

1 - Um sistema estéril e descartável que consiste em um bolsa de plástico livre de ftalatos que vem junto a um sistema de transfusão convencional., para extração-infusão de sangue previamente anticoagulado com citrato sódico e as agulhas necessárias para executar o procedimento. Existem vários modelos, que são todos aprovados para uso em AHT MAIOR por diferentes organismos notificados.

2- Um recipiente de plástico rígido com embalagem estéril, concebido especialmente para isto, com 2 vias distintas, uma para o sangue, com seu correspondente filtro anticoágulos, e outra para aplicação de vácuo e ozônio alternativamente, diretamente do gerador de ozônio. O vácuo pode ser aplicado de forma controlada e medido com máquinas modernas, o que facilita consideravelmente a extração do sangue e permite que o tempo total para a realização de um tratamento completo seja menor que 15 minutos. Além disso, o ozônio que se introduz, posteriormente, é medido em tempo real., O dispositivo também está aprovado especificamente para AHT MAIOR.

3- O tradicional frasco de vidro com vácuo préaplicado na fábrica, e ao qual se conectam equipamentos de transfusão convencionais para extração-infusão de sangue e seringas com agulhas para a introdução de ozônio. Como anticoagulante neste sistema, geralmente, utiliza solução estéril IV de citrato de sódio a 3,13%, em ampolas de doses individuais de 10 ml, cujo efeito anticoagulante é eficaz somente *in vitro*, e desaparece quando diluída e infundida na circulação sanguínea. É seguro para praticamente todos os pacientes, mesmo aqueles que já estão em tratamento com anticoagulantes (warfarina, heparina, hirudina), agentes antiplaquetários (aspirina, dipiridamol, ticlopidina, clopidogrel) agentes trombolíticos (estreptoquinase, ativador do plasminogênio tecidual) ou pacientes com doenças hepáticas e com nível baixo de protrombina. Também pode ser usado como um anticoagulante a heparina, mas utilizando a mesma repetidamente poderá agravar-se a coagulopatia, causando hemorragias graves. No entanto, tendo em conta as restrições acima, só depois de uma análise minuciosa do paciente, o médico pode escolher o anticoagulante mais adequado.

Várias modificações têm sido tentadas para a administração de ozônio no sangue, que devem ser mencionadas resumidamente: a primeira modificação (patente nos EUA) utiliza fibras capilares ocas (como os filtros para hemodiálise) e é cara e desnecessariamente complexa, pelo qual fracassou. O segundo sistema fragmenta o gás em pequenas bolhas através do sangue, argumentando que isso aumenta a taxa de absorção de ozônio no sangue. Temos que respeitar a velocidade de infusão do ozônio no frasco indicado pelo fabricante, pois um excesso de borbulhamento produz um grau de hemólise e muita espuma.

O volume de sangue retirado para a ozonização deve ser flexível e estar relacionado com a massa corporal do paciente, bem como com o seu estado geral e tipo de doença. O consenso internacional (Klein, Anstee, 2014) sobre a quantidade máxima de sangue que se pode extrair com o mínimo risco de desmaio ou complicações hipovolêmicas é de 13% do volume total teórico de sangue, de acordo com a fórmula:

$$\text{ml a extrair} = \frac{\text{Peso do paciente (Kg)} \times 450}{50}$$

Deve-se ajustar a quantidade em função da hemoglobina e do estado cardiovascular do paciente. Buscando uma margem ampla de segurança, que evite complicações de hipovolemia transitória, não mais do que 225 ml de sangue (para um indivíduo de 75 kg representa 30% da quantidade máxima segura para uma extração) deve ser extraído em um recipiente estéril, resistente a ozônio, com capacidade de pelo menos o dobro do volume de sangue extraído, ou um kit aprovado para AHT MAIOR. Na Europa, muitos consideram que o máximo de 100 ml de sangue é ótimo. É evidente que o ozônio administrado em qualquer um destes volumes de sangue gera mensageiros cruciais, como os ERO, LOPs, metabólitos intermediários e autacóides que se diluem, degradam e excretam mas que, após interagirem com células, expressam importantes efeitos farmacológicos sempre que superar 4 mg de ozônio, como mencionado no Capítulo 4.

A abordagem padrão consiste em realizar 2 ou 3 tratamentos semanais, durante 10-15 sessões. Este programa é prático, claramente muito eficaz na grande maioria dos pacientes, mas pode ser alterado para se adequar às necessidades individuais.

A infusão correta de 100-225 ml de sangue mais 10% em ml de solução de citrato normalmente dura entre 5 e 15 minutos, dependendo da quantidade e do paciente, sem qualquer problema ou complicação, porque é sangue autólogo recém extraído. No entanto, devemos verificar com cuidado a hemostasia e evitar o extravasamento sanguíneo, o que poderia pôr em risco a continuação da terapia.

Uma questão importante a se notar é que, nos últimos 15 anos, durante a realização de dezenas de tratamentos tem sido relatado em trabalhos apresentados em vários congressos do setor, e publicados internacionalmente, tanto na Espanha, como em muitos outros países europeus, como a Alemanha, Itália, Áustria, Suíça, Portugal., etc., nunca são referidos efeitos colaterais significativos. Pode ocorrer raramente, no primeiro tratamento de um paciente, um tipo de tontura leve e transitória, semelhante a uma súbita hiperventilação. Isto pode estar relacionado com o aumento transitório da quantidade de oxigênio transportada para os tecidos produzido pela AHT MAIOR.

## **6.2 Auto-hemoterapia ozonizada menor**

Nos anos 50 se usavam injeções intramusculares tanto de sangue recém extraído autólogo, como de leite estéril, como imunomoduladores inespecíficos. Esta prática é muito antiga e ainda é usada sem ozônio (Olwin et al., 1997). Wolff teve a boa ideia de ozonizar o sangue, na esperança de ativar seus componentes.

O procedimento técnico é empírico e simples: em primeiro lugar, se extrai sangue periférico (5 ml) em uma seringa de 10 ml e, em seguida, através de uma torneira de três vias, se adiciona um volume igual oxigênio-ozônio filtrado a uma concentração de ozônio entre 40 e 80 µg/ml, dependendo da extensão do tratamento e da gravidade da doença. Também pode extrair, primeiro, 5 ml de gás do gerador de ozônio e depois obter do paciente 5 ml de sangue com a mesma seringa. Em ambos os casos, o sangue misturado com gás, absorve e reage imediatamente com o ozônio. Após desinfetar a pele das nádegas e verificar que

não penetrou um vaso sanguíneo, o sangue ozonizado é injetado nos músculos das nádegas, lentamente, sem causar dor. Podemos realizar múltiplas injeções e/ou repetir 2-3 vezes por semana.

A lógica deste tipo inespecífico de proteínoterapia enriquecida com ozônio, é hipotética e seria importante uma investigação científica adequada. No momento, só se pode especular que o sangue, sem anticoagulantes, pode se infiltrar no tecido muscular ou no tecido celular subcutâneo e pode chegar a coagular devido à ativação plaquetária e da protrombina. Se atrasamos demasiado a injeção, o sangue poderá coagular na seringa.

Vários processos, como a fibrinólise, a reabsorção através de vasos linfáticos e uma reação inflamatória podem ocorrer ocasionalmente por um ligeiro inchaço no ponto da injeção, como indicam vários pacientes durante os dias seguintes. Compostos quimiotáticos liberados no local da injeção podem estimular a infiltração local de neutrófilos e monócitos, que absorvem os eritrócitos hemolisados e as proteínas desnaturadas. Os monócitos ativados e os linfócitos podem liberar interferons e interleucinas, regulando a resposta fisiológica da citoquina (Bocci, 1981c, 1988a). Portanto, é muito interessante avaliar os parâmetros imunológicos e determinar se há uma indução simultânea da hemo-oxigenase I (HO-1) e outras proteínas de choque térmico (Tamura et al., 1997), que podem melhorar a reatividade imunológica e explicar os efeitos benéficos.

A auto-hemoterapia menor é fácil de realizar, não tóxica, econômica, e se pudéssemos fazer um ensaio clínico controlado, poderia tornar-se uma ferramenta útil para qualquer condição. Até agora, só temos dados anedóticos de pacientes com herpes I e II, herpes zoster agudo e neuralgia pós-herpética (Konrad, 2001).

O problema de novas vacinas é cada vez mais urgente, e já propôs a utilização de ozônio como um agente capaz de eliminar a infecção, ao mesmo tempo, melhorar a imunogenicidade contra um agente patogênico (Bocci et al., 2009b).

Não têm sido relatados efeitos colaterais com auto-hemoterapia menor, apesar de vasta experiência.

### **6.3 Insuflação retal com oxigênio-ozônio (IR)**

Payr e Aubourg, em 1936, foram os primeiros a empregar a insuflação da mistura gasosa no cólon-reto e hoje em dia essa abordagem está sendo adotada em Cuba, porque é fácil de fazer, muito barata e praticamente sem riscos. Em vários estados norte-americanos, muitos pacientes com AIDS realizam sua própria autoinsuflação utilizando um gerador de ozônio portátil impreciso. Na Califórnia, Carpendale et al., (1993) foram capazes de realizar um estudo em pacientes com AIDS com diarreia profusa devido a infecções oportunistas de *Cryptosporidium*; e, como se esperava, relataram uma melhora temporária em alguns dos pacientes. Carpendale era um cientista clínico e recorreu ao ozônio como um último recurso para pacientes desesperados. A diarreia diminuía, mas não era curada.

O principal campo de aplicação é representada pelos abscessos anais e retais, com fístulas, proctite, colite bacteriana e úlceras, doença de Crohn e hepatite

viral crônica B e C. Mesmo doenças isquêmicas e demenciais têm sido tratadas com IR, visto que foi relatado terem um efeito sistêmico. Na verdade, um efeito sistêmico parece ser apoiado por estudos em ratos (Leon et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez et al., 2004) nos quais foi demonstrado que com a IR, durante 2 semanas, se alcançou a homeostase redox celular.

Embora todos os anos se realizam centenas de milhares de tratamentos, não está claro como os gases administrados por via intestinal agem e se poderiam afetar alguns parâmetros fisiológicos, bioquímicos e imunológicos. Embora a corrente principal de aplicação do ozônio sistêmico seja a AHT MAIOR, e a medicina convencional, como é comum, despreze este tratamento empírico, considerou-se importante analisar, com respeito a IR, as questões seguintes:

Como são absorvidos o oxigênio e o ozônio pela mucosa intestinal?

A IR tem apenas efeito local ou sistêmico também?

Devido aos efeitos tóxicos do ozônio no trato respiratório, é incerto se o ozônio afeta negativamente a mucosa intestinal.

Knoch et al., (1987) examinaram mudanças de  $PvO_2$  após a insuflação retal em coelhos. Encontraram um aumento do conteúdo de oxigênio de 230, 121 e 127% na veia mesocolônica, veia porta e no parênquima hepático respectivamente, entre 8-20 min após a insuflação retal de 150 ml da mistura de oxigênio-ozônio. Os valores voltaram à normalidade após 50 min. Este resultado não é novidade, porque sabemos que vários gases, como o dióxido de carbono, o metano, hidrogênio, oxigênio e sulfeto de hidrogênio, tanto ingeridos como produzidos pela flora bacteriana são parcialmente absorvidos, excretados e exalados com o ar expirado. Estamos obviamente interessados no destino do ozônio introduzido na IR. No capítulo 4, esclarece-se que o ozônio primeiramente se dissolve na água, mas, ao contrário do oxigênio, que se difunde livremente em outros compartimentos, imediatamente reage com qualquer biomolécula, particularmente PUFA produzindo ERO e LOPs. Portanto, podemos determinar o destino do ozônio mediante a medição de LOPs no sistema porta intestinal e na circulação periférica. Enquanto a mucosa respiratória está revestida por uma película fina e resistente de fluidos, a mucosa intestinal está coberta abundantemente pelo glicocálix e uma camada espessa de água contendo mucoproteínas e outros produtos secretados com uma capacidade antioxidante potente (Halliwell et al., 2000). Além desta camada gelmucosa, um conteúdo fecal variável está presente e pode absorver a totalidade da atividade oxidante do ozônio. Está claro que este parâmetro imprevisível representa o ponto fraco da IR, porque não podemos estar seguros da dose de ozônio que está realmente disponível. No entanto, achamos que valia a pena pesquisar em coelhos, se o ozônio tem, através dos LOPs, atividade local e/ou sistêmica. Os resultados têm sido esclarecedores e têm sido amplamente relatados por Bocci et al., (2000) e Bocci (2002).

Os seguintes dados são interessantes nestes estudos:

Após a insuflação retal, se mediu o possível aumento do teor de oxigênio na veia porta (após 20-35 min) e na veia jugular (após 35-40 min). Não houve mudanças significativas de  $PvCO_2$  e de pH.

Concomitantemente, houve um aumento dos valores dos LOPs até 60 minutos após a insuflação de gás, quando começa a declinar. Os valores foram significativamente mais elevados na veia porta do que na veia jugular, devido em parte a diluição na circulação geral., Em contraste, os valores obtidos a partir da medição da oxidação dos grupos tiol mostraram uma tendência oposta, atingindo o mínimo, após 90 min. Ambos os parâmetros retornaram aos níveis basais, 24 h mais tarde.

Portanto, parece que a IR exerce rápido efeito local e sistêmico devido à absorção de ERO e LOPs gerados pela interação de ozônio com as biomoléculas presentes no conteúdo da luz intestinal., A quantidade de ERO e LOPs absorvida é, no entanto, imprevisível devido à variabilidade do conteúdo da luz intestinal., principalmente, material fecal.,

Pode-se pensar que o ozônio se dissolve rapidamente na água luminal., mas, em comparação com o oxigênio, não é absorvido porque parte dele reage com a camada de mucoproteínas da mucosa ou com material fecal e outra porção é reduzida por antioxidantes. Os LOPs, como o oxigênio, passam através da *mucosa muscularis* (MM) e entram na circulação via sistema linfático e capilares venosos. A conclusão é relevante e poderia apoiar a tese de que o efeito benéfico da IR na isquemia crônica das extremidades pode ser semelhante ou equivalente ao AHT MAIOR. Se esta constatação puder ser confirmada em ensaio clínico controlado e randomizado, será útil para pacientes com acesso venoso muito difícil. Além do mais, explicaria por que a IR prolongada (até 13 semanas) em indivíduos idosos causa um aumento modesto em ambos ATP e 2,3-DPG nos eritrócitos (Viebahn-Hansler, 1999a, b). Estes resultados são ainda mais impressionantes porque, em comparação com os volumes precisos e as concentrações de ozônio controladas na AHT MAIOR sabemos muito bem como pode ser impreciso a aplicação IR de ozônio e, particularmente, o volume de gás retido e que atua efetivamente na luz intestinal.,

Isto leva à discussão de alguns detalhes técnicos em termos de volume de gás, a concentração de ozônio e horário de administração. A IR deve ser feita após a defecação ou depois de um enema, quando a extremidade retal está vazia. O paciente deve estar deitado de lado e relaxado quando inserir a sonda (30-40 cm de comprimento), de polietileno inerte ao ozônio (borracha de látex nunca deve ser usada), lubrificada com silicone, deve ser introduzida lentamente cerca de 10-15 cm. A inserção é fácil e não deve estimular o peristaltismo. Para este fim, o gás deve ser introduzido lentamente e em volume de 50-100 ml cada 1-2 minutos. Se feito de forma rápida, o gás pode causar desconforto e expulsar-se rapidamente. O gás pode ser introduzido via: (a) uma bomba de silicone de duas vias ligado ao coletor de gás num saco de polietileno, ou (b) uma seringa de silicone de 50 ou 100 ml, fechando o catéter com uma pinça Klemmer (ou pinça de Kelly) após cada insuflação. Podemos obter um bom desempenho se começarmos com 100-150 ml e formos subindo lentamente até aproximadamente 400-500 ml, dependendo da tolerância do paciente. Este volume pode ser mantido facilmente por pelo menos 20-30 min. Koch et al., (1987) insuflou até 800 ml em 1 min. Carpendale et al., insuflaram de 700 até 1300 ml de gás (até 30 mg de ozônio por dia) em pacientes com AIDS, com a esperança de que o gás pudesse se difundir em todo o cólon. O paciente deve repousar pelo menos 15 min após a IR, a fim de evitar a expulsão do gás e permitir a reação do ozônio com o conteúdo do intestino.

A concentração de ozônio é importante para induzir efeitos locais e

sistêmicos, mas há um consenso geral de que não deve exceder de 50 µg/mL., exceto nas doenças tratadas em fase de sangramento ativo, em que se recomenda uma maior concentração (até 70 µg/mL.), que tende a favorecer o efeito hemostático, e baixo volume, para não distender as mucosas.

O Sistema de Saúde Público Cubano escolheu administrar a pacientes diabéticos 200 ml de gás com uma concentração de ozônio de 50 µg/mL (dose de 10 mg), em 20 ciclos de tratamento, aplicadas diariamente.

Depois de milhões de aplicações, podemos dizer que, a IR, se realizada corretamente, não parece induzir efeitos locais adversos. Parece razoável pensar que uma dosagem sensata de ozônio, na camada mucosa, no sistema antioxidante e a resposta adaptativa dos enterócitos são responsáveis pela ausência de toxicidade.

No Capítulo 9, examinaremos brevemente a patogênese onde a IR tem a melhor aplicação, mas aqui é útil a hipótese sobre os possíveis efeitos locais do ozônio. Estes seriam os seguintes:

- (1) Efeitos bioquímicos. Os estudos já mencionados (Leon et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez et al., 2004), demonstraram que a IR em ratas melhorou a resposta antioxidante enzimática no fígado e nos rins.
- (2) Efeitos bactericidas: O cólon/reto humano contém até 600 g de aproximadamente 400 espécies diferentes de bactérias anaeróbicas - o ozônio pode parcialmente mudar o ambiente durante um curto período de tempo. Exceto em condições especiais, tais como na enterocolite associada a clindamicina (Schulz, 1986), a atividade bactericida é provavelmente insignificante, embora possa causar a liberação de lipopolissacarídeos (LPSs) e peptídeos de muramilo. Estes compostos se encontram entre os indutores de citocinas mais potentes e em grandes quantidades são responsáveis pela síndrome do choque tóxico e, provavelmente, a morte. No entanto, em condições fisiológicas, a absorção diária de traços de LPSs ligados a proteínas específicas e a lipoproteínas é considerada essencial para manter a resposta de citocina básica no sistema imunológico em alerta (Bocci, 1981b, 1988c, 1992c). No último artigo em particular, postulou-se que, de alguma forma, a flora intestinal desempenha um papel fundamental imunoestimulante. Esta ideia permanece válida atualmente e é possível que a IR favoreça um ligeiro aumento na absorção dos LPS com a consequência da ativação dos linfócitos intra-hepáticos, células de Ito e células de Kupffer (O-Farrelly e Crispe, 1999), que podem mudar a evolução de uma hepatite crônica.
- (3) Alterando o equilíbrio da flora bacteriana: Devido à variedade de espécies bacterianas esta área é complexa. A flora normal contém *Lactobacillus (Lb) acidophilus*, *Lb. Bifidus*, *Lb. Fermentum*, *Lb. Casei*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus thermophilus*, *S. bulgaricus*, *Escherichia coli*, *Proteus* e uma variedade de enterococos. As bactérias e os seus produtos interagem entre elas e com os enterócitos, células caliciformes, células enteroendócrinas (produzindo numerosos

hormônios) e tecido linfóide associado ao intestino (GALT) (Hooper e Gordon, 2001). Além disso, é bem sabido que os alimentos contaminados, a água e os antibióticos podem subverter esta simbiose dinâmica permitindo a sedimentação de bactérias e fungos patológicos tais como *Cândida albicans*, *C. tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, etc. A disbiose sucessiva, normalmente de grande alcance, tem conseqüências deletérias, que vão desde uma enterocolite transitória até a crônica e reações autoimunes, que, portanto, devemos tentar corrigir com o fim de restaurar a homeostase. Se a IR com uma aplicação diária de oxigênio-ozônio pode reequilibrar a flora bacteriana e conduzir a uma imunoreatividade normal., ainda teria que ser demonstrado e explicado, embora os resultados empíricos sugiram um efeito benéfico.

- (4) Efeitos sobre o GALT. O compartimento gastrointestinal representa quase 40% de todo o sistema imunológico. Além das famosas placas descritas por Johann Konrad Peyer (1653-1712), sobre uma superfície intestinal total de uns 300 m<sup>2</sup>, há aproximadamente 1.011 imunócitos por m<sup>2</sup> e por cada 6-7 enterócitos.

Os imunócitos intraepiteliais são principalmente linfócitos T, tanto  $\alpha$ -b de origem tímica o  $\gamma$ - $\delta$  de origem local., Estes últimos induzem uma resposta do tipo Th-2 que é anti-inflamatória e imunossupressora, muito importante para evitar a excessiva estimulação devido a antígenos alimentares, bacterianos, virais e tóxicos. Perdue (1999) enfatizou que uma troca contínua entre imunócitos e enterócitos pode manter uma homeostase saudável e prevenir a decomposição da mucosa e inflamação. Apesar das hipóteses interessantes (Fiocchi, 1998, 1999; van Parijs e Abbas, 1998; Okabe, 2001; Shanahan, 2002; Ardizzone e Bianchi Porro, 2002), a etiologia e patogênese tanto da colite ulcerosa como da doença de Crohn permanece incerta e é difícil identificar os responsáveis que, passo a passo, causam a doença.

Durante os últimos 20 anos, a medicina oficial tem feito grande esforço para solucionar este problema complexo. Mesmo hoje em dia, a doença de Crohn permanece uma doença grave. D'Ambrosio (2002a, b), em um estudo aberto, demonstrou que a IR de oxigênio-ozônio pode levar a uma melhora significativa nesta doença. Se os resultados forem confirmados, nenhum paciente deveria perder a oportunidade, e com uma base racional., de utilizar a Ozonioterapia.

Por último, recordando que o intestino é o maior órgão endócrino no corpo e como nosso segundo cérebro, contêm bilhões de neurócitos secretores (Ahlman e Nilsson, 2001), é possível especular que poderíamos utilizar, ambos, IR e AHT MAIOR para influenciar ou normalizar a neurosecreção de neuromoduladores relevantes, que podem ser responsáveis pelo cólon irritável. O cólon espástico é uma doença crônica difícil, com um grande custo social., que afeta a qualidade de vida de muita gente eestressada em sua vida diária.

## Capítulo 7

### Potenciais efeitos adversos e contraindicações da Ozonioterapia

Uma razão para a falta de popularidade da Ozonioterapia no campo da medicina é que a toxicidade de ozônio é considerada igual à do ERO. Na verdade, existem diferenças substanciais porque o ozônio é ocasional e pode ser controlado, enquanto a formação de ROS endógena dificilmente sofre alterações ao longo da vida (Farber et al., 1990; Ames et al., 1993).

A topografia da formação de ROS também é diferente: as mitocôndrias, que convertem a 95% do oxigênio inalado para água inofensiva, são a principal fonte de ROS. Pelo menos 3% do oxigênio é convertido para superóxido  $O_2^{\bullet -}$  (Richter et al., 1988, 1995, Halliwell, 1994). A dismutação de superóxido por SOD (Fridovich, 1995; Carlsson et al., 1995) é a fonte de  $H_2O_2$ , que, na presença de  $Fe_2^+$ , pode gerar os temidos radicais hidroxila inespecíficos,  $OH^{\bullet}$ . Halliwell (1994) estimou que um humano de 70 kg produz, pelo menos, 0,147 mol até 5 g/dia de superóxido, enquanto uma AHT MAIOR utilizando o máximo de 18 mg de ozônio produzirá uma quantidade equivalente a menos que 0,4% da produção mínima diária usual.

Outras pequenas quantidades de peróxido de hidrogênio são geradas diretamente por NADPH oxidases conhecidos como oxidoredutases (NOXS). Há agora um consenso de que a produção normal de peróxido de hidrogênio é essencial para a vida celular e o conceito mais atual é que "espécies reativas não são meros instrumentos de sofrimento celular, mas uma fisiologia celular normal" (Forman et al., 2008).

A formação de ROS endógeno em mitocôndrias explica danos ao DNA mitocondrial (Wiseman e Halliwell, 1996; Kowaltowski et al., 2009), o qual é oxidado cerca de 10 vezes mais do que o ADN nuclear (Richter et al., 1988) e persiste danificado (Yakes e Van\_Houten, 1997). Além disso, o ozônio atua a partir de fora do plasma, que tem uma grande reserva de antioxidantes. No entanto, a dose de ozônio adicionada para atingir um limiar, a fim de gerar  $H_2O_2$  suficiente, do qual apenas 10% passa do plasma para o citoplasma eritrocitário, onde vários efeitos biológicos são ativados. Para que o ozônio atue, precisamos induzir um pequeno estresse oxidativo, transitório, agudo e calculado, que será rapidamente corrigido pelo sistema antioxidante. Portanto, não há dúvida quanto à formação de radicais peróxido e hidroxialdeídos, enquanto os traços de  $OH^{\bullet}$  e de HOCl, se presente, são rapidamente neutralizados por uma variedade de antioxidantes no plasma. O que é importante notar é que todos os componentes celulares vitais, tais como enzimas, proteínas, DNA e RNA (Van der Zee et al., 1987; Stadtman e Oliver, 1991; Ames et al., 1993) estão seguros, graças à decomposição extracelular de ozônio.

Sabendo da importância das lesões oxidativas de DNA no envelhecimento e câncer, não é surpreendente que se pergunte frequentemente: o ozônio é mutagênico? A Ozonioterapia acelera o processo de envelhecimento?

Este assunto tem sido discutido, em detalhe, em vários artigos sobre estas questões (Bocci, 1996b, 2002, 2004). Os resultados são geralmente polêmicos, porque alguns autores (Goldstein e Balchum, 1967. Freeman et al., 1979),

trabalhando com eritrócitos lavados com solução salina ou culturas de tecidos sem antioxidantes, observaram danos ou mudanças mutagênicas nas células expostas ao ozônio durante certo período de tempo. Uma vez que as células são lavadas em uma solução salina livre de proteínas, eliminando, assim, antioxidantes, ambos, oxigênio e ozônio, se tornam citotóxicos, como Halliwell (2003) e Bocci (Larini et al., 2003; 2004) enfatizaram. Recentemente, Galleano e Puntarulo (1995), Leist et al., (1996), Matos et al., (2000) e Dumaswala et al., (2000) também demonstraram que o dano celular e a genotoxicidade, induzidos por saturação de peróxido de hidrogênio ou ferro ou armazenamento prolongado, são evitados se a cultura do tecido ou plasma contêm as quantidades fisiológicas adequadas de antioxidantes.

Victorin (1992), que analisou esta questão, declarou que "nenhum efeito citogenético tem sido relatado em células da medula óssea ou espermatozoides, e os poucos estudos experimentais e epidemiológicos com seres humanos não permitem chegar a uma conclusão a respeito dos efeitos citogenéticos do ozônio em linfócitos humanos." O estudo mais recente de Diaz et al., (1995) é interessante porque foi realizado em linfócitos de oito pacientes com retinite pigmentosa, antes e depois de 15 tratamentos com AHT MAIOR. Os resultados mostraram diferenças não significativas em trocas de cromátidas irmãs (ICH) frequência de micronúcleos e valores de índices de proliferação entre os linfócitos controle e os tratados com ozônio. Por outro lado, Diaz-Llera et al., (2002) demonstraram que uma hora de exposição de SANGUE DILUÍDO COM SOLUÇÃO SALINA a 5 mM de ozônio induz efeitos genotóxicos em leucócitos humanos. No entanto, durante a AHT MAIOR, TODO O SANGUE (200 ml) se expõe durante alguns minutos a uma dose de ozônio entre 0,08 e 0,33 mM e por esta concentração muito baixa se pode explicar porque o ozônio não é mutagênico na prática. Um estudo cuidadoso de Shinriki et al., (1998) demonstraram que não há dano celular na hemólise do sangue humano exposto a esta técnica terapêutica em concentrações de ozônio de até 100 µg/ml por ml de sangue (0,42 mM total). Greenberg (1993) publicou o dano em leucócitos com concentrações de 90 µg/ml e acima. Esta é a razão pela qual não aconselhamos concentrações superiores a 80 µg/ml em AHT Maior.

No que diz respeito à indução de tumores por via inalatória, foram gerados adenomas pulmonares na linha sensível A/J, mas não em ratinhos machos Swiss-Webster, após 4,5 meses de exposição inalatória a 0,8 ppm de ozônio (Last et al., 1987). Witschi et al., (1999) concluem que os estudos em animais não apoiam a idéia de que o ozônio seja um agente carcinogênico pulmonar.

Em resumo, aparentemente, a falta de antioxidantes naturais é crítica e é o que permite mudanças mutagênicas em células expostas ao ozônio *in vitro* durante um período de tempo. Após retirar o plasma, uma limpeza e uma suspensão em meio fisiológico, sem ou com uma pequena quantidade de antioxidantes, os eritrócitos e outras células (Larini e Bocci, 2004) tornam-se muito sensíveis mesmo a muito baixas concentrações de ozônio, tal como foi demonstrado por hemólise intensa ou apoptose. Em vez de estigmatizar a Ozonioterapia como tóxica, muitos dos artigos publicados (Goldstein e Balchum, 1967; Gooch et al., 1976; Freeman et al., 1979; Sato et al., 1999; Fukunaga et al., 1999) que foram realizados em condições artificiais, que não têm nada a ver com a Ozonioterapia, deveriam destacar a importância dos abundantes antioxidantes fisiológicos para evitar possíveis danos.

Outro erro que muitos cometem é basear suas afirmações sobre a

Ozonioterapia em experimentos realizados por biólogos celulares, (com frequência orientados para a toxicidade do ozônio ambiental e/ou para a grande indústria de purificação de água com ozônio) experimentos esses que consistem em manter culturas celulares sob constante exposição ao ozônio (Merz et al., 1975; Tarkington et al., 1994) a níveis muito baixos, mas por várias horas ou dias. A conclusão de que o ozônio é tóxico por vias terapêuticas, incluindo os níveis mínimos é errônea pelo fato de o nível de antioxidantes em cultura de tecidos ser muito menor do que no plasma e tecidos e, mais importante ainda, pela dose de ozônio acumulada por longo tempo. Embora já tenhamos mencionado este ponto, é oportuno recordar que a solubilidade do ozônio é muito alta: de acordo com a Lei de Henry, a cada segundo o ozônio é solubilizado em água, reage e desaparece, de modo que mais ozônio se solubilize e reaja, e este processo ocorre em alguns destes experimentos durante dias. Apesar de pequeno, este fornecimento contínuo de ozônio na cultura leva a um aumento na concentração de  $H_2O_2$ ,  $OH^\bullet$ , 4-HNE, etc, que é mantida e não se extingue, devido à escassez e o esgotamento dos poucos antioxidantes, e, assim, torna-se tóxico. Portanto, com muito tempo de exposição, mesmo as mais baixas concentrações de ozônio, é razoável admitir, podem ser tóxicas.

No entanto, nas técnicas habituais de aplicação, a exposição de sangue a oxigênio-ozônio é realizada com concentrações de ozônio dentro da janela terapêutica e termina após alguns poucos minutos. Nesta afirmação não incluímos o uso da solução salina ozonizada (técnica aplicada em alguns países da antiga União Soviética), o que é um erro, pela formação imediata de hipoclorito de sódio e ácido hipocloroso HOCl, a partir do íon cloreto. Um exemplo típico é representado pela infusão IV lenta de solução salina ozonizada: Foksinski et al., (1999) administraram em pacientes com doença arterial oclusiva periférica (EAOP) 500 ml de solução salina ozonizada, durante 1h sem levar em conta a grande quantidade formada de HOCl; foi observado um aumento de 450% de 8-hidroxi2desoxiguanosina (8-OHdG) no DNA de linfócitos isolados de alguns destes pacientes. O 8-OHdG é um marcador para a oxidação do DNA. Portanto, os resultados de Foksinski deveriam descartar (como esclarecido no Capítulo 6) o uso de soluções salinas ozonizadas. Em paralelo, os resultados terapêuticos do tratamento foram mínimos, em comparação com a técnica padrão usual de AHT MAIOR, o que não é surpreendente, visto que as doses de ozônio que podem ser administradas com a solução salina são extremamente baixas. Recordemos que a capacidade antioxidante normal do plasma presente na variabilidade individual é de cerca de 1,3 a 1,8 mM (Miller et al., 1993), somado ao alto teor de ácidos graxos insaturados em várias formas, tanto no sangue, como em quase todos os tecidos, que amplamente protegem as células do sangue e de outros tecidos durante a ozonização realizada dentro do intervalo terapêutico.

Fato é que após milhões de sessões de AHT MAIOR realizadas na Alemanha, Áustria, Suíça, Cuba, Itália e Espanha nunca foram relatados efeitos secundários agudos ou crônicos, e muito menos qualquer efeito sobre a incidência de câncer.

Em conclusão, embora o ozônio seja potencialmente tóxico e mutagênico, até agora, nossos dados experimentais e a evidência clínica não mostraram nenhum risco. Um estudo de tese de doutorado de Jacobs (Alemanha, 1982) examinou detalhadamente todos os possíveis efeitos negativos da Ozonioterapia em uma amostra de milhões de tratamentos. Apesar da famosa "toxicidade" do ozônio, aparentemente, apenas a incidência de 0,0007% é das mais baixas em medicina.

Quatro mortes por injeção direta de gás IV (atualmente proibida) foram incluídos nos dados, por isso, desde 1982, todas as Sociedades de Ozonioterapia têm desencorajado ou proibido esta via. Depois disso, apenas três casos ocorreram na Itália devido a esta má prática no início dos anos 90, por injeção direta de gás IV, realizadas em estética, aplicadas por profissional não qualificado, o que levou a uma proibição temporária neste país, até que a causa real das mortes foi esclarecida.

Em Cuba, a AHT MAIOR começou a ser aplicada em 1986 em um hospital público (Instituto de Angiologia e Cirurgia Vascular), e se espalhou, em poucos anos, a mais 15 hospitais, até 1993, quando o aprofundamento da crise econômica provocou a falta de material necessário, e a substituição gradual desta via pela insuflação retal (IR). Durante todos os anos em que se realizaram centenas de tratamentos diários, nunca nenhum acidente aconteceu, nem se registrou nenhum efeito secundário relevante. Deve-se salientar a experiência italiana: no Congresso de Verona (1999), o Dr. Giuseppe Amato, que sempre trabalhou em hospital em Conegliano (Veneto) e é um médico escrupuloso, relatou apenas efeitos secundários menores e sem seqüelas em milhares de pacientes tratados com ciclos de AHT MAIOR por vários anos. A experiência do Prof. Bocci no Hospital da Universidade de Siena também é significativa: entre 1995 e 2000, realizaram 8.000 AHT MAIOR em pacientes com degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e cerca de 100 pacientes com fibromiosite, assim como incontáveis aplicações tópicas em úlceras crônicas dos membros, aplicações diretas intradiscais e indiretas (infiltrações com oxigênio-ozônio nos músculos paravertebrais) em cerca de 80 pacientes com dor nas costas, etc.

Em primeiro lugar, sobre os efeitos secundários que podem ocorrer durante e após a AHT MAIOR, em poucos casos podem manifestar-se, quase exclusivamente no primeiro tratamento, efeitos transitórios leves semelhantes a uma hiperventilação (que pode causar formigamento, tonturas, sensações de calor ou frio, tensão muscular, fraqueza nas pernas, problemas de visão, palpitações, tremores, etc.), o que faz sentido, especialmente em pacientes que iniciam tratamento em condições em que o corpo se adaptou a uma condição crônica de má oxigenação. Sabe-se que a aplicação da AHT MAIOR implica um sensível aumento, embora transitório no início, de  $pO_2$  no sangue, e isso pode ser a causa mais provável de uma aparente hiperventilação, com os efeitos transitórios iniciais mencionados. Além disso, em alguns casos, pode ser atribuído um efeito semelhante a desmaios, possivelmente relacionado com ansiedade que o procedimento pode produzir em alguns pacientes, especialmente quando a extração e/ou retransfusão for bem demorada, quer devido a uma baixa permeabilidade da veia, ou também, a retirada de um grande volume de sangue, causando um efeito de hipovolemia.

Durante os anos 80 e início dos anos 90, se propagou na Itália e em algum outro país, o uso de bolsas macias de conservação de sangue para AHT MAIOR. Durante esse tempo, notificaram com mais frequência alguns efeitos secundários. Como exemplo, o grupo muito ativo do Prof. Bocci, da Universidade de Siena, relatou a incidência de efeitos como: sensação de formigamento dos lábios e língua, náuseas, distensão abdominal., gosto metálico estranho na boca, sensação de cansaço, etc. Ocorreram inclusive alguns episódios de *rash* cutâneo, prurido, náuseas, ondas de calor e leve hipotensão.

Em 2000 este mesmo grupo relatou pela primeira vez, que as bolsas macias de PVC para a preservação de sangue, sob a ação de ozônio podem liberar

partículas e aditivos, tais como estearato de zinco, etil de hexanoato-2-Zn, presentes em aditivos de bolsas de PVC, plastificantes como os ftalatos, unidos a lipoproteínas e outros componentes aditivos deste tipo de PVC, e que estes poderiam causar a maior parte dos efeitos secundários observados. Além disso, estas bolsas continham um excesso de CPD (citrato-fosfato-dextrosa) como anticoagulante, o qual, sendo excessivo, pode causar hipocalcemia leve transitória, com efeitos secundários indesejáveis. Depois disso, adotaram exclusivamente o uso de materiais homologados resistentes ao ozônio, e mais tarde relataram que:

“TODOS OS EFEITOS ADVERSOS MENCIONADOS ACIMA DESAPARECERAM E NÃO REAPARECERAM. ALÉM DISSO, A INTOLERÂNCIA-PSEUDO-ALÉRGICA NÃO FOI OBSERVADA NOVAMENTE”.

POUCO TEMPO DEPOIS, O USO DE BOLSAS DE PVC NÃO APROVADAS PARA AHT MAIOR FORAM PROIBIDAS PELO MINISTÉRIO DA SAÚDE NA ITÁLIA.

Por outro lado, o efeito mais comum entre os pacientes que receberam AHT MAIOR é uma sensação de bem-estar, que tende a aumentar com o progresso do tratamento.

Hoje em dia o ozônio é amplamente utilizado em patologias ortopédicas, particularmente, em caso de dores lombares, quando se injeta uma mistura gasosa de oxigênio-ozônio em pontos estratégicos detectáveis nos músculos paravertebrais dos pacientes. Bocci define o termo "acupuntura química" (Bocci, 1998a) e fornece uma explicação razoável de que o ozônio atua nos receptores locais e evoca uma resposta antinociceptiva rápida e eficaz (em aproximadamente 2/3 dos pacientes), através de mediadores químicos. Enquanto a injeção direta de oxigênio-ozônio intradiscal (para degradar os proteoglicanos em hérnia de disco) deve permanecer nas mãos de ortopedistas e neurocirurgiões, muitos outros médicos usam o método indireto ou infiltrações paravertebrais para tratamento da dor.

Imediatamente após a injeção IM, o ozônio é dissolvido localmente na água intersticial e gera vários ERO: se na primeira administração, a concentração de ozônio é de 20-25 µg/ml, o volume de gás é superior a 10 ml e se infiltra rapidamente, uma dor muito aguda pode causar hipertonia vagal (efeitos inotrópicos e cronotrópicos negativos) e o paciente pode sofrer desmaio transitório (bradicardia, hipotensão, sudorese, perda transitória da consciência, etc.). Portanto, é aconselhável praticar a "acupuntura química" com a precaução habitual e injetando o gás muito lentamente. É aconselhável lembrar o paciente de que a dor é suportável e que duram apenas alguns minutos. No geral., a melhora da dor nas costas excede a dor terapêutica transitória, de modo que o resultado é satisfatório. Com uma injeção adequada, o risco de embolia por oxigênio é zero e foi relatado somente um caso de hematoma subcutâneo (Fabris et al., 2001). A injeção direta intradiscal pode apresentar vários efeitos adversos leves e raramente uma dor de cabeça transitória.

Se a Ozonioterapia for realizada corretamente, não tende a causar problemas, mas o médico deve ser capaz de superar qualquer emergência com Suporte Vital Básico e ter nas mãos os meios que usualmente devem estar presentes nos consultórios (Cummins, 1994).

Por outro lado, a Ozonioterapia também tem efeitos secundários positivos gerais: cerca de 3/4 dos pacientes, particularmente aqueles que se sentem depressivos e astênicos, relatam uma sensação de bem estar e euforia depois de

alguns tratamentos, e referem sono mais reparador; também se observa, geralmente a partir uma certa idade, aumento da capacidade física, diminuição do estresse, melhora do apetite, etc.

## **7.1 Ozonioterapia e tratamentos convencionais**

Antes de comprometer-se com a Ozonioterapia, o médico tem que saber todo o histórico médico do paciente e os medicamentos em uso. Mattassi et al., (inédito), observaram uma hipotensão aguda súbita em pacientes tratados com inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA) e foram submetidos a rápida reinfusão de sangue ozonizado. Este efeito pode ser devido à ativação da cascata de calicreína-quinogênio, como relataram Shiba et al., (1997) e Abe et al., (1998). No entanto, a bradiquinina do plasma se degrada em minutos e uma reinfusão muito lenta reduz seu efeito adverso. Bocci confirmou as observações de Mattassi em dois pacientes, pelo qual se pode sugerir o seguinte nestes casos: em primeiro lugar, aconselhar o paciente a não ingerir os IECA no dia do tratamento da AHT MAIOR; em segundo lugar, infusão lenta de sangue e, terceiro, ter preparado um medicamento vasopressivo.

## **7.2 Contraindicações da Ozonioterapia**

Isto é especialmente importante para a terapia sistêmica em casos muito específicos, nos quais o risco da Ozonioterapia deve ser avaliado com vistas ao estado clínico do paciente. Além disso, as seguintes situações desencorajam ou limitam seu uso:

- (1) Pacientes com déficit importante de G6PD. O favismo é uma doença hemolítica observada em algumas pessoas que têm deficiência dessa enzima. Esta enzima supre equivalentes redutores cruciais capazes de eliminar a oxidação excessiva e a hemólise intensa (Capítulo 4). Além disso, Miller et al., (1993) depois de medir a capacidade antioxidante total em um grande número de europeus encontraram valores estáveis, que excluem uma depleção significativa durante a Ozonioterapia. Esta é a razão porque a Ozonioterapia sistêmica é muito bem tolerada pela imensa maioria dos pacientes (Bocci, 2007a);
- (2) Gravidez, especialmente na fase inicial., para excluir o risco mutagênico, embora, conforme vários estudos pré-clínicos em animais, este seja muito improvável;
- (3) Situações anormais de hipertireoidismo, trombocitopenia, distúrbios de coagulação não controlados e séria instabilidade cardiovascular;

Por último, mas não menos importante, há alguns anos, antes da necessidade de esclarecer a controvérsia sobre a toxicidade do ozônio, o Prof. Bocci publicou um artigo cujo nome era claro: "É verdade que o ozônio é sempre tóxico? O fim do dogma "(Bocci, 2006b). A forte reação duvidosa do ozônio e sua toxicidade

para o sistema respiratório durante a exposição prolongada ao ar poluído tinham ajudado a estabelecer o dogma de que o ozônio é sempre tóxico e, conseqüentemente, o seu uso tinha sido evitado na medicina. No entanto, durante os últimos 20 anos, uma compreensão clara da ação do ozônio em biologia e medicina esclareceu que tal dogma não é inteiramente verdade. Parecia essencial comparar a topografia, a anatomia e as características bioquímicas dos órgãos expostos ao ozônio frente a poderosa capacidade antioxidante do sangue exposto a uma dose pequena e precisa de ozônio durante alguns segundos. É suficiente lembrar que a área total do pulmão humano é de aproximadamente 70 m<sup>2</sup> e que a superfície do fluido de revestimento epitelial (FRE) é apenas uma película líquida de espessura de até 0,1 µm, de modo que o volume total está entre 17 e 20 ml, totalmente insuficiente para proteger os alvéolos da presença contínua de ar contaminado com ozônio.

*Tabela 7.1 - Uma comparação entre a composição do FRE e do sangue em uma pessoa normal de 70 Kg, mostrando diferenças importantes na capacidade antioxidante desses fluidos.*

	FRE	Sangue
Volume:	17-20 ml	Volume plasmático: 2,7 L Eritrócitos: 2,3 Kg
Proteínas totais:	7 mg/ml (total: 130 mg)	Proteínas plasmáticas totais: 75mg/ml (total: 202,5 g)
Albumina:	3,5 mg/ml (total: 63mg)	45 mg/ml (total: 121,5 g)
Transferrina:	0,3 mg/ml	2-4 mg/ml
Ceruloplasmina:	25 µg/ml	140-400 µg/ml
Lactoferrina:	0,5 µg/ml	?
GSH:	300-400 µM	no plasma: 3 µM no eritrócitos: 2,2 mM
Vitamina E:	2 µg/ml	10-20 µg/ml
Vitamina C:	3,5 µg/ml	9 µg/ml
Ácido úrico:	0,05 mg/ml	0,04 – 0,07 mg/ml
Glicose:	0,4 mg/ml	0,7-1,0 mg/ml
Bilirrubina total:	?	1,0 mg/dl
Na: 82; Cl: 84; K:	29 mM	Na: 139; Cl: 103; K: 4 mM
pH:	6,9	7,4

? se refere a "valor desconhecido"

Este gás não penetra nas células, mas dissolve-se facilmente e reage com a fina camada de água gerando moléculas tóxicas e causando inflamação, estabelecendo, assim, um ciclo vicioso, com danos locais e generalizados. Sem dúvida, o FRE, contendo apenas uma pequena quantidade de antioxidantes protetores, é incapaz de neutralizar o ozônio. (Tabela 7.1). Pelo contrário, tanto o sangue como os fluidos extravasculares são constituídos por grandes volumes de líquidos e contêm uma quantidade abundante de antioxidantes e ácidos graxos insaturados, suficientes para neutralizar uma pequena quantidade de ozônio. Também é instrutivo examinar a Fig. 7.1, que mostra como o sistema respiratório sujeito à inalação crônica de ozônio constantemente libera uma grande quantidade de compostos tóxicos no corpo e isso pode explicar por que a morbidade e

mortalidade têm aumentado em cidades americanas poluídas (Bell et al., 2005; Ruidavets et al., 2005; Jerrett et al., 2009). Este artigo publicado em Toxicologia e Farmacologia Aplicada recebeu muitos comentários positivos e espera-se que a questão da toxicidade do ozônio esteja definitivamente esclarecida.

## Capítulo 8

### O Ozônio é realmente uma “Droga Milagrosa”?

A Ozonioterapia tem um enorme potencial terapêutico que, até agora, tem passado despercebido, e foi até bloqueada pelas autoridades médicas do mundo. Entre as razões que determinaram a subvalorização de sua utilidade, o preconceito e a prevenção subjetiva contra ela, podem ser mencionadas a ignorância a respeito de suas características específicas e, provavelmente, a existência de grandes interesses comerciais farmacêuticos contra uma terapia que pode substituir muitos medicamentos amplamente consumidos. Além disso, também é verdade que durante muitos anos se vem desenvolvendo empiricamente, principalmente por médicos privados, carentes de recursos e financiamento para organizar estudos básicos. Felizmente, nas décadas de 80 e 90, algumas instituições públicas, como o Centro Nacional de Investigação Científica de Cuba e a Universidade de Siena, na Itália, começaram a realizar tais estudos que têm sido fundamentais para levar a Ozonioterapia a um nível mais científico. Também tem sido muito importante o trabalho crescente de várias associações médicas europeias de Ozonioterapia que têm promovido congressos, cursos e publicações, bem como numerosos trabalhos de pesquisas científicas, e conseguiram interesse de muitas outras instituições públicas na Europa.

Antes de examinarmos a utilidade do ozônio em várias doenças (Capítulo 9), deveríamos resumir a quantidade de efeitos biológicos induzidos pelo gás no corpo após estimulação do sangue, pele, tecido celular subcutâneo, músculos e intestino. O sangue é, obviamente, o melhor veículo para transmitir mensagens geradas pelo ozônio, mas os outros tecidos têm uma relevância cooperativa.

A Ozonioterapia não exclui a medicina ortodoxa, mas sim, em muitos casos se integra a ela. Há também doenças vasculares, tais como úlceras crônicas e feridas que nunca se curam, em que a Ozonioterapia é essencial., enquanto em outras doenças, a Ozonioterapia não só tem um papel útil, como também complementar.

A vasodilatação provocada por aumento da liberação de NO, nitrosotiois (Joyner e Dietz, 1997; Kashiba et al., 1999) e autacóides pode salvar áreas isquêmicas nos membros, coração, cérebro, rins e pulmões. Um aumento no fornecimento e liberação de oxigênio e nutrientes é crucial para a recuperação das células danificadas severamente, pelo qual uma intervenção oportuna com Ozonioterapia pode prevenir danos irreversíveis e uma possível morte.

A liberação de um número de fatores de crescimento a partir das plaquetas e das células endoteliais, pode ser responsável pela extraordinária rapidez com que a Ozonioterapia produz a cura de úlceras necróticas, particularmente melhorada pela

aplicação tópica de água e óleo ozonizados.

As propriedades desinfetantes do ozônio sobre a maioria dos patógenos são bem conhecidas, mas, nos países ocidentais, o conhecimento sobre a utilidade terapêutica do ozônio, especialmente em infecções crônicas (abscessos grandes, peritonite, osteomielite, etc.) ainda é mínimo. Quantos milhares de pacientes com choque séptico e tóxico poderiam ter sido salvos se os médicos tivessem aceitado tratá-los vigorosamente com Ozonioterapia?

Apesar de que, desde 1990, tenham sido relatados os primeiros efeitos do ozônio sobre a secreção de citocinas, tais como TNF-alfa (Bocci e Paulesu, 1990), ainda há muito trabalho a ser feito para compreender plenamente a capacidade de ativação e/ou efeito modulador do ozônio no sistema imunológico, após vários meses de terapia. No entanto, há alguma evidência de que a Ozonioterapia pode ser um potente adjuvante para pacientes com hepatite C, infecções de SIDA, múltiplas neoplasias, etc.

Nas palavras do Prof. Bocci e outros pesquisadores destacados no campo da Ozonioterapia, existem boas razões para afirmar que a Ozonioterapia prolongada pode provocar quatro fenômenos importantes:

- A) a indução de proteínas de choque oxidativo (PCO);
- B) o aumento da presença e da atividade de muitas enzimas antioxidantes;
- C) portanto, a redução, se não normalização, do estresse oxidativo, e
- D) a provável liberação de células-tronco da medula óssea (CEMO).

Com os conhecimentos biológicos atuais, estas não são ideias absurdas.

Com respeito aos pontos (A) e (B), a importância teleológica das PCO parece bem demonstrada em bactérias, fungos, plantas e mamíferos. Estes resultados são realmente fascinantes (Jolly e Morimoto, 2000).

Qualquer mudança no ambiente externo ou no nosso ambiente interno afeta a homeostase celular, mas se o estresse é tolerável ou gradativo em intensidade, a célula pode se adaptar e sobreviver. Se é demasiado violento, a célula programa a sua própria morte, ou apoptose (Jacobson, 1996). O grande número de diferentes tipos de estresse inclui a hipertermia, hiperóxia, hipoxia, isquemia, produção excessiva de ERO e LOPs, metais pesados, etanol, hipoglicemia, alterações no pH, infecções virais, bacterianas e parasitárias, antibióticos, malignidade, radiação, inibidores metabólicos, análogos de aminoácidos e, muito provavelmente, estresse emocional e distúrbios hormonais. Obviamente o OZÔNIO DEVE SER INCLUÍDO: as proteínas de estresse térmico (HSP70) se manifestam após a inalação de ozônio (Su e Gordon, 1997) e uma atenuação da inflamação induzida pelo ozônio tem sido documentada após exposição diária repetidamente (Christian et al., 1998). Em relação aos diversos tipos de estresse, a célula provavelmente aumenta a síntese de cem ou mais novas proteínas como os HSPs (proteínas de choque térmico), as proteínas reguladas por glicose (GRPs) e PCO, que permitem a célula resistir contra tipos de estresse novos e mais intensos. Observou-se que no campo das citocinas, existe uma aparente redundância, com o objetivo final de estabelecer uma "tolerância ao estresse" e assegurar a sobrevivência celular. Paracelso (1493-1541)

tinha essa intuição e, em "natureza da doença", escreveu que "o corpo possui a arte de se destruir, mas também de recuperar a saúde". O enfoque farmacológico moderno, apesar de útil, pode ser muito restrito.

O futuro da Ozonioterapia se apoia, em parte, nas PCO, mas será necessário demonstrar da melhor forma possível sua relevância e sua amplitude. O conceito é antigo e foi denominado de diferentes maneiras, porque foi observado em várias condições patológicas: Murry et al., (1986) foram os pioneiros no conceito de "pré-condicionamento isquêmico" para o coração, que após sofrer um período breve e não letal de isquemia tornou-se mais resistente ao infarto frente a um subsequente insulto isquêmico. Goldman (1996) introduziu o termo "hormesis" para explicar o "efeito benéfico de uma exposição de baixa intensidade de um agente que é prejudicial em intensidade elevada", por exemplo: doses baixas de radiação induzem uma resposta adaptativa para altas doses em linfócitos humanos (Olivieri et al., 1984; Wolff, 1996). Calabrese e Baldwin (2001) e Calabrese (2002, 2009) têm apresentado exemplos numerosos de respostas estimulantes consequentes a estímulos abaixo do limiar tóxico. Este conceito reflete o pensamento de Aristóteles (384-322 aC): "princípio da quantidade mínima, até o poder máximo", ou o que é o mesmo: uma quantidade mínima de droga (no nosso caso o ozônio) mostra efeitos potentes.

Uma espécie de "pré-condicionamento oxidativo" foi alcançado mediante a isquemia quente ou hipertermia (Kume et al., 1996, Yamamoto et al., 2000), isquemia transitória da extremidade (Sun et al., 1999), e AHT MAIOR (Bocci, 1996a, c). Numerosos estudos controlados com ozônio por via IR e IP (intraperitoneal) em animais, os quais são muito mais simples e sem traumas (Leon et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez, 2004; Madej et al., 2007) conseguiram demonstrar este pré-condicionamento oxidativo induzido pelo ozônio, em uma escala muito maior, protegendo vários órgãos, frente a danos de diversos tipos. Estamos diante de um verdadeiro paradoxo, pois o ozônio, "gás tóxico" pode tornar-se uma terapia útil, capaz de prevenir e/ou reajustar um estado crônico de estresse oxidativo, que de outra forma poderia ser irreversível e fatal.,

Há diversas patologias, tais como arteriosclerose, diabetes, isquemia, hiperhomocisteinemia, neurodegeneração, nefropatias, infecções crônicas virais, doenças autoimunes e o câncer, em que existe um desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes, que está firmemente demonstrado, ocasionando morte mais ou menos rápida. Atualmente também a epidemia de obesidade é uma preocupação como real fator de risco para a saúde.

Como a medicina moderna tenta corrigir isso?

Vamos considerar primeiramente as estratégias da nossa medicina para reduzir o estresse oxidativo nestas doenças (Bocci et al., 2009). Por causa de uma variedade de distúrbios metabólicos, objetivamos:

- (1) Inibir a xantina-oxidase para reduzir a formação de superóxidos e de peróxido de hidrogênio usando o alopurinol (Farquharson et al., 2002);
- (2) Inibir a NADP (P) H-oxidase (Lambeth, 2004): A ação direta continua a ser um problema farmacológico por resolver e além disso há um risco grande de infecção bacteriana;

- (3) Inibir o sistema renina-angiotensina: Os inibidores da enzima conversora da angiotensina (ECA) e os antagonistas do receptor angiotensina-II são medicamentos usados amplamente para reduzir a pressão arterial e, interessantemente, também podem reduzir o estresse oxidativo através da inibição da NAD (P) H oxidase. Além disso, inibidores de canais de cálcio, os inibidores beta e alfa-adrenérgicos são anti-hipertensivos, mas não melhoram a capacidade antioxidante dos pacientes (Baykal et al., 2003). Diuréticos podem ser um auxílio, embora transitório;
- (4) A inibição de 3-hidroxi-3-metilglutaril (HMG-CoA) redutase, enzima chave na biossíntese do colesterol: Existem hoje no mercado estatinas hidrofílicas e lipofílicas capazes de reduzir os níveis de colesterol no soro, aumentar o número de receptores de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e de modular mecanismos psicopatológicos em pacientes com síndromes coronárias agudas (Spencer et al., 2004). As estatinas têm mostrado ser muito mais que meros agentes redutores de lipídeos (Liao, 2002), porque devido ao bloqueio da síntese de intermediários isoprenóides produzem vários efeitos críticos, tais como a inibição de NAD (P) H-oxidase, aumento da expressão de NO-sintase endotelial e do ativador do plasminogênio presentes em tecidos, ao passo que a expressão do inibidor do ativador de plasminogênio e a endotelina-1 são inibidos. Portanto, a multiplicidade de efeitos hepáticos e extra-hepáticos, reduzindo a inflamação, a progressão do tumor (Katano et al., 2004) e uma reatividade imunológica excessiva (Vollmer et al., 2004) promoveram o nível das estatinas a "drogas milagrosas" comparáveis à penicilina (Roberts, 1996). As estatinas também parecem ser capazes de mobilizar as células tronco estaminais da medula óssea (Llevadot et al., 2001) e virtualmente todos os meses um novo efeito benéfico é encontrado. No entanto, mesmo com estatinas, existem dois problemas: um é o custo, o que limita a sua utilização a uma minoria de pacientes (Topol, 2004) e o segundo é o risco de rabiomiólise. O risco é muito baixo, mas altas doses de estatinas podem causar esta doença perigosa. A fim de reduzir o risco e manter a vantagem de baixos níveis de LDL, foi sugerido que se associe a ezetimiba oral com apenas 20-40 mg diários de estatinas. A ezetimiba inibe a absorção intestinal de colesterol, mas também esta combinação não parece inteiramente segura porque pode ser um estímulo pró carcinogênico e, por conseguinte, a última sugestão é utilizar niacina em vez de ezetimiba;
- (5) Inibir o excesso de produção de oxidantes pela administração de vitaminas antioxidantes ou uma "dieta saudável" rica em polifenóis e flavonóides (vinho tinto, azeite, etc.): Sabe-se que a administração de compostos que contêm grupos tiol (NAC e o ácido alfa-lipóico) podem inibir a oxidação de LDL. Esta parece ser uma solução simples, mas a administração de antioxidantes realmente funciona? Este é um tema recorrente e "na moda", muitas vezes tratado por vitaminologistas e curandeiros, que podem envenenar os pacientes com megadoses de selênio, zinco, ferro e vitaminas A e E. Os cientistas de referência têm questionado se a suplementação de antioxidantes (terapia antioxidante, TA) reduz o dano oxidativo em humanos. A conclusão é que uma dose equilibrada pode ser essencial durante o crescimento e é útil em

condições de aumento do estresse oxidativo, mas há pouca evidência de que pode haver uma cura definitiva (Hennekens et al., 1994; Packer et al., 1997; Zino et al., 1997; Clinton, 1998; Halliwell, 1999a, b; McCall e Frei, 1999; Pryor, 2000; Polidori et al., 2001, 2004, Bender, 2002; Vivekananthan et al., 2003; Seifried et al., 2003; Ames, 2004; Victor et al., 2006). Uma quantidade excessiva pode modular a síntese de HSPs e efetivamente reduzir a síntese de HO-1 (Peng et al., 2000). Se tratarmos o problema realisticamente, temos de considerar:

- A incerteza da absorção intestinal;
- A variabilidade individual de metabolismo e excreção;
- A absorção variável e geralmente reduzida de antioxidantes pelas células;
- Possível redução da síntese de GSH (observada na infecção pelo HIV);
- A toxicidade potencial de doses excessivas;
- A incapacidade de antioxidantes de estimular a síntese de enzimas antioxidantes;
- A incapacidade de antioxidantes de inibir este processo.

Portanto, o problema da suplementação de antioxidantes deve ser seriamente considerado e, embora, ela possa ser útil, se a quantidade correta e equilibrada for administrada, não faz milagres;

- (6) Inibir a produção de peróxidos por administração a longo prazo de L-arginina (Enwonwu, 1989; Morris et al., 2000), que é o substrato para a síntese de NO;
- (7) Inibir a produção excessiva de superóxido por miméticos da SOD (Fontana et al., 1999), porque a administração de uma enzima exógena, incapaz de entrar na célula, não tem tido sucesso: A indução da SOD por transferência genética ainda é uma possibilidade difícil de concretizar;
- (8) Inibir o aumento nos níveis de homocisteína no plasma, porque a auto-oxidação do seu grupo sulfidrílico gera superóxidos e peróxido de hidrogênio, o que pode tornar-se citotóxico para o endotélio. A hiperhomocisteinemia pode ser controlada por administração de ácido fólico mais vitaminas B6 e B12, (Das, 2003) e por meio do aumento do nível plasmático de adenosina (Riksen et al., 2003);
- (9) Inibir a agregação plaquetária com aspirina, o clopidogrel, a ticlopidina ou outros semelhantes;
- (10) Inibir a síntese de autacóides pró-inflamatórios por uma administração diária (2 g) de AGS n-3 encontrados em óleo de peixe, que promovem a geração de PGs da Série 3 e LTs da série 5, que são anti-inflamatórias (Belluzi et al., 1996, Mori et al., 2003);
- (11) Inibir a hiperglicemia por regulação cuidadosa da ingestão calórica com abundância de legumes frescos e adotando um estilo de vida correto sem fumar, e tendo tempo para pelo menos 30 minutos diários de exercício

moderado (Fontana et al., 2004);

- (12) Inibir a inflamação usando corticóides e anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs): Ambos os tipos de drogas podem ser utilizadas apenas por um tempo limitado, por causa dos seus efeitos adversos usuais;
- (13) Inibir a formação de produtos finais de glicação avançada (AGE, em inglês): Estes componentes tóxicos, depositados em paredes de artérias, podem induzir um eestresse oxidativo e acelerar a progressão da diabetes tipo 2, da aterosclerose, de danos renais e na retina. A hiperglicemia, a obesidade e um estilo de vida incorreto precisam ser controlados intensivamente.

Resumimos as estratégias terapêuticas mais relevantes que a nossa medicina oferece para reduzir o eestresse oxidativo: com exceção da estatina e de agentes anti-hipertensivos, o uso de ambos separadamente faz pouco sentido e não pode resolver o problema. Mesmo que implique em tomar seis ou mais comprimidos, a longo prazo esta terapia “cocktail” é recomendada, apesar de seu custo. Se o paciente continua o tratamento, a evidência atual é que a morbidade e mortalidade de pacientes realmente doentes é significativamente reduzida, sugerindo que este tratamento multiforme pode retardar a involução.

Tem sentido algum recomendar a Ozonioterapia? Ozônio talvez não possa eliminar as causas destas doenças, mas é bastante capaz de reverter o eestresse oxidativo crônico.

O ozônio sozinho consegue fazer tanto quanto todos os tratamentos acima mencionados? Até agora tem sido capaz de reduzir o estresse oxidativo em todos os estudos realizados em diferentes patologias, e, pelo menos inicialmente, parece sensato considerar a Ozonioterapia como um apoio integrativo.

Um tratamento transitório com ozônio, com estresse oxidativo calculado, resulta numa espécie de "leve choque terapêutico" para o organismo em crise. O ozônio causa esse choque porque gera um número de mensageiros que podem chegar a todas as células no corpo. Como pode ser isso? Primeiro, é necessário distinguir entre os tratamentos locais e parenterais. Neste último, a AHT MAIOR, é razoavelmente exata, e tanto o peróxido de hidrogênio e especialmente LOPs gerados, com uma meia-vida mais longa, são os agentes mais importantes dos efeitos do ozônio. Por isso, durante e imediatamente após tais tratamentos, as células do corpo receberão um novo pulso de LDPs e autacóides gerados. Como mencionado no Capítulo 4, estes compostos são heterogêneos e sofrem diluição e metabolismo (Vasiliou et al., 2000). Acima de um determinado nível podem ser citotóxicos, enquanto que em níveis baixos, nanomolar ou micromolar, (que são fornecidos pelo ozônio) podem reagir com mensageiros fisiológicos, interagindo com várias enzimas celulares (Forman et al., 2008) o que é uma razão muito boa para a Ozonioterapia começar sempre na parte inferior da "janela terapêutica", e gradualmente ir aumentando. Uma maneira possível para interromper a "anergia" da célula devido ao estresse oxidativo crônico pode ser estimulação adequada, não tóxica, da célula por algumas moléculas LOPs geradas pelo ozônio, de modo a conseguir a recuperação funcional., como foi observado em estudos publicados sobre doenças degenerativas do sistema nervoso central (SNC), bem como na

recuperação de áreas de "penumbra", após acidentes vasculares cerebrais. Se a célula é capaz de transduzir a mensagem ao núcleo, através da fosforilação de quinases e semelhantes, isso pode ser o sinal de alarme para reativar a expressão do gene, provocando assim a síntese de enzimas e antioxidantes OSP. Enquanto altas concentrações de LDPs ou uma doença muito avançada terminarem com a morte celular, um estímulo baixo e gradual como esse pode favorecer o reequilíbrio da balança oxidante-antioxidante. Se a idéia estiver correta, as concentrações de ozônio devem começar logo acima do limiar terapêutico. As experiências laboratoriais com animais (Leon et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Stadlbauer et al., 2008) tratadas diariamente com IR ou insuflação intraperitoneal., com um tratamento controlado de ozônio demonstraram um surpreendente adaptação ao estresse oxidativo crônico com consequente resistência à isquemia prolongada e aos compostos tóxicos, ou uma menor rejeição de aloenxertos.

Na Figura. 8.2 a resposta de um paciente com a degeneração macular relacionada à idade (DMRI) a uma única AHT MAIOR, e subsequente ciclo de tratamento é observada.

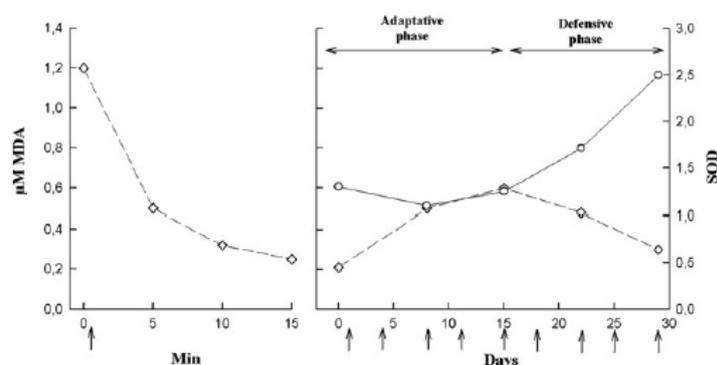


Fig. 8.2 - A resposta de um paciente com degeneração macular relacionada à idade (DMRI) a somente uma infusão (gráfico a esquerda) ou a infusões intermitentes (gráfico a direita) de AHT MAIOR (300 g de sangue tratados com uma dose de ozônio de 21 mg/sessão). MDA, malondialdeído (♦) e Mn-SOD (U/ml plasma) são apresentados nas ordenadas. As flechas indicam o momento do tratamento. Bocci, 2002.

Quais proteínas e enzimas são importantes na correção do estresse oxidativo crônico? O problema tem sido extensivamente investigado nos últimos 15 anos, e tem sido demonstrado que a hiperóxia e o ERO podem induzir níveis elevados de SODs, GSH-Pxs, GSSGR e catalase (Heng et al., 1987; Rahman et al., 1991; Shull et al., 1991; Doroshov, 1995; Hernandez et al., 1995; Bocci, 1996a; Tacchini et al., 1996; Sagara et al., 1998; Wang et al., 1998; Barber et al., 1999; Chen et al., 2000; Csonka et al., 2000). Todos estes dados têm sido encorajadores em demonstrar os efeitos da Ozonioterapia.

Continua a investigação dos níveis de enzimas antioxidantes, G-6PD (Puskas et al., 2000) e algumas proteínas de choque oxidativo induzíveis por peróxido de hidrogênio e ozônio (Jornot et al., 1991; Cardile et al., 1995; Kiang e Tsokos, 1998), antes, durante e após a Ozonioterapia.

É interessante analisar o padrão de HO-1 (ou HSP-32), porque mesmo após uma exposição apenas leve do sangue ao ozônio (40  $\mu\text{g/ml}$ ) parece liberar traços de

grupos hemo. Esta decomposição gera moléculas benéficas, tais como traços de CO atuando sinergicamente com o NO como vasodilatador, a bilirrubina atuando como um antioxidante lipofílico (Abraham et al., 1996), bem como o Fe<sup>2+</sup> livre, que, se não for rapidamente quelado, pode agir como um pró-oxidante (Dong et al., 2000; Nath et al., 2000; e Tyrrell Ryter, 2000; Snyder e Barañano, 2001). Em suma, o HO-1 está se tornando a enzima mais interessante (Galbraith, 1999; Zuckerbraun e Billiar de 2003; Bocci et al., 2007), envolvida na proteção da pele (Tyrrell e Reeve, 1999), na prevenção da toxicidade hemática e supersaturação de ferro (Nath et al., 2000), na supressão da apoptose das células endoteliais (Brouard et al., 2000), no bloqueio do crescimento de células de músculo liso vascular (Durante, 2003), na rejeição de transplante de coração em ratos (Sato et al., 2001), e na proteção do coração, fígado, rins e pulmões contra a isquemia / lesão de reperfusão e hiperóxia (Csonka et al., 1999; Amersi et al., 1999; Otterbein, 1999; Miyazono et al., 2002; Choi et al., 2003; Wagner et al., 2003; Seixas et al., 2009).

Um regime de suplementação antioxidante com NAC pode ser mantido durante a terapia com ozônio, mas é muito provável que, a não ser que sejamos capazes de aumentar ativamente a capacidade antioxidante enzimática intracelular, mesmo se fluidos corporais estiverem saturados de antioxidantes exógenos, não haja esperança de reabilitar a célula e alcançar um resultado terapêutico.

O ozônio pode ser uma boa ou até melhor alternativa que os tratamentos acima mencionados, e o que seria imprescindível é comparar os diferentes tratamentos em um ensaio clínico randomizado. Esta tarefa é certamente impossível com os nossos recursos e a medicina convencional não irá envolver-se com isto, pois com estatinas há um "negócio" colossal. Por agora e para o bem do paciente, podemos ao menos sugerir que se aceite a terapia usual, associada com a Ozonioterapia menos invasiva, para um efeito máximo com desconforto mínimo.

O ponto final é a excitante possibilidade de melhorar a oxigenação de tecidos isquêmicos, promovendo a angiogênese. Demonstrou-se que as células tronco mononucleares autólogas da medula óssea (BMMNCs) e/ou células progenitoras endoteliais (CPE) mononucleares podem desempenhar um papel na aceleração da angiogênese do miocárdio humano, assim melhorando a perfusão da zona de infarto e isso levar à regeneração da área (Strauer et al., 2001; Orlic et al., 2001; e Schwartz Curfman, 2002; Aicher et al., 2003).

Devemos primeiro considerar como a medicina convencional tem tentado resolver este problema. Duas abordagens foram utilizadas: A primeira envolve a obtenção e o transplante autólogo de BMMNCs via intracoronária ou pelas vias transendocárdicas. A invasividade do método pode limitar a sua aplicação clínica. O segundo método baseia-se no lançamento das células tronco na circulação após a administração de fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF). Após a extração de células tronco hematopoiéticas enriquecidas (utilizando CD34 como um marcador para as CM) da circulação, elas são infundidas por via intracoronária. Este método é relativamente prático, mas existe o risco de reestenose (Kang et al., 2004). Portanto, apesar de ambas as vias melhorarem a perfusão miocárdica, não parecem ser procedimentos ideais.

A Ozonioterapia pode ser vantajosa porque melhora rapidamente a oxigenação e metabolismo dos tecidos isquêmicos, podendo mobilizar CM endógenas, evitando a extração e transfusão de células. A hipótese de que a

Ozonioterapia pode aumentar a liberação de CM da medula óssea foi proposta há algum tempo (Bocci, 2002) para explicar a surpreendente remissão a longo prazo em dois dos sete pacientes cardiopatas após tratamento com ozônio quando o efeito terapêutico normalmente dura apenas alguns meses. Era óbvio imaginar que algum tipo de cura ou reparação do miocárdio tenha podido ocorrer se as BMMNCs chegaram à zona de infarto e regeneraram, pelo menos parcialmente, o miocárdio necrótico, mas infelizmente não foi possível completar uma avaliação adequada.

Mesmo que a localização das CM permaneça elusiva, parece que cada órgão (fígado, cérebro, músculo esquelético, pele, endotélio e também câncer) dotou-se destas células, mas o verdadeiro tesouro é, aparentemente, que a medula óssea contém aproximadamente 1% de células hematopoiéticas e cerca de 0,05% de células tronco mesenquimais (MSCs). Foi demonstrado (Barakat et al., 2004) que em ratas, após injeção intraperitoneal de ozônio em concentrações variadas (4, 40 e 75 µg/ml), pode-se conseguir a indução de neoangiogênese, tanto nos músculos esqueléticos como no miocárdio, com uma concentração média de ozônio. Se isto ocorre durante terapias prolongadas de ozônio ainda não foi determinado, mas é uma das possibilidades mais excitantes para investigar. Afinal., quase todos os dias observamos a rápida cicatrização de úlceras de pele em pacientes com isquemia crônica das extremidades submetidos à Ozonioterapia, fato que poderia espelhar a melhora cardíaca.

A idéia de que a Ozonioterapia pode mobilizar CMNM é baseada em alguns dados bioquímicos. Há vários anos foi mostrado que LOPs presentes no plasma humano ozonizado induzem a NO sintetase (NOS) em células endoteliais humanas e foi constatada uma liberação significativa de NO e nitrosothiois (Valacchi e Bocci, 2000). Estes compostos são de importância fundamental na fisiologia do leito vascular, porque melhoram a vasodilatação e inibem a agregação de plaquetas e leucócitos, e a proliferação celular muscular (Joyner e Dietz, 1997; Kashiba et al., 1999; Stamler, 2004). Aicher et al., (2003) acrescentaram a crucial descoberta que a indução da NOs endotelial é essencial para a neovascularização porque NO ativa a matriz metaloproteinase-9 (MMP-9), indispensável para a mobilização das CM.

Em conclusão, este processo pode ser diferenciado em quatro fases:

- (1) MOBILIZAÇÃO OU LIBERAÇÃO de células tronco da medula óssea, células tronco da medula e células progenitoras endoteliais: A reinfusão de sangue ozonizado representa um estresse agudo e precisamente calculado, capaz de estimular a medula óssea pelos LDPs e possíveis autacóides, citocinas e fatores de crescimento. A mudança súbita homeostática no microambiente da medula óssea causada por estes mensageiros (particularmente NO) pode ser uma forma eficaz de melhorar a produção de células tronco;
- (2) A VIAGEM AO OBJETIVO: células tronco da medula óssea, células tronco da medula e células progenitoras endoteliais circulantes não se perdem no vasto leito vascular, mas assentam-se em uma área danificada que é provavelmente uma área isquêmica e / ou que tenha sofrido um infarto;
- (3) O ASSENTAMENTO: Pode ser determinado por mecanismos de atração química, pois os tecidos danificados podem liberar fatores quimioatrativos

ou expressar novos receptores, aos quais as células tronco podem ser acopladas;

- (4) INCORPORAÇÃO E REPARAÇÃO TECIDUAL: Após algum tempo, a proliferação e diferenciação apropriada de células tronco pode ocorrer, graças a uma oxigenação melhor e à presença de fatores de crescimento no microambiente. Se isso for correto, mesmo um pequeno número de células da medula pode eventualmente ser suficiente para reconstruir uma zona de infarto.

Embora os seres humanos não tenham a capacidade de regenerar órgãos, exceto o fígado, a atual técnica de ponta é encorajadora para o coração, bem como pode evitar a amputação de membros em alguns pacientes. Um resultado surpreendente observado em um paciente em estágio 4 de arteriopatia obliterante periférica, após a Ozonioterapia, levou-nos a pensar que só a nova formação de uma rede circulatória eficiente permitiu a recuperação de um dano aparentemente irreversível. No entanto, os pacientes em sério perigo, com síndrome dismetabólica avançada, parecem incapazes de se recuperar. Há pouca dúvida de que, juntamente com um bom *timing* e boa eficácia da terapia, fatores genéticos, metabólicos e neuroendócrinos desempenham um papel importante no resultado final., porque apenas uma minoria dos pacientes no estágio 4 têm uma resposta positiva. Os resultados obtidos com a infusão de prostanóides são inferiores aos da Ozonioterapia (Di Paolo et al., 2005), sugerindo que o ozônio deve ser analisado em profundidade. Não será fácil, mas valeria a pena investigar com análise instrumental refinada, se o processo de reparação de fato acontece em pacientes vasculopatas tratados com Ozonioterapia. Se a Ozonioterapia realmente oferece uma vantagem sobre a administração de células-tronco produzidas por vias especiais (Strauer e Kornowski, 2003), isso deve ser seriamente investigado, porque poderíamos ajudar mais facilmente e mais economicamente a um maior número de pacientes críticos.

Uma última observação sobre a duração do tratamento com ozônio e se este consegue a "cura" da doença. Por volta do ano 80 DC, Tácito escreveu "*nature infirmitatis humanae tardiora sunt remedia quam mala*" ou "com base na natureza da fragilidade humana, os remédios são mais lentos que a doença." Isso ainda é verdade hoje para medicina tradicional e para a Ozonioterapia. Esta abordagem complementar requer algum tempo para se perceber a melhora real., e muito depende da condição do paciente, idade, tipo de doença, e qualidade de tratamento, bem como da capacidade do médico. Além disso, a Ozonioterapia é muito frequentemente aplicada em casos de doenças consideradas incuráveis, e é exatamente por isso, pelas frustrações que já sofreram com a medicina convencional., que muitos pacientes vêm para a Ozonioterapia. Em muitos casos, o ozônio pode, pelo menos, corrigir ou bloquear a progressão de doenças, e em muitos casos este benefício pode ser mantido por muito tempo por meio de uma terapia de manutenção.

## Capítulo 9

### As aplicações clínicas da Ozonioterapia

Os resultados clínicos até agora disponíveis mostram que a Ozonioterapia é muitas vezes tão ou mais útil que o tratamento usual numa PRIMEIRA categoria de doenças, tais como:

- 1) Osteomielite, enfisema pleural., abscessos e fístulas, feridas infectadas, úlceras de pressão, úlceras crônicas, pé diabético e queimaduras (Payr, 1935; Aubourg, 1940, Rokitansky, 1982; Miroshin e Kontorshikova, 1995; Werkmeister, 1995; Shaschova et al., 1995; Filippi e Kirschner, 1995; Wasser, 1995a; Bulinin et al., 1995; Kudravcev et al., 1995; Kasumjan et al., 1995; Steinhart et al., 1999; Valacchi et al., 2005.; Travagli et al., 2009a; Menendez et al., 2010).
- 2) Doenças isquêmicas avançadas (isquemia de membros inferiores e do coração, sequelas cardíacas ou de acidente vascular cerebral., possivelmente um ataque cardíaco, quando os pacientes chegam tarde demais para trombólise) (Rokitansky, 1981, 1982; Romero et al., 1988; Amato, 2000; Giunta et al., 2001; Tylicki et al., 2001, 2003, 2004a, b; Biedunkiewicz et al., 2004; Di Paolo et al., 2005; Clavo et al., 2011).
- 3) Degeneração macular senil (forma atrófica) porque a oftalmologia ainda não tem um tratamento significativo (Sanseverino Riva et al., 1990; Bocci, 2002; Borrelli e Bocci, 2013).
- 4) Doenças neurodegenerativas, tais como disfunção do nervo óptico, retinite pigmentosa, glaucoma primário de ângulo aberto, demências senis, inclusive doença de Alzheimer, doença cerebrovascular isquêmica, síndrome cócleo-vestibular, etc. (Rodriguez, Garcia, et al., 1998; Rodriguez Menendez, Devesa, et al., 1998; Rodriguez Menendez, Garcia, et al., 1998; Copello et al., 2003; Copello et al., 2013.).
- 5) Doenças inflamatórias e degenerativas ortopédicas (osteoartrite, etc.) (Riva Sanseverino, 1989; Dick, 1989; Siemsen, 1995; Bocci et al., 2000; Jucopilla et al., 2000; Alexander et al., 2000, 2002; Bonetti et al., 2001; Fabris et al., 2001; Petralia et al., 2001; Tabaracci, 2001; Andreula et al., 2003).
- 6) Síndrome da fadiga crônica e fibromialgia (Cosentino et al., 2000; Loconte, 2000; Borrelli e Bocci, 2002; Hidalgo-Tallon et al., 2012).
- 7) Lesões por cárie em raízes dentárias, particularmente em crianças (Baysan et al., 2000).
- 8) Estomatologia: infecções crônicas e recorrentes na cavidade oral (Lynch, 2004).

Além disso, numa SEGUNDA categoria de doenças incluindo:

- 1) Doenças infecciosas agudas e crônicas, especialmente aquelas que envolvem as bactérias, vírus e fungos, quimioterapia e antibióticos resistentes (*hepatite, HIV-AIDS, infecções por herpes zoster e herpes simples, infecções por papilomavírus, onicomicose, candidíase, giardíase e criptosporidiose*) – a Ozonioterapia parece ser um suporte útil (Mattassi et al., 1985; Paulesu e Bocci, 1990; Konrad, 1995, 2001; Bocci et al., 1998c; Amato et al., 2000; Mawsouf et al., 2004; Bocci et al., 2009b).
- 2) Na fadiga por câncer e na tolerância aos quimioterápicos, a Ozonioterapia, associada a tratamentos habituais, demonstrou (Clavo, 2004b) sua utilidade ao melhorar a qualidade de vida e diminuir os efeitos adversos associados à quimio e radioterapia.

Finalmente, há uma TERCEIRA categoria de doenças graves, tais como:

- 1) Doenças autoimunes (doenças reumáticas, psoríase, doença de Crohn, etc.) (Menendez et al., 1989; D'Ambrosi, 2002b; Esperanza, S., Ortellado, M., 2011; Molinari et al., 2014.).
- 2) A demência senil (Rodriguez et al., 1998).
- 3) Doença Pulmonar (enfisema, asma, doença pulmonar obstrutiva crônica, fibrose pulmonar idiopática e síndrome de dificuldade respiratória aguda) (Hernandez et al., 2005; Bocci, 2007b).
- 4) Doenças de pele (psoríase, síndrome de Stevens-Johnson e dermatite atópica) (Abeck e Plötz, 2008; Borrelli et al., 2008; Izzo, 2008; Menendez et al., 2010; Siritto, 2006; Travagli et al., 2009a, b, 2010c; Zamora et al., 2008, Re et al., 2015).
- 5) Câncer metastático (Akbarov et al., 2010).
- 6) Sepsis grave e disfunção de múltiplos órgãos (Bocci e Brito, 2006).

Em que a combinação de tratamentos ortodoxos e Ozonioterapia é útil, pelo menos teoricamente embora faltem ainda mais testes clínicos oficiais, que poderiam ser realizados promovendo a colaboração entre sociedades científicas de Ozonioterapia e órgãos da Saúde Pública ou instituições privadas sem fins lucrativos. Se a Ozonioterapia, com as vantagens de baixo custo e ausência de efeitos adversos, pode igualar a eficácia de tratamentos convencionais atuais, ela merece ser mais investigada. Devemos ter em mente que todos os resultados, a evidência clínica e pré-clínica, raciocínio e argumentos foram desenvolvidos com esforços louváveis, apesar da falta de patrocinadores específicos. Ironicamente, os países em desenvolvimento, como Cuba e China, com menores orçamentos da saúde têm feito e continuam fazendo inúmeros estudos clínicos que fornecem informações valiosas sobre o uso de Ozonioterapia.

As autoridades nacionais de saúde, que devem enfrentar continuamente os crescentes custos de cuidados médicos e as limitações de seus orçamentos poderia

obter uma vantagem econômica e assistencial muito importante, se a Ozonioterapia for estendida e organizada de forma sistemática em todos os hospitais públicos. Apesar de não dispormos de dados suficientes para quantificá-lo, estamos convencidos de que os benefícios da Ozonioterapia, com o seu baixo custo adicional., podem proporcionar redução muito importante no consumo de medicamentos, podem evitar procedimentos muito dispendiosos, cirúrgicos e outros, podem reduzir períodos de recuperação e de absenteísmo por doença, melhorando a qualidade de vida, etc., em todas as categorias de doenças acima mencionadas.

## Referências

- Abe, H., Ikebuchi, K., Shimbo, M., and Sekiguchi, S., 1998, Hypotensive reactions with a white cell-reduction filter: activation of kallikrein-kinin cascade in a patient, *Transfusion* 38:411–412.
- Abeck, D., Plötz, S., 2008. [Colloidal silver and ozonized olive oil for atopic dermatitis?]. *Med Monatsschr Pharm* 31, 265–266.
- Abraham, N. G., Drummond, G. S., Lutton, J. D., and Kappas, A., 1996, The biological significance and physiological role of heme oxygenase, *Cell. Physiol. Biochem.* 6:129–168.
- Aejmelaeus, R. T., Holm, P., Kaukinen, U., Metsä-Ketelä, T. J. A., Laippala, P., Hervonen, A. L. J., and Alho, H. E. R., 1997, Age-related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma, *Free Radic. Biol. Med.* 23:69–75.
- Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2001, A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8, *Arch. Ophthalmol.* 119:1417–1436.
- Agostini, G., and Agostini, S., 1994, Contributo alla conoscenza e al trattamento della parmiculopatia edemato-fibro-sclerotica, in *Proceedings: VII National Meeting of Ozonotherapy*, Roma.
- Agus, D. B., Vera, J. C., and Golde, D. W., 1999, Stromal cell oxidation: a mechanism by which tumors obtain vitamin C, *Cancer Res.* 59:4555–4558.
- Ahlman, H., and Nilsson, O., 2001, The gut as the largest endocrine organ in the body, *Ann. Oncol.* 12: S63–S68.
- Aicher, A., Heeschen, C., Mildner-Rihm, C., Urbich, C., Ihling, C., Technau-Ihling, K., Zeiher, A.M., and Dimmeler, S., 2003, Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells, *Natl. Med.* 9:1370–1376.
- Aird, W. C., 2003, The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome, *Blood* 101:3765–3777.
- Aitken, C., and Jeffries, D. J., 2001, Nosocomial spread of viral disease, *Clin. Microbiol. Rev.* 14:528–546.
- Akaike, T., Suga, M., and Maeda, H., 1998, Free radicals in viral pathogenesis: molecular mechanisms involving superoxide and NO, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217:64–73.
- Akbarov, E.T., Navruzov, S.N., Abdujapparov, S.B., Islamov, H.D., 2010. 350 Target therapy and endoarterial chemotherapy with ozonotherapy in combined treatment of metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer Suppl* 8, 111. doi:10.1016/S1359-6349(10)72057-7

Akdis, C. A., and Blaser, K., 2001, Mechanisms of interleukin-10-mediated immune suppression, *Immunology* 103:136.

Akdis, C. A., Blesken, T., Akdis, M., Wüthrich, B., and Blaser, K., 1998, Role of interleukin 10 in specific immunotherapy, *J. Clin. Invest.* 102:98–106.

Akey, D., and Walton, T. E., 1985, Liquid-phase study of ozone inactivation of Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus, *Appl. Environ. Microbiol.* 50:882–886.

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.

Al Dalain, S. M., Martinez, G., Candelario-Jalil, E., Menendez, S., Re, L., Giuliani, A., and Leon, O. S., 2001, Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats, *Pharmacol. Res.* 44:391–396.

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.

Al Sa'doni, H., and Ferro, A., 2000, S-Nitrosothiols: a class of nitric oxide-donor drugs, *Clin. Sci. (Colch.)* 98:507–520.

Alexander, H. R., Jr., 2003, Hyperthermia and its modern use in cancer treatment, *Cancer* 98: 219–221.

Alexandre, A., and Fumo, G., 1998, Discolisi percutanea mediante O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> nell'ernia discale lombare, in *Lombalgie e lombosciatalgie. Criteri di diagnosi e cura* (F. Ceccherelli, and A. Ricciardi, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 367–377.

Alexandre, A., Buric, J., Corò, L., Rigobello, L., and Scopetta, S., 2000, Discolisi percutanea mediante O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> intradiscale, in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, pp. 7–8.

Alexandre, A., Buric, J., Paradiso, R., Salgado, H., Murga, M., Corò, L., Albarreal, A., Scopetta, S., Giocoli, H., and Marin, F., 2002, Intradiscal injection of O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> to treat lumbar disc herniations: results at five years, *Riv. Ital., Di Ossigeno Ozonioterapia* 1:165–169.

Alexandre, A., Pentimalli, L., Rigobello, L., and Corò, N., 1999, Amaurosi fugax in un caso di discolisi cervicale mediante O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> . in *L'Ozonioterapia nel 2000* (F. Ceccherelli, and F. Giron, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp.141–144.

Allain, T. J., Bearn, J. A., Coskeran, P., Jones, J., Checkley, A., Butler, J., Wessely, S., and Miell, J. P., 1997, Changes in growth hormone, insulin, insulinlike growth factors (IGFs), and IGFbinding protein-1 in chronic fatigue syndrome, *Biol. Psychiatry*

41:567–573.

Amato, G., 2000, Uso dell'Ozonioterapiamediante grande autoemotrasfusione nella terapia dell'angina abdominis, in Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 Novembre 2000, p. 10.

Amato, G., Sacchetta, A., Borrelli, E., and Bocci, V., 2000, Ruolo dell'Ozonioterapiamediante 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.

American Diabetes Association, 2007, Standards of medical care in diabetes – 2007, *Diabetes Care* 30: S4–S41.

Amersi, F., Buelow, R., Kato, H., Ke, B., Coito, A. J., Shen, X. D., Zhao, D., Zaky, J., Melinek, J., Lassman, C. R., Kolls, J. K., Alam, J., Ritter, T., Volk, H. D., Farmer, D. G., Ghobrial, R. M., Busuttill, R. W., and Kupiec-Weglinski, J. W., 1999, Upregulation of heme oxygenase1 protects genetically fat Zucker rat livers from ischemia/reperfusion injury, *J. Clin. Invest.* 104:1631–1639.

Ames, B. N., 2004, A role for supplements in optimizing health: the metabolic tune-up, *Arch. Biochem. Biophys.* 423:227–234.

Ames, B. N., Shigenaga, M. K., and Hagen, T. M., 1993, Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:7915–7922.

Anderson, C., 1992, Gene therapy researcher under fire over controversial cancer trials, *Nature* 360:399–400.

Anderson, M. M., Hazen, S. L., Hsu, F. F., and Heinecke, J. W., 1997, Human neutrophils employ the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to convert hydroxyamino acids into glycolaldehyde, 2-hydroxypropanal, and acrolein, *J. Clin. Invest.* 99: 424–432.

Andreula, C. F., Simonetti, L., De Santis, F., Agati, R., Ricci, R., and Leonardi, M., 2003, Minimally invasive oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation, *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 24:996–1000.

Angelucci, E., Brittenham, G. M., McLaren, C. E., Ripalti, M., Baronciani, D., Giardini, C., Galimberti, M., Polchi, P., and Lucarelli, G., 2000, Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major, *N. Engl. J. Med.* 343:327–331.

Angelucci, E., Muretto, P., Lucarelli, G., Ripalti, M., Baronciani, D., Erer, B., Galimberti, M., Giardini, C., Gaziev, D., and Polchi, P., 1997, Phlebotomy to reduce iron overload in patients cured of thalassemia by bone marrow transplantation. Italian Cooperative Group for Phlebotomy Treatment of Transplanted Thalassemia Patients, *Blood* 90:994–998.

Antonelli, G., Bagnato, F., Pozzilli, C., Simeoni, E., Bastianelli, S., Currenti, M., De Pisa, F., Fieschi, C., Gasperini, C., Salvetti, M., and Dianzani, F., 1998, Development of neutralizing antibodies in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis treated

with IFN-beta1a, *J. Interferon Cytokine Res.* 18:345–350.

Antunes, F., and Cadenas, E., 2000, Estimation of hydrogen peroxide gradient across biomembranes, *FEBS Lett.* 475:121–126.

Ardizzone, S., and Bianchi Porro, G., 2002, Inflammatory bowel disease: new insights into pathogenesis and treatment, *J. Intern. Med.* 252:475–496.

Argiles, J. M., Moore-Carrasco, R., Fuster, G., Busquets, S., and Lopez-Soriano, F. J., 2003, Cancer cachexia: the molecular mechanisms, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 35:405–409.

Aris, R. M., Christian, D., Hearne, P. Q., Kerr, K., Finkbeiner, W. E., and Balmes, J. R., 1993, Ozone-induced airway inflammation in human subjects as determined by airway lavage and biopsy, *Am. Rev. Respir. Dis.* 148:1363–1372.

Arnason, B. G. W., 1993, Interferon beta in multiple sclerosis, *Neurology* 43:641–643.

Arvin, A. M., and Prober, C. G., 1997, Herpes simplex virus type 2 – a persistent problem, *N. Engl. J. Med.* 337:1158–1159.

Aslan, M., Ryan, T. M., Adler, B., Townes, T. M., Parks, D. A., Thompson, J. A., Tousson, A., Gladwin, M. T., Patel, R. P., Tarpey, M. M., Batinic-Haberle, I., White, C. R., and Freeman, B. A., 2001, Oxygen radical inhibition of nitric oxide-dependent vascular function in sickle cell disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:15215–15220.

Aslan, M., Freeman, B. A., 2007, Redox-dependent impairment of vascular function in sickle cell disease. *Free Radic. Biol. Med.* 43:1469–1483.

Asplund, K., 2002, Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review, *J. Intern. Med.* 251:372–392.

Atherton, D. J., 2003, Topical corticosteroids in atopic dermatitis, *BMJ* 327:942–943.

Aubourg, P., 1936, Colibacillose aigue, colibacillose chronique: ameliorations cliniques notables par un traitement d'ozone, *Bull. Med. Paris* 140:644–654.

Aubourg, P., 1940, Ozon in der Chirurgie, *Mem. Acad. Chir.* 65:1183–1192.

Ault, J. G., and Lawrence, D. A., 2003, Glutathione distribution in normal and oxidatively estressed cells, *Exp. Cell Res.* 285:9–14.

Auphan, N., DiDonato, J. A., Rosette, C., Helmberg, A., and Karin, M., 1995, Immunosuppression by glucocorticoids: inhibition of NF- $\kappa$ B activity through induction of I $\kappa$ B synthesis, *Science* 270:286–290.

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

Ayres, R. M., Stott, R., Mara, D. D., and Lee, D. L., 1992, Wastewater reuse in agriculture and the risk of intestinal nematode infection, *Parasitol. Today* 8:32–35.

Babior, B. M., 1978, Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (1st and 2nd part), *N. Engl. J. Med.* 298:659–668.

Babior, B. M., 2000, Phagocytes and oxidative estresse, *Am. J. Med.* 109:33–44.

Babior, B. M., Takeuchi, C., Ruedi, J., Gutierrez, A., and Wentworth, P., Jr., 2003, Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:3031–3034.

Back, T., 1998, Pathophysiology of the ischemic penumbra – revision of a concept, *Cell Mol. Neurobiol.* 18:621–638.

Badwey, J. A., and Karnovsky, M. L., 1980, Active oxygen species and the functions of phagocytic leukocytes, *Annu. Rev. Biochem.* 49:695–726.

Baert, F., Noman, M., Vermeire, S., Van Assche, G., D’Haens, G., Carbonez, A., and Rutgeerts, P., 2003, Influence of immunogenicity on the long-term efficacy of infliximab in Crohn’s disease, *N. Engl. J. Med.* 348:601–608.

Baeuerle, P. A., and Henkel, T., 1994, Function and activation of NF- $\kappa$ B in the immune system, *Annu. Rev. Immunol.* 12:141–179.

Bailar, J. C., III, and Gornik, H. L., 1997, Cancer undefeated, *N. Engl. J. Med.* 336:1569–1574.

Bak, I., Papp, G., Turoczi, T., Varga, E., Szendrei, L., Vecsernyes, M., Joo, F., and Tosaki, A., 2002, The role of heme oxygenase-related carbon monoxide and ventricular fibrillation in ischemic/reperfused hearts, *Free Radic. Biol. Med.* 33:639–648.

Baker, K. H., Hegarty, J. P., Redmond, B., Reed, N. A., and Herson, D. S., 2002, Effect of oxidizing disinfectants (chlorine, monochloramine, and ozone) on *Helicobacter pylori*, *Appl. Environ. Microbiol.* 68:981–984.

Barakat, S., Seif-El Nasr, A., Ardel-Maksoud, N., El-Ebiary, F., Amer, H., Zaghloul, A., and Thabet, S., 2004, Induktion der angiogenese durch medizinisches ozon, in *Ozon-Handbuch Grundlagen Pravention Therapie* (R. Viebahn-Hansler, and H. G. Knoch, Eds.), Ecomed, Landsberg: in press.

Barber, E., Menéndez, S., León, O. S., Barber, M. O., Merino, N., Calunga, J. L., Cruz, E., and Bocci, V., 1999, Prevention of renal injury after induction of ozone tolerance in rats submitted to warm ischaemia, *Mediators Inflamm.* 8:37–41.

Barnes, P. J., 2000, Chronic obstructive pulmonary disease, *N. Engl. J. Med.* 343:269–280.

Barnes, P. J., 2009a, Histone deacetylase-2 and airway disease, *Ther. Adv. Respir. Dis.* 3(5): 235–243.

Barnes, P. J., 2009b, The cytokine network in COPD, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*

41:631–638.

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.

Barnes, P. J., and Liew, F. Y., 1995, Nitric oxide and asthmatic inflammation, *Immunol. Today* 16:128–130.

Barzilai, N., and Bartke, A., 2009, Biological approaches to mechanistically understand the healthy life span extension achieved by calorie restriction and modulation of hormones, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 64:187–191.

Basu, S., 2004, Isoprostanes: novel bioactive products of lipid peroxidation, *Free Radic. Res.* 38:105–122.

Baulieu, E.-E., and Robel, P., 1998, Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:4089–4091.

Baykal., Y., Yilmaz, M. I., Celik, T., Gok, F., Rehber, H., Akay, C., and Kocar, I. H., 2003, Effects of antihypertensive agents, alpha receptor blockers, beta blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors, angiotensin receptor blockers and calcium channel blockers, on oxidative estresse, *J. Hypertens.* 21:1207–1211.

Baynes, J. W., 1991, Role of oxidative estresse in development of complications in diabetes, *Diabetes* 40:405–412.

Baysan, A., Whiley, R. A., and Lynch, E., 2000, Antimicrobial effect of a novel ozone-generating device on micro-organisms associated with primary root carious lesions in vitro, *Caries Res.* 34:498–501.

Beal., M. F., 2002, Oxidatively modified proteins in aging and disease, *Free Radic. Biol. Med.* 32:797–803.

Beaglehole, R., and Bonita, R., 2009, Alcohol: a global health priority, *Lancet* 373:2173–2174.

Beck, L. S., DeGuzman, L., Lee, W. P., Xu, Y., Siegel, M. W., and Amento, E. P., 1993, One systemic administration of transforming growth factor- b1 reverses age- or glucocorticoidimpaired wound healing, *J. Clin. Invest.* 92:2841–2849.

Beckman, K. B., and Ames, B. N., 1998, The free radical theory of aging matures, *Physiol. Rev.* 78:547–581.

Belianin, Il., Abdullah, R. lu., 2000, Use of soluble ozone in combined treatment of pulmonary tuberculosis: lipid peroxidation and blood antioxidative defense system. *Probl. Tuberk* 3: 41–44.

Bell, D. S., 2004a, Type 2 diabetes mellitus: what is the optimal treatment regimen? *Am. J. Med.* 116(suppl 5A):23S–29S.

Bell, D. S., 2004b, Advantages of a third-generation beta-blocker in patients with diabetes mellitus, *Am. J. Cardiol.* 93:49B–52B.

Bell, S., and Kamm, M. A., 2000, Antibodies to tumour necrosis factor alpha as treatment for Crohn's disease, *Lancet* 355:858–860.

Bell, M. L., Dominici, F., and Samet, J. M., 2005, A meta-analysis of time-series studies of ozone and mortality with comparison to the national morbidity, mortality and air pollution study, *Epidemiology* 16:436–445.

Belluzzi, A., Brignola, C., Campieri, M., Pera, A., Boschi, S., and Miglioli, M., 1996, Effect of an enteric-coated fish-oil preparation on relapses in Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 334: 1557–1560.

Beltrani, V. S., 1999, The clinical spectrum of atopic dermatitis, *J. Allergy Clin. Immunol.* 104: S87–S98.

Bender, D. A., 2002, Daily doses of multivitamin tablets, *BMJ* 325:173–174.

Bennett, S. P., Griffiths, G. D., Schor, A. M., Leese, G. P., and Schor, S. L., 2003, Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers, *Br. J. Surg.* 90:133–146.

Benson, H., and Friedman, R., 1996, Harnessing the power of the placebo effect and renaming it “remembered wellness”, *Annu. Rev. Med.* 47:193–199.

Bergamini, A., Capozzi, M., Ghibelli, L., Dini, L., Salanitro, A., Milanese, G., Wagner, T., Beninati, S., Delfina Pesce, C., Amici, C., and Rocchi, G., 1994, Cystamine potently suppresses in vitro HIV replication in acutely and chronically infected human cells, *J. Clin. Invest.* 93:2251–2257.

Bergers G., Hanahan, D., 2008, Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat. Rev. Cancer* 8:592–603.

Bergo, G. W., and Tyssebotn, I., 1999, Cardiovascular effects of hyperbaric oxygen with and without addition of carbon dioxide, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 80: 264–275.

Bergofsky, E. H., and Bertun, P., 1966, Response of regional circulations to hyperoxia, *J. Appl. Physiol.* 21:567–572.

Bergqvist, D., 1999, Salvage of critically ischaemic limbs, *Lancet* 354:1920–1921.

Bernier, J., Denekamp, J., Rojas, A., Minatel, E., Horiot, J., Hamers, H., Antognoni, P., Dahl, O., Richaud, P., van Glabbeke, M., and Pi inverted question m., M., 2000, ARCON: accelerated radiotherapy with carbogen and nicotinamide in head and neck squamous cell carcinomas. The experience of the Co-operative group of radiotherapy of the european organization for research and treatment of cancer (EORTC), *Radiother. Oncol.* 55:111–119.

Berson, E. L., Remulla, J. F. C., Rosner, B., Sandberg, M. A., and Weigel-DiFranco, C., 1996, Evaluation of patients with retinitis pigmentosa receiving electric stimulation,

ozonated blood, and ocular surgery in Cuba, *Arch. Ophthalmol.* 114:560–563.

Bertoletti, A., and Izzo, A., 2006, Oxygen-ozone treatment of Buruli ulcer, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*5:129–134.

Beyers, R. F. M., Bakker, D. J., and Kurth, K. H., 1995, Hyperbaric oxygen treatment for haemorrhagic radiation cystitis, *Lancet* 346:803–805.

Beyerle, 1996, cited by Null, 1996 (Ozone: a wide-spectrum realer, *Penthouse Magazine* January). Biedunkiewicz, B., Tylicki, L., Nieweglowski, T., Burakowski, S., and Rutkowski, B., 2004, Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patients with intermittent claudication: an oxygen-controlled study, *Int. J. Artif. Organs* 27:29–34.

Bilger, B., 1995, Forever young, *Sciences* September/October:26–30.

Bishop, G. A., Ramirez, L. M., Baccam, M., Busch, L. K., Pederson, L. K., and Tomai, M. A., 2001, The immune response modifier resiquimod mimics CD40-induced B cell activation, *Cell Immunol.* 208:9–17.

Block, J. A., and Sequeira, W., 2001, Raynaud's phenomenon, *Lancet* 357:2042–2048.

Bloomer RJ, Kabir MM, Marshall KE, Canale RE, Farney TM, 2010, Postprandial oxidative estresse in response to dextrose and lipid meals of differring. *Lipid Health Disease* 9:79

Bocchi, L., Cervelli, C., and Ferrata, P., 1998, La nucleoaspirazione. in *Lombalgie e lombosciatalgie. Criteri di diagnosi e cura* (F. Ceccherelli, and A. Ricciardi, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 285–293.

Bocchi, L., Cervelli, C., and Ferrata, P., 2000, L'ossigeno-ozônio terapia nel trattamento delle patologie vertebrali lombari, in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, p. 15.

Bocci, V., 1981a, Determinants of erythrocyte ageing: a reappraisal., *Br. J. Haematol.* 48:515–522.

Bocci, V., 1981b, Pharmacokinetic studies of interferons, *Pharmacol. Ther.* 13(3):421–440.

Bocci, V., 1981c, Production and role of interferon in physiological conditions, *Biol. Rev.* 56: 49–85.

Bocci, V., 1985a, Immunomodulators as local hormones: new insights regarding their clinical utilization., *J. Biol. Resp. Modif.* 4:340–352.

Bocci, V., 1985b, Administration of interferon at night may increase its therapeutic index, *Cancer Drug Del.* 2:313–318.

Bocci, V., 1987a, May hyperbaric oxigenation be useful to patients with AIDS? *J. Biol.*

Regul. Homeost. Agents 1:201.

Bocci, V., 1987b, Metabolism of protein anticancer agents. (Updated and reprinted in 1994 in Int. Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics, Sec.140 Anticancer Drugs, Oxford: Pergamon Press, pp. 387–436), Pharmacol. Ther. 34:1–49.

Bocci, V., 1988a, Roles of interferon produced in physiological conditions. A speculative review, Immunology 64:1–9.

Bocci, V., 1988b, Central nervous system toxicity of interferons and other cytokines, J. Biol. Regul. Homeost. Agents 2:107–118.

Bocci, V., 1988c, Roles of interferon produced in physiological conditions. A speculative review, Immunology 64:1–9.

Bocci, V., 1990a, Catabolism of therapeutic proteins and peptides with implications for drug delivery., Adv. Drug Deliv. Rev. 4:149–169.

Bocci, V., 1990b, Tumor therapy with biological response modifiers. Why is progress slow? EOS-J. Immunol. Immunopharmacol. 10:79–82.

Bocci, V., 1991a, Absorption of cytokines via oropharyngeal-associated lymphoid tissues. Does an unorthodox route improve the therapeutic index of interferon? Clin. Pharmacokinet. 21: 411–417.

Bocci, V., 1991b, Interleukins. Clinical pharmacokinetics and practical implications, Clin. Pharmacokinet. 21:274–284.

Bocci, V., 1992a, Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. A hypothesis, Med. Hypotheses 39:30–34.

Bocci, V., 1992b, Physicochemical and biologic properties of interferons and their potential uses in drug delivery systems, Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst. 9:91–133.

Bocci, V., 1992c, The neglected organ: bacterial flora has a crucial immunostimulatory role, Perspect. Biol. Med. 35:251–260.

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., 1994a, A reasonable approach for the treatment of HIV infection in the early phase with ozonotherapy (autohemotherapy). How inflammatory cytokines may have a therapeutic role, Mediators Inflamm. 3:315–321.

Bocci, V., 1994b, Autohaemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal., J. Int. Med. Res. 22:131–144.

Bocci, V., 1996a, Does ozone therapy normalize the cellular redox balance? Med.

Hypotheses 46:150–154.

Bocci, V., 1996b, Ozone as a bioregulator. Pharmacology and toxicology of ozonotherapy today, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 10:31–53.

Bocci, V., 1996c, Ozone: a mixed blessing. New mechanisms of the action of ozone on blood cells make ozonated major autohaemotherapy (MAH) a rational approach, *Forsch. Komplementärmed.* 3:25–33.

Bocci, V., 1998a, Ipotetici meccanismi di azione dell'ozônio 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 ozonotherapy therapeutic? *Perspect. Biol. Med.* 42:131–143.

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

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

Bocci, V., 1999b, Ozonotherapy 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-ozônio terapia*, Casa Editrice Ambrosiana, Milano, pp. 1–324.

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

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

Bocci, V., 2006a, Scientific and medical aspects of ozone therapy, state of the art, *Arch. Med. Res.* 37:425–435.

Bocci, V., 2006b, Is it true that ozone is always toxic? The end of the dogma, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 216:493–504.

Bocci, V., 2007a, Can ozonotherapy be performed if the biochemistry of the process cannot be controlled? *Arch. Med. Res.* 38:584–585.

Bocci, V., 2007, Può l'Ossigeno-Ozonioterapia migliorare la prognosi della broncopneumopatia cronica ostruttiva? *Giorn. Ital., Mal., Tor.* 61:434–446.

Bocci, V., 2008a, Why orthodox medicine has not yet taken advantage of ozone therapy, *Arch. Med. Res.* 39:259–260.

Bocci, V., 2008b, The failure of the ACCLAIM trial is due to an irrational technology,

Int. J. Cardiol. DOI: 10.1016/ijcrd.2008.10.001.

Bocci, V., 2008c, Non-specific immunomodulation in chronic heart failure, *Lancet* 371(9630):2083.

Bocci, V., 2008d, Does ozone really “cure” cancer? *Int. J. Cancer* 123(5):1222.

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

Bocci, V., Aldinucci, C., Borrelli, E., Corradeschi, F., Diadori, A., Fanetti, G., and Valacchi, G., 2001a, Ozone in medicine, *Ozone Sci. Eng.* 23:207–217.

Bocci, V., Aldinucci, C., Mosci, C., Carraro, F., and Valacchi, F., 2007a, Ozonation of human blood induces a remarkable upregulation of Heme Oxygenase-1, *Mediators Inflamm.* 2007:26785, DOI: 10.1155/2007/26785.

Bocci, V., Aldinucci, C., and Bianchi, L., 2005, The use of hydrogen peroxide as a medical drug, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*4:30–39.

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

Bocci, V., Bianchi, L., Larin, A., 2003, The ozone enigma in medicine. The biochemical relationship between ozone and body fluids may account for its biological., therapeutic and toxic effects, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*2:130-120.

Bocci, V., and Brito, G. S., 2006, Ozone therapy in critical patients. Rationale of the therapy and proposed guidelines, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*5:7–11.

Bocci, V., and Di Paolo, N., 2004, Oxygenation-ozonation of blood during extracorporeal circulation (EBOO). Part III: a new medical approach, *Ozone Sci. Eng.* 26:195–205.

Bocci, V., Di Paolo, N., 2009, Oxygen-ozone therapy in medicine: an update. *Blood Purif.* 28: 373–376.

Bocci, V., and Paulesu, L., 1990, Studies on the biological effects of ozone 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes, *Haematologica* 75:510–515.

Bocci, V., Borrelli, E., Corradeschi, F., and Valacchi, G., 2000, Systemic effects after colorectal insufflation of oxygen-ozone in rabbits, *Int. J. Med. Biol. Environ.* 28:109–113.

Bocci, V., Borrelli, E., Travagli, V., and Zanardi, I., 2009a, The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug, *Medic. Res. Rev.* 29:646–682.

Bocci, V., Borrelli, E., Valacchi, G., and Luzzi, E., 1999a, Quasi-total-body exposure to an oxygen-ozone mixture in a sauna cabin, *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 80:549–554.

Bocci, V., Borrelli, E., Travagli, V., and Zanardi, I., 2008, The term “liquid polyatomic oxygen” requires a correction but chemo and radiotherapy combined with ozone therapy may help cancer patients, *Int. J. Ozone Ther.* 7:63–65.

Bocci, V., Carraro, F., Naldini, A., Paulesu, L., and Pessina, G. P., 1990, Roles of interferons in physiological conditions and for the control of viral diseases. in *Microbiological., chemotherapeutical and immunological problems in high risk patients* (E. Garaci, G. Renzini, F. Filadoro, A. L. Goldstein, and J. and Verhoef, Eds.), Serono Symposia Publication from Raven Press, New York, NY, pp. 243–250.

Bocci, V., Di Paolo, N., Borrelli, E., Larini, A., and Cappelletti, F., 2001b, Ozonation of blood during extracorporeal circulation II. Comparative analysis of several oxygenators-ozonators and selection of one type, *Int. J. Artif. Organs* 24:890–897.

Bocci, V., Di Paolo, N., Garosi, G., Aldinucci, C., Borrelli, E., Valacchi, G., Cappelli, F., Guerri, L., Gavioli, G., Corradeschi, F., Rossi, R., Giannerini, F., and Di Simplicio, P., 1999b, Ozonation of blood during extracorporeal circulation. I. Rationale, methodology and preliminary studies, *Int. J. Artif. Organs* 22:645–651.

Bocci, V., and Di Paolo., N., 2009, Oxygen-ozone therapy in medicine: an update, *Blood Purif.* 28:373–376.

Bocci, V., Larini, A., and Micheli, V., 2005, Restoration of normoxia by ozone therapy may control neoplastic growth: a review and a working hypothesis, *J. Altern. Complement. Med.* 11: 257–265.

Bocci, V., Luzzi, E., Corradeschi, F., and Paulesu, L., 1994a, Studies on the biological effects of ozone: 5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy, *Biotherapy* 7:83–90.

Bocci, V., Luzzi, E., Corradeschi, F., and Silvestri, S., 1994b, Studies on the biological effects of ozone: 6. Production of transforming growth factor b1 by human blood after ozone treatment, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 8:108–112.

Bocci, V., Luzzi, E., Corradeschi, F., Paulesu, L., and Di Stefano, A., 1993a, Studies on the biological effects of ozone: 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines, *Lymphokine Cytokine Res.* 12:121–126.

Bocci, V., Luzzi, E., Corradeschi, F., Paulesu, L., Rossi, R., Cardaioli, E., and Di Simplicio, P., 1993b, Studies on the biological effects of ozone: 4. Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 7:133–138.

Bocci, V., Pessina, G. P., Paulesu, L., Muscettola, M., and Valeri, A., 1988, The lymphatic route. V. Distribution of human natural interferon- $\beta$  in rabbit plasma and lymph, *J. Interferon Res.* 8:633–640.

Bocci, V., Pogni, R., Corradeschi, F., Busi, E., Cervelli, C., Bocchi, L., and Basosi, R., 2001c, Oxygen-ozone in orthopaedics: EPR detection of hydroxyl free radicals in ozone-treated “nucleus pulposus” material., *Riv. Neuroradiol.* 14:55–59.

Bocci, V., Russi, M., and Rita, G., 1967, Recovery and identification of interferon in the rabbit urine, *Experientia* 23:1–5.

Bocci, V., Travagli, V., and Zanardi, I., 2009b, The failure of HIV vaccines: a new autovaccine may overcome some problems, *Med. Hypothesis* 72:662–664.

Bocci, V., Travagli, V., and Zanardi, I., 2009d, May oxygen-ozone therapy improves cardiovascular disorders? *Cardiovasc. Hematol. Disord. Drug Targets* 9:78–85.

Bocci, V., Travagli, V., and Zanardi, I., 2009e, Randomised, double-blinded, placebo-controlled, clinical trial of ozone therapy as treatment of sudden sensorineural hearing loss, *J. Laryngol. Oto.* 123(7):820.

Bocci, V., Zanardi, I., and Travagli, V. 2010a, Ozonation of human HIV-infected plasmas for producing a global vaccine. How HIV-patients may help fighting the HIV pandemic. *Virulence*1:215–217.

Bocci, V., Zanardi, I., Huijberts, M. S. P., Travagli, V., 2010c, Diabetes and chronic oxidative estresse: a perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* doi: 10.1016/j.dsx.2010.05.014, in press.

Bocci, V., Valacchi, G., Corradeschi, F., Aldinucci, C., Silvestri, S., Paccagnini, E., and Gerli, R., 1998a, 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* 12:67–75.

Bocci, V., Valacchi, G., Corradeschi, F., and Fanetti, G., 1998b, Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production, *Mediators Inflamm.* 7:313–317.

Bocci, V., Valacchi, G., Rossi, R., Giustarini, D., Paccagnini, E., Pucci, A. M., and Di Simplicio, P., 1999c, Studies on the biological effects of ozone: 9. Effects of ozone on human platelets, *Platelets* 10:110–116.

Bocci, V., Venturi, G., Catucci, M., Valensin, P. E., and Zazzi, M., 1998c, Lack of efficacy of ozone therapy in HIV infection, *Clin. Microbiol. Infec.* 4:667–669.

Bocci, V., Zanardi, I., Travagli, V., and Di Paolo, N., 2007b, Oxygenation-ozonation of blood during extracorporeal circulation: in vitro efficiency of a new gas exchange device, *Artif. Organs* 31:743–748.

Bocci, V., Zanardi, I., Travagli, V., 2010a, The irrationality of a non-specific immunomodulation therapy used in cardiovascular diseases deserves a critical comment. *Atherosclerosis* 211:38–39.

Bocci, V., Zanardi, I., Travagli, V., 2010b, Potentiality of oxygen-ozonotherapy to improve the health of aging people. *Curr. Aging Sci.* 3: in press Bentham Science Publisher.

Bocci, V., Zanardi, I., Michaeli, D., and Travagli, V., 2009e, Mechanisms of action

and chemicalbiological interactions between ozone and body compartments: a critical appraisal of the different administration routes, *Curr. Drug Ther.* 4:159–173.

Bocci, V., Zanardi, I., Huijberts, M. S. P., and Travagli, V., 2010b, Diabetes and chronic oxidative estresse: a hypothesis paper based on the possible usefulness of ozonotherapy. *Diabetes Metab.Syindr. Clin. Res. Rev.* doi: 10.1016/j.dsx.2010.05.014

Bocci, V., Zanardi, I., Travagli, V., 2011, Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J. Trans. Med.* 9:66

Bodmar, A. G., Ouellette, M., Frolkis, M. et al., 1998, Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells, *Science* 279:349–352.

Boehm, T., Folkman, J., Browder, T., and O'Reilly, M. S., 1997, Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance, *Nature* 390:404–407.

Bolton, A. E., 2005, Biologic effects and basic science of a novel immune-modulation therapy, *Am. J. Cardio.* 95:24C–29C.

Bondy, S. C., 1995, The relation of oxidative estresse and hyperexcitation to neurological disease, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 208:337–345.

Boneschi, F. M., Rovaris, M., Johnson, K. P., Miller, A., Wolinsky, J. S., Ladkani, D., Shifroni, G., Comi, G., and Filippi, M., 2003, Effects of glatiramer acetate on relapse rate and accumulated disability in multiple sclerosis: meta-analysis of three double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trials, *Mult. Scler.* 9:349–355.

Bonetti, M., Cotticelli, B., Valdenassi, L., and Richelmi, P., 2001, Analisi dei risultati dopo trattamento con O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> nelle ernie intra ed extra foraminali lombari, *Riv. Neuroradiol.* 14:89–92.

Boni, C., Bertoletti, A., Penna, A., Cavalli, A., Pilli, M., Urbani, S., Scognamiglio, P., Boehme, R., Panebianco, R., Fiaccadori, F., and Ferrari, C., 1998, Lamivudine treatment can restore T cell responsiveness in chronic hepatitis B, *J. Clin. Invest.* 102:968–975.

Bonifati, C., and Ameglio, F., 1999, Cytokines in psoriasis, *Int. J. Dermatol.* 38:241–251.

Booth, S., and Wade, R., 2003, Oxygen or air for palliation of breathlessness in advanced cancer, *J. R. Soc. Med.* 96:215–218.

Bordone, L., and Guarente, L., 2005, Calorie restriction, SIRT1 and metabolism: understanding longevity, *Natl. Rev. Mol. Cell Biol.* 6:298–305.

Borrego, A., Zamora, Z. B., Gonzalez, R., Romay, C., Menendez, S., Hernandez, F., Montero, T., and Rojas, E., 2004, Protection by ozone preconditioning is mediated by the antioxidant system in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats, *Mediators Inflamm.* 13:13–19.

Borrelli, E., 2014, Reduction of oxidative estresse index after major ozonated autohaemotherapy: is the ozone concentration important? Proceedings of EUROCOOP meeting, October 2 - 5, 2014, Zurich, Switzerland

Borrelli, E., and Bocci, V., 2002, A novel therapeutic option for chronic fatigue syndrome and fibromyalgia, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*1:149–153.

Borrelli, E., Bocci, V., 2013. Visual Improvement Following Ozonotherapy in Dry Age Related Macular Degeneration; a Review. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol* 2, 47–51.

Borrelli, E., Iabichella, M. L., Mosti, G., and Bocci, V., 2008, Topical ozonated autohaemotherapy for the treatment of skin lesions, *Int. J. Ozone Ther.* 7:103–107.

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

Boxer, L. A., and Smolen, J. E., 1988, Neutrophil granule constituents and their release in health and disease, *Hematol. Oncol. Clin. N. Am.* 2:101–134.

Brahimi-Horn, C., Berra, E., and Pouyssegur, J., 2001, Hypoxia: the tumor's gateway to progression along the angiogenic pathway, *Trends Cell Biol.* 11: S32–S36.

Brandes, M. E., Allen, J. B., Ogawa, Y., and Wahl, S. M., 1991, Transforming growth factor b1 suppresses acute and chronic arthritis in experimental animals, *J. Clin. Invest.* 87:1108–1113.

Brayda-Bruno, M., and Cinnella, P., 1998, Il trattamento dell'ernia discale con infiltrazioni diossigeno-ozônio in paravertebrale. in *Lombalgie e lombosciatalgie. Criteri di diagnosi e cura* (F. Ceccherelli, and A. Ricciardi, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 361–365.

Brazzelli, M., McKenzie, L., Fielding, S. et al., 2006, Systematic review of the effectiveness and cost-effectiveness of Healozone for the treatment of occlusal pit/fissure caries and root caries, *Health Technol. Assess.* 16: iii–iv, ix–80.

Bressler, N. M., Bressler, S. B., and Fine, S. L., 1988, Age-related macular degeneration, *Surv. Ophthalmol.* 32:375–413.

Bridgeman, M. M., Marsden, M., MacNee, W., Flenley, D. C., and Ryle, A. P., 1991, Cysteine and glutathione concentrations in plasma and bronchoalveolar lavage fluid after treatment with N-acetylcysteine, *Thorax* 46:39–42.

Brizel, D. M., Scully, S. P., Harrelson, J. M., Layfield, L. J., Bean, J. M., Prosnitz, L. R., and Dewhirst, M. W., 1996, Tumor oxygenation predicts for the likelihood of distant metastases in human soft tissue sarcoma, *Cancer Res.* 56:941–943.

Broeckaert, F., Aarsalane, K., Hermans, C., Bergamaschi, E., Brustolin, A., Mutti, A., and Bernard, A., 1999, Lung epithelial damage at low concentrations of ambient ozone, *Lancet* 353:900–901.

Brouard, S., Otterbein, L. E., Anrather, J., Tobiasch, E., Bach, F. H., Choi, A. M., and Soares, M. P., 2000, Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis, *J. Exp. Med.* 192:1015–1026.

Brownlee, M., 2001, Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications, *Nature* 414:813–820.

Brownlee, M. A., 2003, A radical explanation for glucose-induced beta cell dysfunction, *J. Clin. Invest.* 112:1788–1790.

Brownlee, M., 2005, The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54:1615–1625.

Brugnara, C., Gee, B., Armsby, C. C., Kurth, S., Sakamoto, M., Rifai, N., Alper, S. L., and Platt, O.S., 1996, Therapy with oral clotrimazole induces inhibition of the Gardos channel and reduction of erythrocyte dehydration in patients with sickle cell disease, *J. Clin. Invest.* 97:1227–1234.

Brunet, A., Sweeney, L. B., and Sturgill, J. F., 2004, Estresse-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase, *Science* 303:2011–2015.

Bubenik, J., 1996, Cytokine gene-modified vaccines in the therapy of cancer, *Pharmacol. Ther.* 69:1–14.

Buege, J. A., and Aust, S. D., 1994, Microsomal lipid peroxidation, *Meth. Enzymol.* 233:302–310.

Bulent, U., Mehmet, Y., Nail, E. et al., 2010, Efficacy of hyperbaric oxygen therapy and medical ozone therapy in experimental acute necrotizing pancreatitis, *Pancreas* 39:9–15.

Bulinin, V. I., Solod, N. V., and Moshurov, I. P., 1995, The first experience of chronic abscesses and pleura emphyemas treatment by the method of ozonation, in *The ozone in biology and medicine. 2nd all Russian scientific-practical conference, September 6–8, 1995. Russian association of ozonotherapy, Reshetnikovskaya street 2, Nizhni Novgorod, 603006 Russia*, p. 20.

Bulmer, J., Bolton, A. E., and Pockley, A. G., 1997, Effect of combined heat, ozonation and ultraviolet irradiation (VasoCare) on heat shock protein expression by peripheral blood leukocyte populations, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 11:104–110.

Burkey, K. O., and Eason, G., 2002, Ozone tolerance in snap bean is associated with elevated ascorbic acid in the leaf apoplast, *Physiol. Plant* 114:387–394.

Burgassi, S., Zanardi, I., Travagli, V., Montomoli, E., and Bocci, V., 2009, How much ozone bactericidal activity is compromised by plasma components? *J. Appl. Microbiol.* 106:1715–1721.

Burstein, H. J., Gelber, S., Guadagnoli, E., and Weeks, J. C., 1999, Use of alternative medicine by women with early-stage breast cancer, *N. Engl. J. Med.*

340:1733–1739.

Bush, R. S., Jenkin, R. D., Allt, W. E., Beale, F. A., Bean, H., Dembo, A. J., and Pringle, J. F., 1978, Definitive evidence for hypoxic cells influencing cure in cancer therapy, *Br. J. Cancer Suppl.* 37:302–306.

Bustamante, J., Lodge, J. K., Marcocci, L., Tritschler, H., Packer, L., and Rihn, B. H., 1998,  $\alpha$ -lipoic acid in liver metabolism and disease, *Free Radic. Biol. Med.* 24:1023–1039.

Butterfield, D. A., and Lauderback, C. M., 2002, Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid beta-peptide-associated free radical oxidative estresse, *Free Radic. Biol. Med.* 32:1050–1060.

Cacace, F., De Petris, G., and Troiani, A., 2001, Experimental detection of tetraoxygen, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40:4062–4065.

Cadenas, E., and Davies, K. J., 2000, Mitochondrial free radical generation, oxidative estresse, and aging, *Free Radic. Biol. Med.* 29:222–230.

Calabrese, E. J., 2002, Hormesis: changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status, *Mutat. Res.* 511:181–189.

Calabrese, E. J., and Baldwin, L. A., 2001, Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology, *Trends Pharmacol. Sci.* 22:285–291.

Calabrese, E. J., 2009, Getting the dose-response wrong: why hormesis became marginalized and the threshold model accepted, *Arch. Toxicol.* 83:227–247.

Calder, P. C., 1998, Fat chance of immunomodulation, *Immunol. Today* 19:244–247.

Caligiuri, M., Murray, C., Buchwald, D., Levine, H., Cheney, P., Peterson, D., Komaroff, A. L., and Ritz, J., 1987, Phenotypic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome, *J. Immunol.* 139:3306–3313.

Callahan, J. T., Collecutt, M. F., Lightbody, J. R., and Faragher, B. S., 1982, Alteration of human red blood cells stored in plastic packs, *Transfusion* 22:154–157.

Campbell, D. E., Fryga, A. S., Bol, S., and Kemp, A. S., 1999, Intracellular interferon-gamma (IFN-g) production in normal children and children with atopic dermatitis, *Clin. Exp. Immunol.* 115:377–382.

Cannistra, S. A., and Niloff, J. M., 1996, Cancer of the uterine cervix, *N. Engl. J. Med.* 334: 1030–1038.

Cardile, V., Jiang, X., Russo, A., Casella, F., Renis, M., and Bindoni, M., 1995, Effects of ozone on some biological activities of cells in vitro, *Cell Biol. Toxicol.* 11:11–21.

Carette, S., Leclaire, R., Marcoux, S., Morin, F., Blaise, G. A., St-Pierre, A., Truchon,

R., Parent, F., Lévesque, J., Bergeron, V., Montminy, P., and Blanchette, C., 1997, Epidural corticosteroid injections for sciatica due to herniated nucleus pulposus, *N. Engl. J. Med.* 336:1634–1640.

Carlsson, L. M., Jonsson, J., Edlund, T., and Marklund, S. L., 1995, Mice lacking extracellular superoxide dismutase are more sensitive to hyperoxia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6264–6268.

Carmeliet, P., and Jain, R. K., 2000, Angiogenesis in cancer and other diseases, *Nature* 407: 249–257.

Carmeliet, P., Dor, Y., Herbert, J. M., Fukumura, D., Brusselmans, K., Dewerchin, M., Neeman, M., Bono, F., Abramovitch, R., Maxwell, P., Koch, C. J., Ratcliffe, P., Moons, L., Jain, R. K., Collen, D., Keshert, E., and Keshet, E., 1998, Role of HIF-1alpha in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis, *Nature* 394:485–490.

Carpendale, M. T. F., and Freeberg, J. K., 1991, Ozone inactivates HIV at noncytotoxic concentrations, *Antivir. Res.* 16:281–292.

Carpendale, M. T., Freeberg, J., and McLeod Griffiss, J., 1993, Does Ozone alleviate AIDS diarrhea? *J. Clin. Gastroenterol.* 17:142–145.

Cassileth, B. R., and Chapman, C. C., 1996, Alternative and complementary cancer therapies, *Cancer* 77:1026–1034.

Castagnola, E., Molinari, A. C., Fratino, G., and Viscoli, C., 2003, Conditions associated with infections of indwelling central venous catheters in cancer patients: a summary, *Br. J. Haematol.* 121:233–239.

Castrini, A., Facchi, T., Prignacca, E., 2002, Efficacy of oxygen-ozone therapy in diabetes mellitus in the dog. *Riv. It Ossigeno Ozonioterapia* 1:207–210.

Ceballos-Picot, I., Merad-Boudia, M., Nicole, A., Thevenin, M., Hellier, G., Legrain, S., and Berr, C., 1996a, Peripheral antioxidant enzyme activities and selenium in elderly subjects and in dementia of Alzheimer's type-place of the extracellular glutathione peroxidase, *Free Radic. Biol. Med.* 20:579–587.

Ceballos-Picot, I., Witko-Sarsat, V., Merad-Boudia, M., Nguyen, A. T., Thévenin, M., Jaudon, M.C., Zingraff, J., Verger, C., Jungers, P., and Descamps-Latscha, B., 1996b, Glutathione antioxidant system as a marker of oxidative estresse in chronic renal failure, *Free Radic. Biol. Med.* 21:845–853.

Ceccherelli, F., Gagliardi, G., Matterazzo, G., Rossato, M., and Giron, G., 1995, La riflessoterapia per agopuntura. in *La riflessoterapia per agopuntura* (P. Procacci, A. Di Massa, F. Ceccherelli, and R. Casale, Eds.), Edizioni A.I.R.A.S., Padova, pp. 49–77.

Celli, B. R., Thomas, N. E., Anderson, J. A.: et al., 2008, Effect of pharmacotherapy on rate of decline of lung function in COPD: results from the TORCH study, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 178:332–338.

Chader, G. J., 2001, PEDF: raising both hopes and questions in controlling angiogenesis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:2122–2124.

Chae, H. Z., Kim, K., and Kim, I.-H., 1999, The novel antioxidant enzyme, thioredoxin peroxidase, and mammalian peroxiredoxins. in *Redox regulation of cell signaling and its clinical application* (L. Packer, and J. Yodoi, Eds), Marcel Dekker, Inc., New York, NY, pp. 85–92.

Chan, W. M., Lam, D. S., Wong, T. H., Lai, T. Y., Kwok, A. K., Tam, B. S., and Li, K. K., 2003, Photodynamic therapy with verteporfin for subfoveal idiopathic choroidal neovascularization: one-year results from a prospective case series, *Ophthalmology* 110(12):2395–2402.

Chanock, S. J., El Benna, J., Smith, R. M., and Babior, B. M., 1994, The respiratory burst oxidase, *J. Biol. Chem.* 269:24519–24522.

Chen, Z., Oberley, T. D., Ho, Y., Chua, C. C., Siu, B., Hamdy, R. C., Epstein, C. J., and Chua, B. H., 2000, Overexpression of CuZnSOD in coronary vascular cells attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury, *Free Radic. Biol. Med.* 29:589–596.

Chen, Q., Espey, M. G., Krishna, M. C. et al., 2005, Pharmacologic ascorbic concentrations selectively kill cancer cells: action as a pro-drug to deliver hydrogen peroxide to tissues, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102:13604–13609.

Chen, Q., Espey, M. G., Sun, A. Y. et al., 2007, Ascorbate in pharmacologic concentrations selectively generates ascorbate radical and hydrogen peroxide in extracellular fluid in vivo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104:8749–8754.

Chen, Q., Espey, M. G., Sun, A. Y. et al., 2008, Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105:11105–11109.

Cherkin, D. C., Deyo, R. A., Battie, M., Street, J., and Barlow, W., 1998, A comparison of physical therapy, chiropractic manipulation, and provision of an educational booklet for the treatment of patients with low back pain, *N. Engl. J. Med.* 339:1021–1029.

Chlebowski, R. T., Schwartz, A. G., Wakelee, H. et al., 2009, Oestrogen plus progestin and lung cancer in postmenopausal women (Women's Health Initiative trial): a post-hoc analysis of a randomised controlled trial., *Lancet* 374:1243–1251.

Cho, H. Y., Zhang, L. Y., and Kleeberger, S. R., 2001, Ozone-induced lung inflammation and hyperreactivity are mediated via tumor necrosis factor-alpha receptors, *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 280: L537–L546.

Choi, B. M., Pae, H. O., Kim, Y. M., and Chung, H. T., 2003, Nitric oxide-mediated cytoprotection of hepatocytes from glucose deprivation-induced cytotoxicity: involvement of heme oxygenase-1, *Hepatology* 37:810–823.

- Chopdar, A., Chakravarthy, U., and Verma, D., 2003, Age related macular degeneration, *BMJ* 326:485–488.
- Chow, C. K., and Kaneko, J. J., 1979, Influence of dietary vitamin E on the red cells of ozoneexposed rats, *Environ. Res.* 19:49–55.
- Christian, D. L., Chen, L. L., Scannell, C. H., Ferrando, R. E., Welch, B. S., and Balmes, J. R., 1998, Ozone-induced inflammation is attenuated with multiday exposure, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 158:532–537.
- Chun, T. W., and Fauci, A. S., 1999, Latent reservoirs of HIV: obstacles to the eradication of virus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:10958–10961.
- Cianci, P., 2004, Advances in the treatment of the diabetic foot: is there a role for adjunctive hyperbaric oxygen therapy? *Wound. Repair Regen.* 12:2–10.
- Cighetti, G., Duca, L., Bortone, L., Sala, S., Nava, I., Fiorelli, G., and Cappellini, M. D., 2002, Oxidative status and malondialdehyde in beta-thalassaemia patients, *Eur. J. Clin. Invest.* 32(suppl 1):55–60.
- Cinatl, J., Morgenstern, B., Bauer, G., Chandra, P., Rabenau, H., and Doerr, H. W., 2003, Treatment of SARS with human interferons, *Lancet* 362:293–294.
- Cinnella, P., and Brayda-Bruno, M., 2001, La nostra esperienza nel trattamento dei conflitti disco-radicolari e delle radicolopatie post-chirurgiche con ossigeno-ozônio terapia infiltrativa paravertebrale, *Riv. Neuroradiol.* 14:75–79.
- Clark, C., Buchwald, D., MacIntyre, A., Sharpe, M., and Wessely, S., 2002, Chronic fatigue syndrome: a step towards agreement, *Lancet* 359:97–98.
- Clavo, B., Català, L., Pérez, J. L., Rodríguez, V., and Robaina, F., 2004, Effect of ozone therapy on cerebral blood flow: a preliminary report, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 1(3): 315–319. <http://doi.org/10.1093/ecam/neh039>
- Clavo, B., Perez, J. L., Lopez, L., Suarez, G., Lloret, M., Rodriguez, V., Macias, D., Santana, M., Morera, J., Fiuza, D., Robaina, F., and Gunderoth, M., 2003, Effect of ozone therapy on muscle oxygenation, *J. Altern. Complement. Med.* 9:251–256.
- Clavo, B., Perez, J. L., Lopez, L., Suarez, G., Lloret, M., Rodriguez, V., Macias, D., Santana, M., Hernandez, M. A., Martin-Oliva, R., and Robaina, F., 2004a, Ozone Therapy for Tumor Oxygenation: a Pilot Study, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 1:93–98.
- Clavo, B., Ruiz, A., Lloret, M., Lopez, L., Suarez, G., Macias, D., Rodriguez, V., Hernandez, M.A., Martin-Oliva, R., Quintero, S., Cuyas, J. M., and Robaina, F., 2004b, Adjuvant ozonotherapy in advanced head and neck tumors: a comparative study, *Evid Based Complement Alternat Med.* 1(3): 321–325.
- Clavo, B., Suarez, G., Aguilar, Y., Gutierrez, D., Ponce, P., Cubero, A., Robaina, F., Carreras, J.L., 2011. Brain ischemia and hypometabolism treated by ozone therapy. *Forsch Komplementmed* 18, 283–287. doi:10.1159/000333795

Cleare, A. J., Sookdeo, S. S., Jones, J., O'Keane, V., and Miell, J. P., 2000, Integrity of the growth hormone/insulin-like growth factor system is maintained in patients with chronic fatigue syndrome, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85:1433–1439.

Clinton, S. K., 1998, Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease, *Nutr. Rev.* 56:35–51.

Cohen, J., 2002, The immunopathogenesis of sepsis, *Nature* 420:885–891.

Cohen, J. A., Barkhof, F., Comi, G. et al., 2010, Oral Fingolimod or intramuscular Interferon for relapsing multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 362:402–415.

Cohen, S. M., Olin, K. L., Feuer, W. J., Hjelmeland, L., Keen, C. L., and Morse, L. S., 1994, Low glutathione reductase and peroxidase activity in age-related macular degeneration, *Br. J. Ophthalmol.* 78:791–794.

Coleman, C. N., 1988, Hypoxia in tumors: a paradigm for the approach to biochemical and physiologic heterogeneity, *J. Natl. Cancer Inst.* 80:310–317.

Coleman, H. R., Chan, C.-C., Ferris, F. L. I.I.I., and Chew, E. Y., 2008, Age related macular degeneration, *Lancet* 372:1835–1845.

Cooke, E. D., Pockley, A. G., Tucker, A. T., Kirby, J. D. T., and Bolton, A. E., 1997, Treatment of severe Raynaud's syndrome by injection of autologous blood pretreated by heating, ozonation and exposure to ultraviolet light (H-O-U) therapy, *Int. Angiol.* 16:250–254.

Cooper, E. L., 2004, Effect of ozone therapy on cerebral blood flow: a preliminary report. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, Mar 17 Pub Med does not report the page number.

Cope, H., David, A., Pelosi, A., and Mann, A., 1994, Predictors of chronic "postviral" fatigue, *Lancet* 344:864–868.

Corey, L., Wald, A., Patel, R., Sacks, S. L., Tying, S. K., Warren, T., Douglas, J. M., Jr., Paavonen, J., Morrow, R. A., Beutner, K. R., Stratchounsky, L. S., Mertz, G., Keene, O. N., Watson, H. A., Tait, D., and Vargas-Cortes, M., 2004, Once-daily valacyclovir to reduce the risk of transmission of genital herpes, *N. Engl. J. Med.* 350:11–20.

Cosentino, R., Manca, S., De Stefano, R., Frati, E., Hammoud, M., Manganelli, S., and Marcolongo, R., 2000, Efficacia dell'Ozonioterapia nella sindrome fibromialgica, in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, p. 30.

Courbat, R., Urfer, D., Walther, J. L., and Mironova, T. A., 2001, Optimisation of disinfection with ozone at full-scale in Nizhny Novgorod, Russia, 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. 235–249.

Crabb, J. W., Miyagi, M., Gu, X., Shadrach, K., West, K. A., Sakaguchi, H., Kamei, M.,

- Hasan, A., Yan, L., Rayborn, M. E., Salomon, R. G., and Hollyfield, J. G., 2002, Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:14682–14687.
- Cracowski, J. L., Devillier, P., Durand, T., Stanke-Labesque, F., and Bessard, G., 2001, Vascular biology of the isoprostanes, *J. Vasc. Res.* 38:93–103.
- Cruickshanks, K. J., Klein, R., and Klein, B. E., 1993, Sunlight and age-related macular degeneration. The Beaver Dam Eye Study, *Arch. Ophthalmol.* 111:514–518.
- Crumpacker, C. S., 2004, Use of antiviral drugs to prevent herpesvirus transmission, *N. Engl. J. Med.* 350:67–68.
- Csonka, C., Pataki, T., Kovacs, P., Muller, S. L., Schroeter, M. L., Tosaki, A., and Blasig, I. E., 2000, Effects of oxidative estresse on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts, *Free Radic. Biol. Med.* 29:612–619.
- Csonka, C., Varga, E., Kovacs, P., Ferdinandy, P., Blasig, I. E., Szilvassy, Z., and Tosaki, A., 1999, Heme oxygenase and cardiac function in ischemic/reperfused rat hearts, *Free Radic. Biol. Med.* 27:119–126.
- Cummins, R. O., 1994, Textbook of advanced cardiac life support, Scientific Publishing American Heart Association, Dallas, TX.
- Curran, S. F., Amoruso, M. A., Goldstein, B. D., and Berg, R. A., 1984, Degradation of soluble collagen by ozone or hydroxyl radicals, *FEBS Lett.* 176:155–160.
- Curtis-Prior, P., Vere, D., and Fray, P., 1999, Therapeutic value of Ginkgo biloba in reducing symptoms of decline in mental function, *J. Pharm. Pharmacol.* 51:535–541.
- Dale, J. J., Ruckley, C. V., Harper, D. R., Gibson, B., Nelson, E. A., and Prescott, R. J., 1999, Randomised, double blind placebo controlled trial of pentoxifylline in the treatment of venous leg ulcers, *BMJ* 319:875–878.
- Daly, M. E., Makris, A., Reed, M., and Lewis, C. E., 2003, Hemostatic regulators of tumor angiogenesis: a source of antiangiogenic agents for cancer treatment? *J. Natl. Cancer Inst.* 95:1660–1673.
- D'Ambrosio, C. M., 2002a, Trattamento delle malattie infiammatorie croniche dell'intestino mediante ossigeno-Ozonioterapia, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*1:155–158.
- D'Ambrosio, C. M., 2002b, Terapia delle IBD mediante Ozonioterapiaper via rettale, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*1:159–163.
- D'Amico, D. J., 1994, Diseases of the retina, *N. Engl. J. Med.* 331:95–106.
- Darouiche, R. O., 2004, Treatment of infections associated with surgical implants, *N. Engl. J. Med.* 350:1422–1429.

Darzins, P., Mitchell, P., and Heller, R. F., 1997, Sun exposure and age-related macular degeneration. An Australian case- control study, *Ophthalmology* 104:770–776.

Das, D., Bandyopadhyay, D., Bhattacharjee, M., and Banerjee, R. K., 1997, Hydroxyl radical is the major causative factor in estresse-induced gastric ulceration, *Free Radic. Biol. Med.* 23:8–18.

Das, U. N., 2003, Folic acid says NO to vascular diseases, *Nutrition* 19:686–692.

Day, R., 2002, Adverse reactions to TNF-alpha inhibitors in rheumatoid arthritis, *Lancet* 359: 540–541.

De Capua, B., De Felice, C., D'Onza, M., De Lauretis, A., Monaco, G., Cosentino, G., Tassi,

R., Gistri, M., and Passali, D., 2001, [Idiopathic sudden hearing loss: role of the posterior communicating cerebral arteries of the Willis' circle], *Acta Otorhinolaryngol. Ital.*, 21:144–150.

De Maio, A., 1999, Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams, *Shock* 11:1–12.

De Maria, N., Colantoni, A., Fagioli, S., Liu, G.-J., Rogers, B. K., Farinati, F., van Thiel, D. H., and Floyd, R. A., 1996, Association between reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C, *Free Radic. Biol. Med.* 21:291–295.

De Meirleir, K., Bisbal., C., Campine, I., De Becker, P., Salehzada, T., Demette, E., and Lebleu, B., 2000, A 37 kDa 2–5A binding protein as a potential biochemical marker for chronic fatigue syndrome, *Am. J. Med.* 108:99–105.

De Monte, A., van der Zee, H., and Bocci, V., 2005, Major ozonated auto-haemotherapy in chronic limb ischemia with ulcerations, *J. Complement. Altern. Med.* 11:363–367.

Dedon, P. C., and Tannenbaum, S. R., 2004, Reactive nitrogen species in the chemical biology of inflammation, *Arch. Biochem. Biophys.* 423:12–22.

Degens, H., 1998, Age-related changes in the microcirculation of skeletal muscle, *Adv. Exp. Med. Biol.* 454:343–348.

Delgado, J., 1991, Tratamiento con ozônio del herpes zoster, *CENIC Cienc. Biol.* 20:160–162.

Denko, N. C., and Giaccia, A. J., 2001, Tumor hypoxia, the physiological link between Trousseau's syndrome (carcinoma-induced coagulopathy) and metastasis, *Cancer Res.* 61: 795–798.

Dennog, C., Hartmann, A., Frey, G., and Speit, G., 1996, Detection of DNA damage after hyperbaric oxygen (HBO) therapy, *Mutagenesis* 11:605–609.

Dernek, S., Tunerir, B., Sevin, B., Aslan, R., Uyguc, O., and Kural., T., 1999, The effects of methylprednisolone on complement, immunoglobulins and pulmonary

neutrophil sequestration during cardiopulmonary bypass, *Cardiovasc. Surg.* 7:414–418.

Devlin, R. B., McDonnell, W. F., Mann, R., Becker, S., House, D. E., Schreinemachers, D., and Koren, H. S., 1991, Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6.6 hours causes cellular and biochemical changes in the lung, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 4:72–81.

Dewey, W. C., Hopwood, L. E., Sapareto, S. A., and Gerweck, L. E., 1977, Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation, *Radiology* 123:463–474.

Di Mascio, P., Kaiser, S., and Sies, H., 1989, Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher, *Arch. Biochem. Biophys.* 274:532–538.

Di Paolo, N., Bocci, V., Cappelletti, F., Petrini, G., and Gaggiotti, E., 2002, Necrotizing fasciitis successfully treated with extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO), *Int. J. Artif. Organs* 25:1194–1198.

Di Paolo, N., Bocci, V., Garosi, G., Borrelli, E., Bravi, A., Bruci, A., Aldinucci, C., and Capotondo, L., 2000, Extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO) in man. Preliminary report, *Int. J. Artif. Organs* 23:131–141.

Di Paolo, N., Bocci, V., Salvo, D. P. et al., 2005, Extracorporeal blood oxygenation and ozonation (EBOO). A controlled trial in patients with peripheral artery disease, *Int. J. Artif. Organs* 28:1039–1050.

Dianzani, F., 1999, Chronic hepatitis B, biological basis for new therapeutic strategies, *J. Biol. Regul. Homeost. Agents* 13:71–79.

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

Diaz, S., Menendez, S., Eng, L., and Fernandez, I., 1995, No increase in sister chromatid exchanges and micronuclei frequencies in human lymphocytes exposed to ozone in vitro, in *Proceedings Ozone in Medicine 12th World Congress of the International Ozone Association, 15th to 18th May 1995, Lille France (International Ozone Association, Ed.), Instaprint S.A., Tours, pp. 43–52.*

Diaz-Llera, S., Gonzalez-Hernandez, Y., Prieto-Gonzalez, E. A., and Azoy, A., 2002, Genotoxic effect of ozone in human peripheral blood leukocytes, *Mutat. Res.* 517:13–20.

Didier, C., Pouget, J. P., Cadet, J., Favier, A., Beani, J. C., and Richard, M. J., 2001, Modulation of exogenous and endogenous levels of thioredoxin in human skin fibroblasts prevents DNA damaging effect of ultraviolet A radiation, *Free Radic. Biol. Med.* 30:537–546.

Dinarello, C. A., 1999, IL-18: a TH1-inducing, proinflammatory cytokine and new member of the IL-1 family, *J. Allergy Clin. Immunol.* 103:11–24.

- Dische, S., Anderson, P. J., Sealy, R., and Watson, E. R., 1983, Carcinoma of the cervix – anaemia, radiotherapy and hyperbaric oxygen, *Br. J. Radiol.* 56:251–255.
- Dobie, R. A., Sakai, C. S., Sullivan, M. D., Katon, W. J., and Russo, J., 1993, Antidepressant treatment of tinnitus patients: report of a randomized clinical trial and clinical prediction of benefit, *Am. J. Otol.* 14:18–23.
- Dockrell, H. M., and Playfair, J. H., 1983, Killing of blood-stage murine malaria parasites by hydrogen peroxide, *Infect. Immun.* 39:456–459.
- Dogan, H., and Qalt, S., 2001, Effects of chelating agents and sodium hypochlorite on mineral content of root dentin, *J. Endod.* 27:578–580.
- Dong, Z., Lavrovsky, Y., Venkatachalam, M. A., and Roy, A. K., 2000, Heme oxygenase-1 in tissue pathology: the Yin and Yang, *Am. J. Pathol.* 156:1485–1488.
- Dore, S., 2002, Decreased activity of the antioxidant heme oxygenase enzyme: implications in ischemia and in Alzheimer's disease, *Free Radic. Biol. Med.* 32:1276–1282.
- Doroshov, J. H., 1995, Glutathione peroxidase and oxidative estresse, *Toxicol. Lett.* 82/83:395–398.
- Dreher, D., and Junod, A. F., 1996, Role of oxygen free radicals in cancer development, *Eur. J. Cancer* 32A:30–38.
- DuBois, A. B., 1962, Oxygen toxicity, *Anesthesiology* 23:473–477.
- Duckers, H. J., Boehm, M., True, A. L., Yet, S. F., San, H., Park, J. L., Clinton, W. R., Lee, M. E., Nabel, G. J., and Nabel, E. G., 2001, Heme oxygenase-1 protects against vascular constriction and proliferation, *Natl. Med.* 7:693–698.
- Duda, P. W., Schmied, M. C., Cook, S. L., Krieger, J. I., and Hafler, D. A., 2000, Glatiramer acetate (Copaxone) induces degenerate, Th2-polarized immune responses in patients with multiple sclerosis, *J. Clin. Invest.* 105:967–976.
- Dumaswala, U. J., Wilson, M. J., Wu, Y. L., Wykle, J., Zhuo, L., Douglass, L. M., and Daleke, D.L., 2000, Glutathione loading prevents free radical injury in red blood cells after storage, *Free Radic. Res.* 33:517–529.
- Durante, W., 2003, Heme oxygenase-1 in growth control and its clinical application to vascular disease, *J. Cell Physiol.* 195:373–382.
- Durelli, L., Verdun, E., Barbero, P., Bergui, M., Versino, E., Ghezzi, A., Montanari, E., and Zaffaroni, M., 2002, Every-other-day interferon beta-1b versus once-weekly interferon beta1a for multiple sclerosis: results of a 2-year prospective randomised multicentre study (INCOMIN), *Lancet* 359:1453–1460.
- Dworkin, R. H., 1999, Prevention of postherpetic neuralgia, *Lancet* 353:1636–1637.
- Eaton, L., 2003, World cancer rates set to double by 2020, *BMJ* 326:728.

Ebos, J. M., Lee, C. R., Kerbel, R. S., 2009, Tumor and host-mediated pathways of resistance and diseases progression in response to antiangiogenic therapy. *Clin. Cancer Res.* 15:5020–5025.

Edmunds, L. H., Jr., 1998, Inflammatory response to cardiopulmonary bypass, *Ann. Thorac. Surg.* 66: S12–S16.

Eliakim, R., Karmeli, F., Rachmilewitz, D., Cohen, P., and Zimran, A., 2001, Ozone enema: a model of microscopic colitis in rats, *Dig. Dis. Sci.* 46:2515–2520.

Emanuel, E. J., Schnipper, L. E., Kamin, D. Y., Levinson, J., and Lichter, A. S., 2003, The costs of conducting clinical research, *J. Clin. Oncol.* 21:4145–4150.

Emery, P., and Buch, M., 2002, Treating rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor alpha blockade, *BMJ* 324:312–313.

Engelhart, M. J., Geerlings, M. I., Ruitenber, A., Van Swieten, J. C., Hofman, A., Witteman, J.

C., and Breteler, M. M., 2002, Dietary intake of antioxidants and risk of Alzheimer disease, *JAMA* 287:3223–3229.

Enwonwu, J. W., 1989, Increased metabolic demand for arginine in sickle cell anemia, *Med. Sci. Res.* 17:997–998.

Ernst, A., and Zibrak, J. D., 1998, Carbon monoxide poisoning, *N. Engl. J. Med.* 339:1603–1608.

Ernst, E., 1997, Thymus therapy for cancer? A criteria-based, systematic review, *Eur. J. Cancer* 33:531–535.

Ernst, E., 2001, Mistletoe for cancer? *Eur. J. Cancer* 37:9–11.

Ernst, E., 2003, The current position of complementary/alternative medicine in cancer, *Eur. J. Cancer* 39:2273–2277.

Ernst, E., and Cohen, M. H., 2001, Informed consent in complementary and alternative medicine, *Arch. Int. Med.* 161:2288–2292.

Ernst, E., and Resch, K. L., 1996, Evaluating specific effectiveness of complementary therapies – a position paper, *Forsch. Komplementärmed.* 3:35–38.

Eskens, F. A., 2004, Angiogenesis inhibitors in clinical development: where are we now and where are we going. *Brit. J. Cancer* 90:1–7.

Esperanza, S., Ortellado, M., 2011. Ozonioterapia en el tratamiento de Artritis Reumatoide, seguimiento y evolución Desde Setiembre 2006-Abril 2011 [Ozone

therapy in the treatment of rheumatoid arthritis, monitoring and evolution From September 2006-April 2011]. Presented at the III. Iberoamerican Congress of Ozonotherapy. II. Brazilian Congress of Ozonotherapy. I. Brazilian Congress of Hydro- Ozonotherapy, Rio de Janeiro (Brazil).

Esterbauer, H., Schaur, R. J., and Zollner, H., 1991, Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal., malonaldehyde and related aldehydes, *Free Radic. Biol. Med.* 11:81–128.

Evans, H., Bauer, M., Luckman, I., and Page, M., 2001, An assessment of the benefits afforded by the continuous versus intermittent operation of ozone for drinking water treatment, 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. 219–234.

Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A., and Grodsky, G. M., 2002, Oxidative estresse and estresse-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes, *Endocr. Rev.* 23: 599–622.

Evans, J. R., 2001, Risk factors for age-related macular degeneration, *Prog. Retin. Eye Res.* 20:227–253.

Fabris, G., Tommasini, G., Petralia, B., Lavaroni, A., De Nardi, F., De Luca, G., Biasizzo, E., and Iaiza, F., 2001, L'ossigeno-ozônio terapia intra-foraminale, *Riv. Neuroradiol.* 14:61–66.

Falk, S. J., Ward, R., and Bleehen, N. M., 1992, The influence of carbogen breathing on tumour tissue oxygenation in man evaluated by computerised pO<sub>2</sub> histography, *Br. J. Cancer* 66: 919–924.

Falm, E., 2004, Angiogenesis inhibitor in clinical development; where are we now and where are we going? *Br. J. Cancer* 90:1–7.

Farber, J. L., Kyle, M. E., and Coleman, J. B., 1990, Biology of disease. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species, *Lab. Invest.* 62:670–679.

Farquharson, C. A., Butler, R., Hill, A., Belch, J. J., and Struthers, A. D., 2002, Allopurinol improves endothelial dysfunction in chronic heart failure, *Circulation* 106:221–226.

Farr, C. H., 1993, Protocol for the intravenous administration of hydrogen peroxide, International Bio-Oxidative Medicine Foundation, Oklahoma City, OK, pp. 29–31.

Faus Vitoria, J., 2006, El ozônio y los factores de crecimiento en la curacion de las ulceras. *Riv. It Ossigeno Ozonioterapia*5:41–46.

Faus Vitoria, J., 2008, A case of gangrenous pyoderma treated with ozone therapy, *Int. J. Ozone Ther.* 7:161–165.

Feldmann, M., and Maini, R. N., 2001, Anti-TNF alpha therapy of rheumatoid arthritis: what have we learned? *Annu. Rev. Immunol.* 19:163–196.

Fehervari, Z., and Sakaguchi, S., 2004, Control of Foxp3+CD25+CD4+ regulatory cell activation and function by dendritic cells, *Int. Immunol.* 16:1769–1780.

Fehervari, Z., and Sakagushi, S., 2005, CD4+ regulatory cells as a potential immunotherapy, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 360:1647–1661.

Fehervari, Z., Sakagushi, S., 2006, Peacekeepers of the immune system. *Sci. Am.* 295:56–63.

Ferrara, N., 2009, Tumor angiogenesis: VEGF-dependent and independent pathways, *Pezcoller Found. J.* 19:3–7.

Fialkow, L., Wang, Y., and Downey, G. P., 2007, Reactive oxygen and nitrogen species as signalling molecules regulating neutrophil function, *Free Radic. Biol. Med.* 42:153–164.

Fields, H. L., 1986, La generazione ectopica di impulsi negli afferenti primari, in *Il dolore: meccanismi di insorgenza e trattamento terapeutico* McGraw-Hill, pp. 126–129.

Figueroa, M. S., Regueras, A., and Bertrand, J., 1996, Laser photocoagulation to treat macular soft drusen in age-related macular degeneration, *Retina* 14:391–396.

Filippi, A., 2001, The influence of ozonised water on the epithelial wound healing process in the oral cavity, 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. 109–116.

Filippi, A., and Kirschner, H., 1995, Ozoniertes Wasser zur Desinfektion und Prophylaxe in der Zahn-Mund-Kieferheilkunde. in *Ozon-Handbuch Grundlagen Prävention Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. V-12.2 1–V-12.2 12.

Filippini, G., Munari, L., Incorvaia, B., Ebers, G. C., Polman, C., D'Amico, R., and Rice, G.P., 2003, Interferons in relapsing remitting multiple sclerosis: a systematic review, *Lancet* 361:545–552.

Finger, P. T., Gelman, Y. P., Berson, A. M., and Szechter, A., 2003, Palladium-103 plaque radiation therapy for macular degeneration: results of a 7 year study, *Br. J. Ophthalmol.* 87: 1497–1503.

Finch, C. E., 2009, Evolution of the human lifespan and diseases of aging: roles of infection, inflammation and nutrition, *Proc. Soc. Natl. Acad. Sci.* DOI: 10.1073/pnas.0909606106.

Fiocchi, C., 1998, Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis, *Gastroenterology* 115:182–205.

Fiocchi, C., 1999, From immune activation to gut tissue injury: the pieces of the puzzle are coming together, *Gastroenterology* 117:1238–1241.

Fiocchi, C., 2004, Closing fistulas in Crohn's disease – should the accent be on maintenance or safety? *N. Engl. J. Med.* 350:934–936.

Fishman, A., Martinez, F., Naunheim, K., Piantadosi, S., Wise, R., Ries, A., Weinmann, G., and Wood, D. E., 2003, A randomized trial comparing lung-volume-reduction surgery with medical therapy for severe emphysema, *N. Engl. J. Med.* 348:2059–2073.

FitzGerald, G. A., and Patrono, C., 2001, The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2, *N. Engl. J. Med.* 345:433–442.

Flach, J., and Seachrist, L., 1994, Mind-body meld may boost immunity, *J. Natl. Cancer Inst.* 86:256–258.

Fleischer, A. B., Jr., 1999, Treatment of atopic dermatitis: role of tacrolimus ointment as a topical noncorticosteroidal therapy, *J. Allergy Clin. Immunol.* 104:S126–S130.

Floyd, R. A., 1999, Neuroinflammatory processes are important in neurodegenerative diseases: an hypothesis to explain the increased formation of reactive oxygen and nitrogen species as major factors involved in neurodegenerative disease development, *Free Radic. Biol. Med.* 26: 1346–1355.

Foksinski, M., Bialkowski, K., Skiba, M., Ponikowska, I., Szmurlo, W., and Olinski, R., 1999, Evaluation of 8-oxodeoxyguanosine, typical oxidative DNA damage, in lymphocytes of ozonetreated arteriosclerotic patients, *Mutat. Res.* 438:23–27.

Folkman, J., 1974, Tumor angiogenesis: role in regulation of tumor growth, *Symp. Soc. Dev. Biol.* 30:43–52.

Fontana, L., McNeill, K. L., Ritter, J. M., and Chowienczyk, P. J., 1999, Effects of vitamin C and of a cell permeable superoxide dismutase mimetic on acute lipoprotein induced endothelial dysfunction in rabbit aortic rings, *Br. J. Pharmacol.* 126:730–734.

Fontana, L., Meyer, T. E., Klein, S., and Holloszy, J. O., 2004, Long-term calorie restriction is highly effective in reducing the risk for atherosclerosis in humans, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:6659–6663.

Forman, H. J., 2008, Hydrogen peroxide: the good, the bad and the ugly, in *Oxidants in Biology* (G. Valacchi, and P. Davis, Eds.), Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp. 1–17.

Forman, H. J., Fukuto, J. M., Miller, T. et al., 2008, The chemistry of cell signalling by reactive oxygen and nitrogen species and 4-hydroxynonenal., *Arch. Biochem. Biophys.* 477: 183–195.

Frank, R. N., 2004, Diabetic retinopathy, *N. Engl. J. Med.* 350(1):48–58.

Freeman, B. A., Miller, B. E., and Mudd, J. B., 1979, Reaction of ozone with human erythrocytes, in *Assessing toxic effects of environmental pollutants* (S. D. Lee, and J. B. Mudd, Eds.), Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, MI, pp. 151–171.

Frei, B., 1999, On the role of vitamin C and other antioxidants in atherogenesis and vascular dysfunction, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 222:196–204.

Frei, B., and Lawson, S., 2008, Vitamin C and cancer revisited, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105: 11037–11038.

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

Friedman-Kien, A. E., Eron, L. J., Conant, M., Growdon, W., Badiak, H., Bradstreet, P. W., Fedorczyk, D., Trout, J. R., and Plasse, T. F., 1988, Natural interferon alfa for treatment of condylomata acuminata, *JAMA.* 259:533–538.

Fuchs, J., and Kern, H., 1998, Modulation of UV-light-induced skin inflammation by D-alpha-tocopherol and L-ascorbic acid: a clinical study using solar simulated radiation, *Free Radic. Biol. Med.* 25:1006–1012.

Fukuda, K., Straus, S. E., Hickie, I., Sharpe, M. C., Dobbins, J. G., and Komaroff, A., 1994, The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. International Chronic Fatigue Syndrome Study Group, *Ann. Int. Med.* 121:953–959.

Fukunaga, K., Nakazono, N., Suzuki, T., and Takama, K., 1999, Mechanism of oxidative damage to fish red blood cells by ozone, *IUBMB Life* 48:631–634.

Fulle, S., Mecocci, P., Fano, G., Vecchiet, I., Vecchini, A., Racciotti, D., Cherubini, A., Pizzigallo, E., Vecchiet, L., Senin, U., and Beal, M. F., 2000, Specific oxidative alterations in vastus lateralis muscle of patients with the diagnosis of chronic fatigue syndrome, *Free Radic. Biol. Med.* 29:1252–1259.

Fung, W. E., 1991, Interferon alpha 2a for treatment of age-related macular degeneration, *Am. J. Ophthalmol.* 112:349–350.

Fyles, A., Milosevic, M., Hedley, D., Pintilie, M., Levin, W., Manchul, L., and Hill, R. P., 2002, Tumor hypoxia has independent predictor impact only in patients with node-negative cervix cancer, *J. Clin. Oncol.* 20:680–687.

Gabriel, C., Blauhut, B., Greul, R., Schneewels, B., and Roggendorf, M., 1996, Transmission of hepatitis C by ozone enrichment of autologous blood, *Lancet* 347:541.

Galbraith, R., 1999, Heme oxygenase: who needs it? *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 222:299–305.

Galleano, M., and Puntarulo, S., 1995, Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats, *Biochim. Biophys. Acta* 1271:321–326.

Galli, F., Jul 22, 2007, Protein damage and inflammation in uraemia and dialysis patients, *Nephrol. Dial Transplant* 22(suppl 5):v20–v36.

Galli, F., Piroddi, M., Annetti, C. et al., 2005, Oxidative estresse and reactive oxygen species, *Contrib. Nephrol.* 149:240–260.

Garber, G. E., Cameron, D. W., Hawley-Foss, N., Greenway, D., and Shannon, M. E., 1991, The use of ozone-treated blood in the therapy of HIV infection and immune disease: a pilot study of safety and efficacy, *AIDS* 5:981–984.

Garg, A., 2004, Acquired and inherited lipodystrophies, *N. Engl. J. Med.* 350:1220–1234.

Gatenby, R. A., Kessler, H. B., Rosenblum, J. S., Coia, L. R., Moldofsky, P. J., Hartz, W. H., and Broder, G. J., 1988, Oxygen distribution in squamous cell carcinoma metastases and its relationship to outcome of radiation therapy, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 14:831–838.

Georgiades, E., Behan, W. M., Kilduff, L. P., Hadjicharalambous, M., Mackie, E. E., Wilson, J., Ward, S. A., and Pitsiladis, Y. P., 2003, Chronic fatigue syndrome: new evidence for a central fatigue disorder, *Clin. Sci. (Lond)* 105:213–218.

Ghiselli, A., Serafini, M., Natella, F., and Scaccini, C., 2000, Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data, *Free Radic. Biol. Med.* 29:1106–1114.

Ghosh, S., Goldin, E., Gordon, F. H., Malchow, H. A., Rask-Madsen, J., Rutgeerts, P., Vyhnalek, P., Zadorova, Z., Palmer, T., and Donoghue, S., 2003, Natalizumab for active Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 348:24–32.

Ghosh, D., Griswold, J., Erman, M., and Pangborn, W., 2009, Structural basis for androgen specificity and oestrogen synthesis in human aromatase, *Nature* 457:219–223.

Gionchetti, P., Rizzello, F., Ferrieri, A., Venturi, A., Brignola, C., Ferretti, M., Peruzzo, S., Miglioli, M., and Campieri, M., 1999, Rifaximin in patients with moderate or severe ulcerative colitis refractory to steroid-treatment: a double-blind, placebo-controlled trial., *Dig. Dis. Sci.* 44: 1220–1221.

Giovannoni, G., Comi, G., Cook, S. et al., 2010, A placebo-controlled trial of oral cladribine for relapsing multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 362:416–426.

Giunta, R., Coppola, A., Luongo, C., Sammartino, A., Guastafierro, S., Grassia, A., Giunta, L., Mascolo, L., Tirelli, A., and Coppola, L., 2001, Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease, *Ann. Hematol.* 80:745–748.

Gjonovich, A., Sattin, G. F., Giroto, L., Bordin, M., Gallo, L., and Preciso, G., 2001, Lombalgie ribelli: l'ossigeno-ozônio terapia a confronto con altre metodiche, *Riv. Neuroradiol.* 14:35–38.

Gladwin, M. T., Crawford, J. H., and Patel, R. P., 2004, The biochemistry of nitric

oxide, nitrite, and hemoglobin: role in blood flow regulation, *Free Radic. Biol. Med.* 36:707–717.

Gladwin, M. T., Schechter, A. N., Shelhamer, J. H., Pannell, L. K., Conway, D. A., Hrinchenko, B. W., Nichols, J. S., Pease-Fye, M. E., Noguchi, C. T., Rodgers, G. P., and Ognibene, F. P., 1999, Inhaled nitric oxide augments nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin without affecting oxygen affinity, *J. Clin. Invest.* 104:937–945.

Glover, R. E., Ivy, E. D., Orringer, E. P., Maeda, H., and Mason, R. P., 1999, Detection of nitrosyl hemoglobin in venous blood in the treatment of sickle cell anemia with hydroxyurea, *Mol. Pharmacol.* 55:1006–1010.

Goldman, M., 1996, Cancer risk of low-level exposure, *Science* 271:1821–1822.

Goldstein, B. D., and Balchum, O. J., 1967, Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 126:356–359.

Gomez, M., Espinosa, E., and Caplan, J. A., 1995, Application of medicinal ozone/oxygen in patients with sickle cell anemia, *Townsend Lett. Doctors* January:48–52.

Gonzalez, R., Borrego, A., Zamora, Z., Romay, C., Hernandez, F., Menendez, S., Montero, T., and Rojas, A., 2004, Reversion by ozone treatment of acute nephrotoxicity induced by cisplatin in rats, *Mediators Inflamm.* 13:13–20.

Gooch, P. C., Creasia, D. A., and Brewen, J. G., 1976, The cytogenetic effects of ozone: inhalation and in vitro exposures, *Environ. Res.* 12:188–195.

Gorre, M. E., Mohammed, M., Ellwood, K., Hsu, N., Paquette, R., Rao, P. N., and Sawyers, C. L., 2001, Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification, *Science* 293:876–880.

Gracer, R. I., and Bocci, V., 2005, Can the combination of localized “proliferative therapy” with minor ozonated autohemotherapy restore the natural healing process? *Med. Hypoth.* 65: 752–759.

Grady, D., Rubin, S. M., Petitti, D. B., Fox, C. S., Black, D., Ettinger, B., Ernster, V. L., and Cummings, S. R., 1992, Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women, *Ann. Int. Med.* 117:1016–1037.

Graham, N., and Paraskeva, P., 2001, Recent studies of ozone disinfection of secondary municipal effluents, 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. 276–291.

Greenberg, J. An electron microscopical examination of cellular constituents of human whole blood after in vitro exposure to ozone gas. In: *International Ozone Association Editors. Proceedings of the 11<sup>th</sup> Ozone World Congress; 1993 August 29 - September 3; San Francisco, USA. Ozone in Medicine, 1993: M-1-15 - M-1-17.*

Greider, C. W., and Blackburn, E. H., 1985, Identification of a specific telomere

terminal transferase activity in Tetrahymena extracts, *Cell* 43:405–413.

Greider, C. W., and Blackburn, E. H., 1987, The telomere terminal transferase of Tetrahymena is a ribonucleoprotein enzyme with two kinds of primer specificity, *Cell* 51:887–898.

Griffin, R. J., Okajima, K., Barrios, B., and Song, C. W., 1996, Mild temperature hyperthermia combined with carbogen breathing increases tumor partial pressure of oxygen (pO<sub>2</sub>) and radiosensitivity, *Cancer Res.* 56:5590–5593.

Grimaud, E., Heymann, D., and Redini, F., 2002, Recent advances in TGF-beta effects on chondrocyte metabolism. Potential therapeutic roles of TGF-beta in cartilage disorders, *Cytokine Growth Factor Rev.* 13:241–257.

Grisham, M. B., Granger, D. N., and Lefer, D. J., 1998, Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: relevance to ischemic heart disease, *Free Radic. Biol. Med.* 25:404–433.

Gross, T. J., and Hunninghake, G. W., 2001, Idiopathic pulmonary fibrosis, *N. Engl. J. Med.* 345:517–525.

Gubitz, G., and Sandercock, P., 2000, Prevention of ischaemic stroke, *BMJ* 321:1455–1459.

Guerrero, A., Torres, P., Duran, M. T., Ruiz-Diez, B., Rosales, M., and Rodriguez-Tudela, J.L., 2001, Airborne outbreak of nosocomial *Scedosporium prolificans* infection, *Lancet* 357: 1267–1268.

Gutstein, H. B., 2001, The biologic basis of fatigue, *Cancer* 92:1678–1683.

Haas, A. F., Wong, J. W., Iwahashi, C. K., Halliwell, B., Cross, C. E., and Davis, P. A., 1998, Redox regulation of wound healing? NF-kappaB activation in cultured human keratinocytes upon wounding and the effect of low energy HeNe irradiation, *Free Radic. Biol. Med.* 25: 998–1005.

Hack, V., Breitkreutz, R., Kinscherf, R., Rohrer, H., Bartsch, P., Taut, F., Benner, A., and Droge, W., 1998, The redox state as a correlate of senescence and wasting and as a target for therapeutic intervention, *Blood* 92:59–67.

Hahn, M., Fennerty, M. B., Corless, C. L., Magaret, N., Lieberman, D. A., and Faigel, D. O., 2000, Noninvasive tests as a substitute for histology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection, *Gastrointest. Endosc.* 52:20–26.

Halama, N., Zoernig, I., and Jager, D., 2008, Immunotherapy for cancer-modern immunologic strategies in oncology, *Dtsch. Med. Wochenschr.* 133:2105–2108.

Halliwell, B., 1994, Free radicals and antioxidants: a personal view, *Nutr. Rev.* 52:253–265.

Halliwell, B., 1996, Antioxidants in human health and disease, *Annu. Rev. Nutr.* 16:33–50.

Halliwell, B., 1999a, Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning), *Free Radic. Res.* 31:261–272.

Halliwell, B., 1999b, Vitamin C: poison, prophylactic or panacea? *Trends Biochem. Sci.* 24: 255–259.

Halliwell, B., 2001, Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment, *Drugs Aging* 18:685–716.

Halliwell, B., 2003, Oxidative estresse in cell culture: an under-appreciated problem? *FEBS Lett.* 540:3–6.

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

Halliwell, B., Zhao, K., and Whiteman, M., 2000b, The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radic. Res.* 33:819–830.

Hamilton, M. L., Van Remmen, H., Drake, J. A., Yang, H., Guo, Z. M., Kewitt, K., Walter, C. A., and Richardson, A., 2001, Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:10469–10474.

Hanauer, S. B., and Dassopoulos, T., 2001, Evolving treatment strategies for inflammatory bowel disease, *Annu. Rev. Med.* 52:299–318.

Hanauer, S. B., Feagan, B. G., Lichtenstein, G. R., Mayer, L. F., Schreiber, S., Colombel, J. F., Rachmilewitz, D., Wolf, D. C., Olson, A., Bao, W., and Rutgeerts, P., 2002, Maintenance infliximab for Crohn's disease: the ACCENT I randomised trial., *Lancet* 359: 1541–1549.

Haniflin, J. M., and Tofte, S. J., 1999, Update on therapy of atopic dermatitis, *J. Allergy Clin. Immunol.* 104: S123–S125.

Hannuksela, M. L., and Ellahham, S., 2001, Benefits and risks of sauna bathing, *Am. J. Med.* 110:118–126.

Hansel, T. T., and Barnes, P. J., 2009, New drugs for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease, *Lancet* 374:744–755.

Hardwick, C., 1940, The indications for and technique of whole-blood ink injections, *Practitioner* 144:79–82.

Harman, D., 1956, A theory based on free radical and radiation chemistry, *J. Gerontol.* 11:298–300.

Harman, D., 1972, The biologic clock the mitochondria? *J. Am. Geriatr. Soc.* 20:145–147.

Harris, A. L., 2002, Hypoxia – a key regulatory factor in tumour growth, *Natl. Rev. Cancer* 2: 38–47.

Harris, J. P., Weisman, M. H., Derebery, J. M., Espeland, M. A., Gantz, B. J., Gulya, A. J.,

Hammerschlag, P. E., Hannley, M., Hughes, G. B., Moscicki, R., Nelson, R. A., Niparko, J.K., Rauch, S. D., Telian, S. A., and Brookhouser, P. E., 2003, Treatment of corticosteroidresponsive autoimmune inner ear disease with methotrexate: a randomized controlled trial., *JAMA* 290:1875–1883.

Harrison, D. E., Strong, R., Sharp, Z. D. et al., 2009, Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogenous mice, *Nature* 460:392–395.

Hasselwander, O., and Young, I. S., 1998, Oxidative estresse in chronic renal failure, *Free Radic. Res.* 29:1–11.

Hatoum, O. A., Miura, H., and Binion, D. G., 2003, The vascular contribution in the pathogenesis of inflammatory bowel disease, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 285:H1791–H1796.

Hawkins, C. L., and Davies, M. J., 1996, Direct detection and identification of radicals generated during the hydroxyl radical-induced degradation of hyaluronic acid and related materials, *Free Radic. Biol. Med.* 21:275–290.

Hayflick, L., 1973, The biology of human aging, *Am. J. Med. Sci.* 265:432–445.

Hayflick, L., 2000, The future of ageing, *Nature* 408:267–269.

Head, C. A., Brugnara, C., Martinez-Ruiz, R., Kacmarek, R. M., Bridges, K. R., Kuter, D., Bloch, K. D., and Zapol, W. M., 1997, Low concentrations of nitric oxide increase oxygen affinity of sickle erythrocytes in vitro and in vivo, *J. Clin. Invest.* 100:1193–1198.

Heaney, M. L., Gardner, J. R., Karasavvas, N. et al., 2008, Vitmain C anatonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs, *Cancer Res.* 68:8031–8038.

Helczynska, K., Kronblad, A., Jogi, A., Nilsson, E., Beckman, S., Landberg, G., and Pahlman, S., 2003, Hypoxia promotes a dedifferentiated phenotype in ductal breast carcinoma in situ, *Cancer Res.* 63:1441–1444.

Heng, H., Rucker, R. B., Crotty, J., and Dubick, M. A., 1987, The effects of ozone on lung, heart, and liver superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in the protein-deficient rat, *Toxicol. Lett.* 38:225–237.

Henke, M., Laszig, R., Rube, C., Schafer, U., Haase, K. D., Schilcher, B., Mose, S., Beer, K. T., Burger, U., Dougherty, C., and Frommhold, H., 2003, Erythropoietin to treat head and neck cancer patients with anaemia undergoing radiotherapy: randomised, double-blind, placebo-controlled trial., *Lancet* 362:1255–1260.

Hennekens, C. H., Buring, J. E., and Peto, R., 1994, Antioxidant vitamins – benefits not yet proved, *N. Engl. J. Med.* 330:1080–1081.

Hermann, M. T., Strong, M. A., Hao, L. Y., and Greider, C. W., 2001, The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability, *Cell* 107: 67–77.

Hernandez, F., Menendez, S., Wong, R., Gonzalez, M., 1989, [Effect of intravascular ozone therapy on the Glutathione Peroxidase system] *Rev. CNIC*, 20: 37-40.

Hernandez, F., Menendez, S., Wong, R., 1995, Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy, *Free Radic. Biol. Med.* 19:115–119.

Hernandez, F., Alvarez, I., Corcho, I., Gonzalez, M., 2004, Changes in glutathione antioxidant pathway components, HLA-DR and IgE in blood from asthma patients treated with ozone therapy, *Proceedings of the 15th Ozone World Congress, London, UK. 11th-15th September 2001. Medical Therapy Conference (IOA 2001, Ed.)*. Ealing, London, UK: Speedprint MacMedia Ltd. pp. 131-141.

Hernandez, F., Calunga, F., Turrent Figueras, J. et al., 2005, Ozone therapy effects on biomarkers and lung function in asthma, *Arch. Med. Res.* 36:549–554.

Hernandez, F., 2007, To what extent does ozone therapy need a real biochemical control system? assessment and importance of oxidative estresse. *Arch. Med. Res.* 38: 571–578.

Herrmann, M., Voll, R. E., and Kalden, J. R., 2000, Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus, *Immunol. Today* 21:424–426.

Herzenberg, L. A., De Rosa, S. C., Dubs, J. G., Roederer, M., Anderson, M. T., Ela, S. W., Deresinski, S. C., and Herzenberg, L. A., 1997, Glutathione deficiency is associated with impaired survival in HIV disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:1967–1972.

Hidalgo-Tallón, J., Menéndez-Cepero, S., Vilchez, J.S., Rodríguez-López, C.M., Calandre, E.P., 2012. Ozone Therapy as Add-On Treatment in Fibromyalgia Management by Rectal Insufflation: An Open-Label Pilot Study. *J Altern Complement Med.* doi:10.1089/acm.2011.0739

Hijnen, W. A. M., Bosklopper, Th. G. J., Hofman, J. A. M. H., Bosch, A. D., and Medema, G. J., 2001, Improvement of the disinfection efficiency of the full-scale ozonation of the River-lake waterworks of Amsterdam water supply, 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. 250–261.

Hillerdal., G., 1997, New principles for the treatment of diffuse pulmonary emphysema, *J. Int. Med.* 242:441–448.

Hirsch, K. R., and Wright, T. L., 2000, The dilemma of disease progression in hepatitis C patients with normal serum aminotransferase levels, *Am. J. Med.* 109:66–67.

- Ho, D. D., 1997, Perspectives series: host/pathogen interactions. Dynamics of HIV-1 replication in vivo, *J. Clin. Invest.* 99:2565–2567.
- Hockel, M., and Vaupel, P., 2001, Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects, *J. Natl. Cancer Inst.* 93:266–276.
- Hockel, M., Schlenger, K., Aral., B., Mitze, M., Schaffer, U., and Vaupel, P., 1996, Association between tumor hypoxia and malignant progression in advanced cancer of the uterine cervix, *Cancer Res.* 56:4509–4515.
- Hodgson, H. J., 1996, Keeping Crohn's disease quiet, *N. Engl. J. Med.* 334:1599–1600.
- Holmboe, E. S., 2002, Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: clinical applications, *JAMA* 287:373–376.
- Holmgren, A., 1989, Thioredoxin and glutaredoxin systems, *J. Biol. Chem.* 264:13963–13966.
- Honess, D. J., Andrews, M. S., Ward, R., and Bleeheh, N. M., 1995, Pentoxifylline increases RIF-1 tumour pO<sub>2</sub> in a manner compatible with its ability to increase relative tumour perfusion, *Acta Oncol.* 34:385–389.
- Hooper, D. C., Scott, G. S., Zborek, A., Mikheeva, T., Kean, R. B., Koprowski, H., and Spitsin, S. V., 2000, Uric acid, a peroxynitrite scavenger, inhibits CNS inflammation, blood- CNS barrier permeability changes, and tissue damage in a mouse model of multiple sclerosis, *FASEB J.* 14:691–698.
- Hooper, L. V., and Gordon, J. I., 2001, Commensal host-bacterial relationships in the gut, *Science* 292:1115–1118.
- Hoppe, C. C., and Walters, M. C., 2001, Bone marrow transplantation in sickle cell anemia, *Curr. Opin. Oncol.* 13:85–90.
- Hornsby, P. J., 1995, Biosynthesis of DHEAS by the human adrenal cortex and its age-related decline. *Ann. NY Acad. Sci.* 774:29–46.
- Horsman, M. R., Chaplin, D. J., and Brown, J. M., 1989, Tumor radiosensitization by nicotinamide: a result of improved perfusion and oxygenation, *Radiat. Res.* 118:139–150.
- Houston, M., Estevez, A., Chumley, P., Aslan, M., Marklund, S., Parks, D. A., and Freeman, B. A., 1999, Binding of xanthine oxidase to vascular endothelium. Kinetic characterization and oxidative impairment of nitric oxide-dependent signaling, *J. Biol. Chem.* 274: 4985–4994.
- Hrinczenko, B. W., Alayash, A. I., Wink, D. A., Gladwin, M. T., Rodgers, G. P., and Schechter, A. N., 2000, Effect of nitric oxide and nitric oxide donors on red blood cell oxygen transport, *Br. J. Haematol.* 110:412–419.
- Hruz, P. W., Murata, H., and Mueckler, M., 2001, Adverse metabolic consequences

of HIV protease inhibitor therapy: the search for a central mechanism, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 280: E549–E553.

Hu, M.-L., 1994, Measurement of protein thiol groups and glutathione in plasma, *Meth. Enzymol.* 233:380–385.

Huang, L. E., and Bunn, H. F., 2003, Hypoxia-inducible factor and its biomedical relevance, *J. Biol. Chem.* 278:19575–19578.

Hui, C. K., Yuen, M. F., Sablon, E., Chan, A. O., Wong, B. C., and Lai, C. L., 2003, Interferon and ribavirin therapy for chronic hepatitis C virus genotype 6: a comparison with genotype 1, *J. Infect. Dis.* 187:1071–1074.

Humayun, M. S., 2001, Intraocular retinal prosthesis, *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 99:271–300. Ikeda, F., Shimomura, H., Miyake, M., Fujioka, S. I., Itoh, M., Takahashi, A., Iwasaki, Y., Sakaguchi, K., Yamamoto, K., Higashi, T., and Tsuji, T., 2000, Early clearance of circulating hepatitis C virus enhanced by induction therapy with twice-a-day intravenous injection of IFN-beta, *J. Interferon Cytokine Res.* 20:831–836.

Ikonomidis, S., Tsaousis, P., Fyntanis, A. et al., 2005, New data regarding the use of oxidative estresse (ozone therapy) in the former Soviet Union countries, *Riv. Ital., Ossigeno Ozonioterapia*4:40–43.

Imray, C. H., Walsh, S., Clarke, T., Tiivas, C., Hoar, H., Harvey, T. C., Chan, C. W., Forster, P. J., Bradwell, A. R., and Wright, A. D., 2003, Effects of breathing air containing 3% carbon dioxide, 35% oxygen or a mixture of 3% carbon dioxide/35% oxygen on cerebral and peripheral oxygenation at 150 m and 3459 m, *Clin. Sci. (Lond)* 104:203–210.

Inaba, D., Ruben, J., Takagi, O., and Arends, J., 1996, Effect of sodium hypochlorite treatment on remineralization of human root dentine in vitro, *Caries Res.* 30:218–224.

Inch, W. R., McCredie, J. A., and Sutherland, R. M., 1970, Effect of duration of breathing 95 percent oxygen plus 5 percent carbon dioxide before x-irradiation on cure of C3H mammary tumor, *Cancer* 25:926–931.

Inui, Y., and Ichiyanagi, I., 2001, “Ozone Cleaner for Bedding, Bedclothes, etc.”, Japanese Patent 2001 161797 A2 (Assignee: Yasunaga K.K.).

Inzucchi, S. E., 2002, Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review, *JAMA* 287:360–372.

Iuliano, L., Colavita, A. R., Leo, R., Praticò, D., and Violi, F., 1997, Oxygen free radicals and platelet activation, *Free Radic. Biol. Med.* 22:999–1006.

Izzo, A., 2008, Oxygen-Ozone treatment of leg ulcers, *Int. J. Ozone Ther.* 7:126–135.

Jackson, K. A., Majka, S. M., Wang, H., Pocius, J., Hartley, C. J., Majesky, M. W., Entman, M. L., Michael, L. H., Hirschi, K. K., and Goodell, M. A., 2001, Regeneration

of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells, *J. Clin. Invest.* 107:1395–1402.

Jacobs, M.-T., 1982, Untersuchung über Zwischenfälle und typische Komplikationen in der OzonSauerstoff-Therapie, *OzoNachrichten* 1:5.

Jacobson, M. D., 1996, Reactive oxygen species and programmed cell death, *Trends Biochem. Sci.* 21:83–86.

Jaeschke, H., 1995, Mechanisms of oxidant estresse-induced acute tissue injury, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 209:104–111.

Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W., Fong, H. H., Farnsworth, N. R., Kinghorn, A. D., Mehta, R. G., Moon, R. C., and Pezzuto, J. M., 1997, Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes, *Science* 275:218–220.

Jeffcoate, W. J., and Harding, K. G., 2003, Diabetic foot ulcers, *Lancet* 361:1545–1551.

Jenner, P., 1994, Oxidative damage in neurodegenerative disease, *Lancet* 344:796–798.

Jerrett, M., Burnett, R. T., Pope, C. A. et al., 2009, Long-term ozone exposure and mortality, *N. Engl. J. Med.* 360:1085–1095.

Jia, L., Bonaventura, C., Bonaventura, J., and Stamler, J. S., 1996, S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control, *Nature* 380:221–226.

Jiang, J., Jordan, S. J., Barr, D. P., Gunther, M. R., Maeda, H., and Mason, R. P., 1997, In vivo production of nitric oxide in rats after administration of hydroxyurea, *Mol. Pharmacol.* 52:1081–1086.

Jindal., N., and Dellinger, R. P., 2000, Inhalation of nitric oxide in acute respiratory diestresse syndrome, *J. Lab. Clin. Med.* 136:21–28.

Johnson, P. W., Dixon, R., and Ross, A. D., 1998, An in-vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes, *Int. J. Parasitol.* 28: 627–633.

Johnson, R. J., Willson, R., Yamabe, H., Couser, W., Alpers, C. E., Wener, M. H., Davis, C., and Gretch, D. R., 1994, Renal manifestations of hepatitis C virus infection, *Kidney Int.* 46: 1255–1263.

Jolly, C., and Morimoto, R. I., 2000, Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death, *J. Natl. Cancer Inst.* 92:1564–1572.

Jordan, L., Beaver, K., and Foy, S., 2002, Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: is there an evidence base for practice? *Eur. J. Oncol. Nurs.* 6:220–227.

Jornot, L., Mirault, M. E., and Junod, A. F., 1991, Differential expression of hsp70 estresse proteins in human endothelial cells exposed to heat shock and hydrogen peroxide, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 5:265–275. Joyce, J., Rabe-Hesketh, S., and Wessely, S., 1998, Reviewing the reviews: the example of chronic fatigue syndrome, *JAMA* 280:264–266.

Joyner, M. J., and Dietz, N. M., 1997, Nitric oxide and vasodilation in human limbs, *J. Appl. Physiol.* 83:1785–1796.

Jucopilla, N., Ferrarese, C., Tirapelle, G., Battista, R., Mazzo, G., and Robert, A., 2000, Infiltrazioni disco-foraminali con O<sub>2</sub> –O<sub>3</sub> nelle SDR da conflitto disco-radicolari lombari, in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, p. 38.

Kadokawa, N., Morioka, T., Motoyama, N., Hashino, M., Mori, Y., Nishijima, W., Okada, M., and Moniwa, T., 2001, Advanced water treatment using ozone resistant microfiltration membrane, 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. 125–133.

Kalebic, T., Kinter, A., Poli, G., Anderson, M. E., Meister, A., and Fauci, A. S., 1991, Suppression of human immunodeficiency virus expression in chronically infected monocytic cells by glutathione, glutathione ester, and N-acetylcysteine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:986–990.

Kamp, D. W., 2003, Idiopathic pulmonary fibrosis: the inflammation hypothesis revisited, *Chest* 124:1187–1190.

Kang, H. J., Kim, H. S., Zhang, S. Y., Park, K. W., Cho, H. J., Koo, B. K., Kim, Y. J., Soo Lee, D., Sohn, D. W., Han, K. S., Oh, B. H., Lee, M. M., and Park, Y. B., 2004, Effects of intracoronary infusion of peripheral blood stem-cells mobilised with granulocyte-colony stimulating factor on left ventricular systolic function and restenosis after coronary stenting in myocardial infarction: the MAGIC cell randomised clinical trial., *Lancet* 363:751–756.

Kappos, L., Radue, E. W., and O'Connor, P., 2010, A placebo-controlled trial of oral Fingolimod in relapsing multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* in press.

Karandikar, N. J., Crawford, M. P., Yan, X., Ratts, R. B., Brenchley, J. M., Ambrozak, D. R., Lovett-Racke, A. E., Frohman, E. M., Stastny, P., Douek, D. C., Koup, R. A., and Racke, M. K., 2002, Glatiramer acetate (Copaxone) therapy induces CD8(+) T cell responses in patients with multiple sclerosis, *J. Clin. Invest.* 109:641–649.

Karp, C. L., Biron, C. A., and Irani, D. N., 2000, Interferon beta in multiple sclerosis: is IL-12 suppression the key? *Immunol. Today* 21:24–28.

Karppinen, J., Korhonen, T., Malmivaara, A., Paimela, L., Kyllonen, E., Lindgren, K. A., Rantanen, P., Tervonen, O., Niinimäki, J., Seitsalo, S., and Hurri, H., 2003, Tumor necrosis factor-alpha monoclonal antibody, infliximab, used to manage severe sciatica, *Spine* 28:750–753.

Kashiba, M., Kasahara, E., Chien, K. C., and Inoue, M., 1999, Fates and vascular action of Snitrosoglutathione and related compounds in the circulation, *Arch.*

Biochem. Biophys. 363: 213–218.

Kasumjan, S. A., Lelyanov, A. D., Guseva, E. D., and Alexeev, B. P., 1995, The ozonotherapy of the acute suppurative infection, in *The ozone in biology and medicine*. 2nd all Russian Scientific-Practical Conference, September 6–8, 1995. Russian association of ozonotherapy, Reshetnikovskaya street 2, Nizhni Novgorod, 603006 Russia, p. 16.

Katano, H., Pesnicak, L., and Cohen, J. I., 2004, Simvastatin induces apoptosis of EpsteinBarr virus (EBV)-transformed lymphoblastoid cell lines and delays development of EBV lymphomas, *Proc, Natl. Acad. Sci. USA* 101:4960–4965.

Kaul, D. K., Tsai, H. M., Liu, X. D., Nakada, M. T., Nagel, R. L., and Coller, B. S., 2000, Monoclonal antibodies to alphaVbeta3 (7E3 and LM609) inhibit sickle red blood cell-endothelium interactions induced by platelet-activating factor, *Blood* 95:368–374.

Keane, J., Gershon, S., Wise, R. P., Mirabile-Levens, E., Kasznica, J., Schwieterman, W. D., Siegel, J. N., and Braun, M. M., 2001, Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha- neutralizing agent, *N. Engl. J. Med.* 345:1098–1104.  
Keane, M. P., and Strieter, R. M., 2002, The importance of balanced pro-inflammatory and antiinflammatory mechanisms in diffuse lung disease, *Respir. Res.* 3:5.

Keegan, B. M., and Noseworthy, J. H., 2002, Multiple sclerosis, *Annu. Rev. Med.* 53:285–302.

Kelly, F. J., Mudway, I., Krishna, M. T., and Holgate, S. T., 1995, The free radical basis of air pollution: focus on ozone, *Resp. Med.* 89:647–656.

Kiang, J. G., and Tsokos, G. C., 1998, Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry, and physiology, *Pharmacol. Ther.* 80:183–201.

Kief, H., 1993, The treatment of malignant diseases with AHIT, in *Proceedings: IOA Congress, San Francisco, CA (International Ozone Association, Ed.)*, pp. 26–31.

Kim, C. H., Choi, H., Chun, Y. S., Kim, G. T., Park, J. W., and Kim, M. S., 2001, Hyperbaric oxygenation pretreatment induces catalase and reduces infarct size in ischemic rat myocardium, *Pflugers. Arch.* 442:519–525.

Kim, N. W., Piatyszek, M. A., Prowse, kR. et al., 1994, Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer, *Science* 266:2011–2015.

Kimberlin, D. W., and Rouse, D. J., 2004, Clinical practice. Genital herpes, *N. Engl. J. Med.* 350:1970–1977.

Kimura, I., Shinoda, K., Tanino, T., Ohtake, Y., Mashima, Y., and Oguchi, Y., 2003, Scanning laser Doppler flowmeter study of retinal blood flow in macular area of healthy volunteers, *Br. J. Ophthalmol.* 87:1469–1473.

Kindwall, E. P., 1993, Hyperbaric Oxygen, *BMJ* 307:515–516.

King, G. L., and Suzuma, K., 2000, Pigment-epithelium-derived factor – a key coordinator of retinal neuronal and vascular functions, *N. Engl. J. Med.* 342:349–351.

Kinnula, V. L., and Crapo, J. D., 2004, Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors, *Free Radic, Biol. Med.* 36:718–744.

Kipnis, J., Yoles, E., Porat, Z., Cohen, A., Mor, F., Sela, M., Cohen, I. R., and Schwartz, M., 2000, T cell immunity to copolymer 1 confers neuroprotection on the damaged optic nerve: possible therapy for optic neuropathies, *Proc, Natl. Acad. Sci. USA* 97:7446–7451.

Kirby, P. K., Kiviat, N., Beckman, A., Wells, D., Sherwin, S., and Corey, L., 1988, Tolerance and efficacy of recombinant human interferon gamma in the treatment of refractory genital warts, *Am. J. Med.* 85:183–188.

Kleeberger, S. R., Levitt, R. C., Zhang, L. Y., Longphre, M., Harkema, J., Jedlicka, A., Eleff, S. M., DiSilvestre, D., and Holroyd, K. J., 1997, Linkage analysis of susceptibility to ozone-induced lung inflammation in inbred mice, *Nat. Genet.* 17:475–478.

Klein HG, Anstee DJ., 2014, *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine - 12th edition*, Malden (MA): Oxford: Blackwell Publishing.

Klein, R., Klein, B. E., and Franke, T., 1993, The relationship of cardiovascular disease and its risk factors to age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study, *Ophthalmology* 100:406–414.

Klein, R., Klein, B. E., Jensen, S. C., and Meuer, S. M., 1997, The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study, *Ophthalmology* 104:7–21.

Klomp, H. M., Spincemaille, G. H. J. J., Steyerberg, E. W., Habbema, J. D. F., and van Urk, H., and for the ESES study group, 1999, Spinal-cord stimulation in critical limb ischaemia: a randomised trial., *Lancet* 353:1040–1044.

Knoch, H.-G., and Klüg, W., 1990, Ozon-Sauerstoff-Therapie der Proktitis, *Med. Welt.* 41: 371–374.

Knoch, H.-G., Roschke, W., and Klüg, W., 1987, Ozone/oxygen therapy in proctology, *OzoNachrichten* 6:51–70.

Knudsen, P. J., Leon, J., Ng, A. K., Shaldon, S., Floege, J., and Koch, K. M., 1989, Hemodialysis-related induction of beta-2 – microglobulin and interleukin-1 synthesis and release by mononuclear phagocytes, *Nephron* 53:188–193.

Kohner, E., 2003a, Extracts from “concise clinical evidence”. Commentary: treatment of diabetic retinopathy, *BMJ* 326:1023–1025.

Kohner, E. M., 2003b, Aspirin for diabetic retinopathy, *BMJ* 327:1060–1061.

- Kokura, S., Yoshida, N., and Yoshikawa, T., 2002, Anoxia/reoxygenation-induced leukocyteendothelial cell interactions, *Free Radic. Biol. Med.* 33:427–432.
- Kollef, M. H., and Fraser, V. J., 2001, Antibiotic resistance in the intensive care unit, *Ann. Intern. Med.* 134:298–314.
- Komaroff, A. L., 2000, The biology of chronic fatigue syndrome, *Am. J. Med.* 108:169–171.
- Komaroff, A. L., and Buchwald, D. S., 1998, Chronic fatigue syndrome: an update, *Annu. Rev. Med.* 49:1–13.
- Kondo, S., Toyokuni, S., Iwasa, Y., Tanaka, Y., Onodera, H., Hiai, H., and Imamura, M., 1999, Persistent oxidative estresse in human colorectal carcinoma, but not in adenoma, *Free Radic. Biol. Med.* 27:401–410.
- 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.
- Konstantinov, K., von Mikecz, A., Buchwald, D., Jones, J., Gerace, L., and Tan, E. M., 1996, Autoantibodies to nuclear envelope antigens in chronic fatigue syndrome, *J. Clin. Invest.* 98:1888–1896.
- Kotler, D. P., 2003, HIV infection and lipodystrophy, *Prog. Cardiovasc. Dis.* 45:269–284.
- Kowaltowski, A. J., de Souza-Pinto, N. C., Castilho, R. F. et al., 2009, Mitochondria and reactive oxygen species, *Free Radic. Biol. Med.* in press, May 7.
- Kraft, K., Stenkamp, E., Sachinidis, A., Seewald, S., and Vetter, H., 1998, Effect of autohemotherapy with ozone on cardiovascular risk factors in patients with mild hypertension, *Perfusion*11:216–219.
- Kramer, B. S., and Klausner, R. D., 1997, Grappling with cancer, Defeatism versus the reality of progress, *N. Engl. J. Med.* 337:931–934.
- Kremer, J. M., Westhovens, R., Leon, M., Di Giorgio, E., Alten, R., Steinfeld, S., Russell, A., Dougados, M., Emery, P., Nuamah, I. F., Williams, G. R., Becker, J. C., Hagerty, D. T., and Moreland, L. W., 2003, Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig, *N. Engl. J. Med.* 349:1907–1915.
- Krinsky, N. I., Landrum, J. T., and Bone, R. A., 2003, Biologic mechanisms of the protective role of lutein and zeaxanthin in the eye, *Annu. Rev. Nutr.* 23:171–201.

Kruger, C., Greten, T. F., and Korangy, F., 2007, Immune based therapies in cancer, *Histol. Histopathol.* 22:687–696.

Kudravcev, B. P., Miroshin, S. J., and Semyonov, S. V., 1995, The use of ozonized solutions in complex treatment of peritonitis, in *The ozone in biology and medicine. 2nd All Russian Scientific-Practical Conference, September 6–8, 1995*, Russian Association of Ozonotherapy, Reshetnikovskaya stret, 2 – Nizhni Novgorod, 603006 Russia, Nizhni Novgorod, p. 20.

Kumaraguruparan, R., Subapriya, R., Viswanathan, P., and Nagini, S., 2002, Tissue lipid peroxidation and antioxidant status in patients with adenocarcinoma of the breast, *Clin. Chim. Acta* 325:165–170.

Kume, M., Yamamoto, Y., Saad, S., Gomi, T., Kimoto, S., Shimabukuro, T., Yagi, T., Nakagami, M., Takada, Y., Morimoto, T., and Yamaoka, Y., 1996, Ischemic preconditioning of the liver in rats: implications of heat shock protein induction to increase tolerance of ischemia-reperfusion injury, *J. Lab. Clin. Med.* 128:251–258.

Kupper, T. S., 2003, Immunologic targets in psoriasis, *N. Engl. J. Med.* 349:1987–1990.

Kuruville, A. P., Shah, R., Hochwald, G. M., Liggitt, H. D., Palladino, M. A., and Thorbecke, G. J., 1991, Protective effect of transforming growth factor b1 on experimental autoimmune diseases in mice., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:2918–2921.

Labow, R. S., Tocchi, M., and Rock, G., 1986, Contamination of platelet storage bags by phthalate esters, *Toxicol. Environ. Health* 19:591–598.

Laitinen, M., Mäkinen, K., Manninen, H., Matsi, P., Kossila, M., Agrawal., R. S., Pakkanen, T., Luoma, J. S., Viita, H., Hartikainen, J., Alhava, E., Laakso, M., and Ylä-Herttua, S., 1998, Adenovirus-mediated gene transfer to lower limb artery of patients with chronic critical leg ischemia, *Hum. Gene. Ther.* 9:1481–1486.

Lalezari, J. P., Henry, K., O’Hearn, M., Montaner, J. S., Piliero, P. J., Trottier, B., Walmsley, S., Cohen, C., Kuritzkes, D. R., Eron, J. J., Jr., Chung, J., DeMasi, R., Donatucci, L., Drobnes, C., Delehanty, J., and Salgo, M., 2003, Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America, *N. Engl. J. Med.* 348:2175–2185.

Lal., G., and Bromberg, J. S., 2009, Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression, *Blood* 114:3727–3735.

Lamberts, S. W., van den Beld, A. W., and van der Lely, A. J., 1997, The endocrinology of aging, *Science* 278:419–424.

Lambeth, J. D., 2004, NOX enzymes and the biology of reactive oxygen, *Nat. Rev. Immunol.* 4:181–189.

Landay, A. L., Jessop, C., Lennette, E. T., and Levy, J. A., 1991, Chronic fatigue

syndrome: clinical condition associated with immune activation, *Lancet* 338:707–712.

Lane, R., and Phillips, M., 2003, Rhabdomyolysis, *BMJ* 327:115–116.

Lang, A. E., and Lozano, A. M., 1998a, Parkinson's disease. First of two parts, *N. Engl. J. Med.* 339:1044–1053.

Lang, A. E., and Lozano, A. M., 1998b, Parkinson's disease. Second of two parts, *N. Engl. J. Med.* 339:1130–1143.

Langen, R. C., Korn, S. H., and Wouters, E. F., 2003, ROS in the local and systemic pathogenesis of COPD, *Free Radic. Biol. Med.* 35:226–235.

Larbi, A., Franceschi, C., Mazzatti, D. et al., 2008, Aging of the immune system as a prognostic factor for human longevity, *Physiology (Bethesda)* 23:64–74.

Larini, A., and Bocci, V., 2004, Effects of ozone on isolated peripheral blood mononuclear cells, *Toxicol. Vitro.* in press.

Larini, A., Bianchi, L., and Bocci, V., 2003, The ozone tolerance: (I) Enhancement of antioxidant enzymes is ozone dose-dependent in Jurkat cells, *Free Radic. Res.* 37: 1163–1168.

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.

Larrea, E., Beloqui, O., Muñoz-Navas, M. A., Civeira, M. P., and Prieto, J., 1998, Superoxide dismutase in patients with chronic hepatitis C virus infection, *Free Radic. Biol. Med.* 24: 1235–1241.

Last, J. A., Warren, D. L., Pecquet-Goad, E., and Witschi, H., 1987, Modification by ozone of lung tumor development in mice, *J. Natl. Cancer Inst.* 78:149–154.

Lawrence, W. H., 1978, Phthalate esters: the question of safety, *Clin. Toxicol.* 13:89.

Leach, R. M., Rees, P. J., and Wilmshurst, P., 1998, Hyperbaric oxygen therapy, *BMJ* 317: 1140–1143.

Lebwohl, M., Tying, S. K., Hamilton, T. K., Toth, D., Glazer, S., Tawfik, N. H., Walicke, P., Dummer, W., Wang, X., Garovoy, M. R., and Pariser, D., 2003, A novel targeted T-cell modulator, efalizumab, for plaque psoriasis, *N. Engl. J. Med.* 349:2004–2013.

Lederman, R. J., Mendelsohn, F. O., Anderson, R. D., Saucedo, J. F., Tenaglia, A. N., Hermiller, J. B., Hillegass, W. B., Rocha-Singh, K., Moon, T. E., Whitehouse, M. J., and Annex, B. H., 2002, Therapeutic angiogenesis with recombinant fibroblast growth factor-2 for intermittent claudication (the TRAFFIC study): a randomised trial., *Lancet* 359:2053–2058.

Lee, T. S., and Chau, L. Y., 2002, Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of interleukin-10 in mice, *Nat. Med.* 8:240–246.

Leist, M., Raab, B., Maurer, S., and Brigelius-Flohé, R., 1996, Conventional cell culture media do not adequately supply cells with antioxidants and thus facilitate peroxide-induced genotoxicity, *Free Radic. Biol. Med.* 21:297–306.

León, O. S., Menéndez, S., Merino, N., Castillo, R., Sam, S., Pérez, L., Cruz, E., and Bocci, V., 1998, Ozone oxidative preconditioning: a protection against cellular damage by free radicals, *Mediators Inflamm.* 7:289–294.

Leonardi, C. L., Powers, J. L., Matheson, R. T., Goffe, B. S., Zitnik, R., Wang, A., and Gottlieb, A. B., 2003, Etanercept as monotherapy in patients with psoriasis, *N. Engl. J. Med.* 349: 2014–2022.

Leonardi, M., Simonetti, L., and Barbara, C., 2001, Effetti dell'ozônio sul nucleo polposo: reperti anatomico-patologici su un caso operato, *Riv. Neuroradiol.* 14:57–59.

Lescai, F., Blanchè, H., Nebel, A. et al., 2009, Human longevity and IIP15.5: a study in 1321 centenarians, *Eur. J. Hum. Genet.* 17:1515–1519.

Letterio, J. J., and Roberts, A. B., 1998, Regulation of immune responses by TGF- $\beta$ , *Annu. Rev. Immunol.* 16:137–161.

Leung, D. Y., 1999, Pathogenesis of atopic dermatitis, *J. Allergy Clin. Immunol.* 104: S99–S108.

Levi, F., Lucchini, F., Negri, E., Boyle, P., and La Vecchia, C., 1999, Cancer mortality in Europe, 1990–1994, and an overview of trends from 1955 to 1994, *Eur. J. Cancer* 35:1477–1516.

Levine, M., Conry-Cantilena, C., Wang, Y., Welch, R. W., Washko, P. W., Dhariwal, K. R., Park, J. B., Lazarev, A., Graumlich, J. F., King, J., and Cantilena, L. R., 1996, Vitamin C pharmacokinetics in health volunteers: evidence for a recommended dietary allowance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:3704–3709.

Levine, M., Daruwala, R. C., Park, J. B., Rumsey, S. C., and Wang, Y., 1998, Does vitamin C have a pro-oxidant effect? *Nature* 395:231.

Levine, M., Espey, M. G., and Chen, Q., 2009, Losing and finding a way at C: new promise for pharmacologic ascorbate in cancer treatment, *Free Radic. Biol. Med.* 47:27–29.

Levine, R. L., 2002, Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease, *Free Radic. Biol. Med.* 32:790–796.

Lewin, N., Craik, S., Li, H., Smith, D. W., and Belosevic, M., 2001, Sequential inactivation of *Cryptosporidium* using ozone followed by free chlorine in natural water, *Ozone Sci. Eng.* 23:411–420.

Lewis, L. M., Flechtner, T. W., Kerkay, J., Pearson, K. H., Chen, W. T., Popowniak, K. L., and Nakamoto, S., 1977, Determination of plasticizer levels in serum of hemodialysis patients, *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs* 23:566–572.

Li, C. K., Chan, P. K., Ling, S. C., and Ha, S. Y., 2002, Interferon and ribavirin as frontline treatment for chronic hepatitis C infection in thalassaemia major, *Br. J. Haematol.* 117: 755–758.

Li, P. A., Liu, G. J., He, Q. P., Floyd, R. A., and Siesjo, B. K., 1999, Production of hydroxyl free radical by brain tissues in hyperglycemic rats subjected to transient forebrain ischemia, *Free Radic. Biol. Med.* 27:1033–1040.

Liao, J. K., 2002, Isoprenoids as mediators of the biological effects of statins, *J. Clin. Invest.* 110:285–288.

Liaw, K.-L., Glass, A. G., Manos, M. M., Greer, C. E., Scott, D. R., Sherman, M., Burk, R. D., Kurman, R. J., Wacholder, S., Rush, B. B., Cadell, D. M., Lawler, P., Tabor, D., and Schiffman, M., 1999, Detection of human papillomavirus DNA in cytologically normal women and subsequent cervical squamous intraepithelial lesions, *J. Natl. Cancer Inst.* 91: 954–960.

Lilienfeld, D. E., and Perl, D. P., 1993, Projected neurodegenerative disease mortality in the United States, 1990–2040, *Neuroepidemiology* 12:219–228.

Lindner, A., Charra, B., Sherrard, D. J., and Scribner, B. H., 1974, Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis, *N. Engl. J. Med.* 290:697–701.

Liou, C. T., Wang, J. S., and Ooi, H. K., 2002, Effect of ozone treatment on *Eimeria colchici* oocysts, *J. Parasitol.* 88:159–162.

Lippman, M., 1989, Health effects of ozone, a critical review, *J. Am. Air Pollut. Control Assoc.* 39:672–695.

Littlewood, T. J., Bajetta, E., Nortier, J. W., Vercaemmen, E., and Rapoport, B., 2001, Effects of epoetin alfa on hematologic parameters and quality of life in cancer patients receiving nonplatinum chemotherapy: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial., *J. Clin. Oncol.* 19:2865–2874.

Liu, H., Bravata, D. M., Olkin, I. et al., 2007, Systematic review; the safety and efficacy of growth hormone in the healthy elderly, *Ann. Intern. Med.* 146:104–115.

Liu, H., Ren, J. G., Cooper, W. L., Hawkins, C. E., Cowan, M. R., and Tong, P. Y., 2004, Identification of the antivasopermeability effect of pigment epithelium-derived factor and its active site, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101:6605–6610.

Livrea, M. A., Tesoriere, L., Pintaudi, A. M., Calabrese, A., Maggio, A., Freisleben, H. J., D'Arpa, D., D'Anna, R., and Bongiorno, A., 1996, Oxidative estresse and antioxidant status in beta-thalassemia major: iron overload and depletion of lipid-soluble antioxidants, *Blood* 88:3608–3614.

Llevadot, J., Murasawa, S., Kureishi, Y., Uchida, S., Masuda, H., Kawamoto, A., Walsh, K., Isner, J. M., and Asahara, T., 2001, HMG-CoA reductase inhibitor mobilizes bone marrow – derived endothelial progenitor cells, *J. Clin. Invest.*

108:399–405.

Lockwood, A. H., Salvi, R. J., and Burkard, R. F., 2002, Tinnitus, *N. Engl. J. Med.* 347:904–910.

Loconte, S., 2000, La sindrome fibromialgica primaria, in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, p. 40.

Loebstein, R., Lehotay, D. C., Luo, X., Bartfay, W., Tyler, B., and Sher, G. D., 1998, Diabetic nephropathy in hypertransfused patients with beta-thalassemia. The role of oxidative estresse, *Diabetes Care* 21:1306–1309.

Long, N. C., Suh, J., Morrow, J. D., Schiestl, R. H., Murthy, G. G., Brain, J. D., and Frei, B., 2001, Ozone causes lipid peroxidation but little antioxidant depletion in exercising and nonexercising hamsters, *J. Appl. Physiol.* 91:1694–1700.

Loprete, F., 1999, Utilizzo dell'ossigeno-Ozonioterapianel trattamento della malattia varicosa e sue complicanze, in *L'Ozonioterapianel 2000* (F. Ceccherelli, and F. Giron, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 129–135.

Los, M., Dröge, W., Stricker, K., Baeuerle, P. A., and Schulze-Osthoff, K., 1995, Hydrogen peroxide as a potent activator of T lymphocyte functions, *Eur. J. Immunol.* 25:159–165.

Love, I. N., 1888, Peroxide of hydrogen as a remedial agent, *JAMA* 262–265.

Lovell, D. J., Giannini, E. H., Reiff, A., Cawkwell, G. D., Silverman, E. D., Nocton, J. J., Stein, L. D., Gedalia, A., Ilowite, N. T., Wallace, C. A., Whitmore, J., and Finck, B. K., 2000, Etanercept in children with polyarticular juvenile rheumatoid arthritis. Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group, *N. Engl. J. Med.* 342:763–769.

Lusis, A. J., 2000, Atherosclerosis, *Nature* 407:233–241.

Lynch, E., (Ed.), 2004, *The revolution in dentistry*. Quintessence Copenhagen Publisher, Copenhagen.

Mach, F., 2003, Statins as novel immunomodulators: from cell to potential clinical benefit, *Thromb. Haemost.* 90:607–610.

Macular photocoagulation group, 1991, Argon laser photocoagulation for neovascular maculopathy after five years: results for randomized clinical trials, *Arch. Ophthalmol.* 109: 1109–1114.

Maddox, K., and Back, R. F., 1935, An enquiry into the value of autohaemotherapy in juvenile asthma, *Arch. Dis. Child.* 10:381–388.

Madej, P., Plewka, A., Madej, J. A. et al., 2007, Ozone therapy in induced endotoxemic shock. II. The effect of Ozone therapy upon selected histochemical reactions on organs of rats in endotoxemic shock, *Inflammation* 30:69–86.

Maestrelli, P., Paska, C., Saetta, M., Turato, G., Nowicki, Y., Monti, S., Formichi, B.,

Miniati, M., and Fabbri, L. M., 2003, Decreased haem oxygenase-1 and increased inducible nitric oxide synthase in the lung of severe COPD patients, *Eur. Respir. J.* 21:971–976.

Maggio, M., Ceda, G. P., Basaria, S. et al., 2008, Dehydroepiandrosterone sulphate has not been substantiated as an anabolic hormone-reply, *Arch. Intern. Med.* 168:1470.

Maini, R., St Clair, E. W., Breedveld, F., Furst, D., Kalden, J., Weisman, M., Smolen, J., Emery, P., Harriman, G., Feldmann, M., and Lipsky, P., 1999, Infliximab (chimeric anti-tumour necrosis factor alpha monoclonal antibody) versus placebo in rheumatoid arthritis patients receiving concomitant methotrexate: a randomised phase III trial., ATTRACT Study Group, *Lancet* 354:1932–1939.

Major, E. O., 2009, Reemergence of PML in natalizumab-treated patients—new cases, same concerns, *N. Engl. J. Med.* 361:1041–1043.

Makino, Y., Okamoto, K., Yoshikawa, N., Aoshima, M., Hirota, K., Yodoi, J., Umesono, K., Makino, I., and Tanaka, H., 1996, Thioredoxin: a redox-regulating cellular cofactor for glucocorticoid hormone action. Cross talk between endocrine control of estresse response and cellular antioxidant defense system, *J. Clin. Invest.* 98:2469–2477.

Mallozzi, C., Di Stasi, A. M., and Minetti, M., 1997, Peroxynitrite modulates tyrosine-dependent signal transduction pathway of human erythrocyte band 3, *FASEB J.* 11:1281–1290.

Manu, P., 2000, Chronic fatigue syndrome: the fundamentals still apply, *Am. J. Med.* 108:172–173.

Marchegiani, F., Marra, M., Olivieri, F. et al., 2008, Paraoxonase 1: genetics and activities during aging, *Rejuvenation Res.* 11:113–127.

Marin DP1, dos Santos Rde C, Bolin AP, Guerra BA, Hatanaka E, Otton R., 2011, Cytokines and oxidative estresse status following a handball game in elite male players, *Oxid Med Cell Longev.* 2011:804873.

Markesbery, W. R., 1997, Oxidative estresse hypothesis in Alzheimer's disease, *Free Radic. Biol. Med.* 23:134–147.

Marrades, R. M., Roca, J., Campistol, J. M., Diaz, O., Barbera, J. A., Torregrosa, J. V., Masclans, J. R., Cobos, A., Rodriguez-Roisin, R., and Wagner, P. D., 1996, Effects of erythropoietin on muscle O<sub>2</sub> transport during exercise in patients with chronic renal failure, *J. Clin. Invest.* 97:2092–2100.

Martin, P., 1997, Wound healing-aiming for perfect skin regeneration, *Science* 276:75–81.

Martinez-Sanchez, G., Al-Dalain, S. M., Menendez, S., et al., 2005, Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur. J. Pharmacol.* 523:151–161.

Martindale, W., and Capper, K. T., 1952, The extra pharmacopoeia, The Pharmaceutical Press, London, pp. 1–816.

Masschelein, W. J., 1996, Iodometric method for the determination of ozone in a process gas, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. 1–3.

Matos, H. R., Di Mascio, P., and Medeiros, M. H., 2000, Protective effect of lycopene on lipid peroxidation and oxidative DNA damage in cell culture, *Arch. Biochem. Biophys.* 383:56–59.

Matsumoto, A., Sakurai, S., Shinriki, N., Suzuki, S., and Miura, T., 2001, Therapeutic effects of ozonized olive oil in the treatment of intractable fistula and wound after surgical operation, 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. 77–84.

Mattassi, R., Bassi, P., D'Angelo, F., Franchina, A., and Sbrascini, S., 1985, Ozone as therapy in herpes simplex and herpes zoster diseases, in *Medical applications of ozone* (J. LaRaus, Ed.), International Ozone Association, Norwalk, CT, pp. 134–137.

Mattassi, R., D'Angelo, F., Bisetti, P., Colombo, R., and Vaghi, M., 1987, Terapia con ozônio per via parenterale nelle arteriopatie obliteranti periferiche: meccanismo biochimico e risultati clinici, *Il Giornale Di Chirurgia* VIII:109–111.

Mattox, D. E., and Simmons, F. B., 1977, Natural history of sudden sensorineural hearing loss, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 86:463–480.

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

Mayer, R. J., 2004, Two steps forward in the treatment of colorectal cancer, *N. Engl. J. Med.* 350:2406–2408.

McCall, M. R., and Frei, B., 1999, Can antioxidant vitamins materially reduce oxidative damage in humans? *Free Radic. Biol. Med.* 26:1034–1053.

McCarey, D. W., McInnes, I. B., Madhok, R., Hampson, R., Scherbakov, O., Ford, I., Capell, H. A., and Sattar, N., 2004, Trial of Atorvastatin in Rheumatoid Arthritis (TARA): double-blind, randomised placebo-controlled trial., *Lancet* 363:2015–2021.

McConnell, R., Berhane, K., Gilliland, F., London, S. J., Islam, T., Gauderman, W. J., Avol, E., Margolis, H. G., and Peters, J. M., 2002a, Asthma in exercising children exposed to ozone: a cohort study, *Lancet* 359:386–391.

McConnell, R., Berhane, K., Gilliland, F., London, S. J., Islam, T., Gauderman, W. J., Avol, E., Margolis, H. G., and Peters, J. M., 2002b, Asthma in exercising children exposed to ozone: a cohort study, *Lancet* 359:386–391.

McCord, J. M., 1974, Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase, *Science* 185:529–531.

McCully, K. K., and Natelson, B. H., 1999, Impaired oxygen delivery to muscle in chronic fatigue syndrome, *Clin. Sci. (Lond)* 97:603–608.

McDonnell, W. F., 1991, Intersubject variability in human acute ozone responsiveness, *Pharmacogenetics* 1:110–113.

McInnes, I. B., and Liew, F. Y., 1998, Interleukin 15: a proinflammatory role in rheumatoid arthritis synovitis, *Immunol. Today* 19:75–79.

Mecocci, P., Polidori, M. C., Troiano, L., Cherubini, A., Cecchetti, R., Pini, G., Straatman, M., Monti, D., Stahl, W., Sies, H., Franceschi, C., and Senin, U., 2000, Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians, *Free Radic. Biol. Med.* 28:1243–1248.

Meewes, C., Brenneisen, P., Wenk, J., Kuhr, L., Ma, W., Alikoski, J., Poswig, A., Krieg, T., and Scharffetter-Kochanek, K., 2001, Adaptive antioxidant response protects dermal fibroblasts from UVA- induced phototoxicity, *Free Radic. Biol. Med.* 30:238–247.

Mellanby, R. J., Thomas, D. C., and Lamb, J., 2009, Role of regulatory T-cells in autoimmunity, *Clin. Sci.* 116:639–649.

Mellor, A. L., and Munn, D. H., 1999, Tryptophan catabolism and T-cell tolerance: immunosuppression by starvation? *Immunol. Today* 20:469–473.

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.

Menéndez, F., Díaz, G., Menéndez, S., 1989. [Ozone therapy in rheumatoid arthritis]. *Rev CENIC Cienc Biol* 20, 144–151.

Menendez, S. et al., 1995, Application of ozonized oil in the treatment of infantile giardiasis, 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. 297–300.

Menendez, S., Falcon, L., Simon, D. R., and Landa, N., 2002, Efficacy of ozonized sunflower oil in the treatment of tinea pedis, *Mycoses* 45:329–332.

Menendez, S., Falcon, L., and Maqueira, Y., 2010, Therapeutic efficacy of topically Oleozon in patients suffering from onychomycosis, *Mycoses* in press.

Merz, T., Bender, M. A., Kerr, H. D., and Kulle, T. J., 1975, Observations of aberrations in chromosomes of lymphocytes from human subjects exposed at a

concentration of 0.5 ppm for 6 and 10 hours, *Mutat. Res.* 3:299–302.

Mezey, E., Key, S., Vogelsang, G., Szalayova, I., Lange, G. D., and Crain, B., 2003, Transplanted bone marrow generates new neurons in human brains, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 1364–1369.

Micheli, V., Ricci, C., Taddeo, A., and Gili, R., 1985, Centrifugal fractionation of human erythrocytes according to age: comparison between Ficoll and Percoll density gradients, *Quad. Sclavo. Diagn* 21:236–248.

Miller, D. H., 2003, Commentary: evaluating disease modifying treatments in multiple sclerosis, *BMJ* 326:525.

Miller, D. H., Khan, O. A., Sheremata, W. A., Blumhardt, L. D., Rice, G. P., Libonati, M. A., Willmer-Hulme, A. J., Dalton, C. M., Miszkiel, K. A., and O'Connor, P. W., 2003, A controlled trial of natalizumab for relapsing multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 348:15–23.

Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., and Milner, A., 1993, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, *Clin. Sci.* 84:407–412.

Milligan, N. G., Newcombe, R., and Compston, D. A. S., 1986, A double-blind controlled trial of high-dose methylprednisolone in patients with multiple sclerosis. 1: clinical effects, *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* 50:511–516.

Minetti, M., Mallozzi, C., Di Stasi, A. M. M., and Pietraforte, D., 1998, Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma, *Arch. Biochem. Biophys.* 352:165–174.

Minokoshi, Y., Kim, Y. B., Peroni, O. D., Fryer, L. G., Muller, C., Carling, D., and Kahn, B. B., 2002, Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase, *Nature* 415:339–343.

Miroshin, S. J., and Kontorshikova, C. N., 1995, The use of ozonotherapy technology in the treatment of modern war surgical trauma, in *The ozone in biology and medicine. 2nd All Russian Scientific-Practical Conference, September 6–8, 1995. Russian association of ozonotherapy, Reshetnikovskaya street 2, Nizhni Novgorod, 603006 Russia, p. 16.*

Miura, T., Suzuki, S., Sakurai, S., Matsumoto, A., and Shinriki, N., 2001, Structure elucidation of ozonated olive oil, 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. 72–76.*

Miyazono, M., Garat, C., Morris, K. G., Jr., and Carter, E. P., 2002, Decreased renal heme oxygenase-1 expression contributes to decreased renal function during cirrhosis, *Am. J. Physiol. Renal., Physiol.* 283: F1123–F1131.

Moldofsky, H., Scarisbrick, P., England, R., and Smythe, H. A., 1975, Musculoskeletal symptoms and non-REM sleep disturbance in patients with

“Fibrositis Syndrome” and healthy subjects, *Psychosom. Med.* 37:341–351.

Molina, M. J., and Rowland, F. S., 1974, Stratospheric sink for chlorofluoromethanes: chlorine atom catalyzed destruction of ozone, *Nature* 249:810–814.

Molinari, F., Simonetti, V., Franzini, M., Pandolfi, S., Vaiano, F., Valdenassi, L., Liboni, W., 2014. Ozone autohemotherapy induces long-term cerebral metabolic changes in multiple sclerosis patients. *Int J Immunopathol Pharmacol* 27, 379–389.

Moncada, S., 1992, Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity, *J. Lab. Clin. Med.* 120:187–191.

Morena, M., Cristol, J. P., Bosc, J. Y., Tetta, C., Forret, G., descomps, B., and Canaud, B., 1998, Convective and diffusive losses of vitamin C during hemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative estresse in hemodialysis patients, *Nephrol. Dial., Transplant.* 13: A200.

Morena, M., Cristol, J. P., and Canaud, B., 2000, Why hemodialysis patients are in a prooxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance, *Blood Purif.* 18: 191–199.

Mori, T. A., Woodman, R. J., Burke, V., Puddey, I. B., Croft, K. D., and Beilin, L. J., 2003, Effect of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on oxidative estresse and inflammatory markers in treated hypertensive type 2 diabetic subjects, *Free Radic. Biol. Med.* 35:772–781.

Morisco, F., Verde, V., Fogliano, V., Ritieni, A., Marmo, R., De Luise, G., Tuccillo, C., and Caporaso, N., 2004, Oxidative status in chronic hepatitis C: the influence of antiviral therapy and prognostic value of serum hydroperoxide assay, *Free Radic. Res.* 38:573–58

Morita, T., and Kourembanas, S., 1995, Endothelial cell expression of vasoconstrictors and growth factors is regulated by smooth muscle cell-derived carbon monoxide, *J. Clin. Invest.* 96: 2676–2682.

Morley, J. E., and Perry, H. M., III, 2000, Androgen deficiency in aging men: role of testosterone replacement therapy, *J. Lab. Clin. Med.* 135:370–378.

Morris, C. R., Kuypers, F. A., Larkin, S., Sweeters, N., Simon, J., Vichinsky, E. P., and Styles, L. A., 2000, Arginine therapy: a novel strategy to induce nitric oxide production in sickle cell disease, *Br. J. Haematol.* 111:498–500.

Morrow, J. D., and Jackson Roberts, L., 1997, The isoprostanes: unique bioactive products of lipid peroxidation, *Prog. Lipid Res.* 36:1–21.

Morrow, J. D., Frei, B., Longmire, A. W., Gaziano, J. M., Lynch, S. M., Shyr, Y., Strauss, W. E., Oates, J. A., and Roberts, L. J., 1995, Increase in circulating products of lipid peroxidation (F<sub>2</sub>- isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage, *N. Engl. J. Med.* 332: 1198–1203.

Morsy, M. D., Niazy, W. H., and Zalut, S. I., 2010, Improvement of renal oxidative

estresse markers after ozone administration in diabetic nephropathy in rats, *Diab. Metab. Disord.* 2010 in press.

Mosmann, T. R., and Sad, S., 1996, The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more, *Immunol. Today* 17:138–146.

Motzer, R. J., Rakhit, A., Thompson, J. A., Nemunaitis, J., Murphy, B. A., Ellerhorst, J., Schwartz, L. H., Berg, W. J., and Bukowski, R. M., 2001, Randomized multicenter phase II trial of subcutaneous recombinant human interleukin-12 versus interferon-alpha 2a for patients with advanced renal cell carcinoma, *J. Interferon Cytokine Res.* 21:257–263.

Mouitys-Mickalad, A., Deby, C., Deby-Dupont, G., and Lamy, M., 1998, An electron spin resonance (ESR) study on the mechanism of ascorbyl radical production by metal-binding proteins, *BioMetals* 11:81–88.

Mudd, J. B., Dawson, P. J., and Santrock, J., 1997, Ozone does not react with human erythrocyte membrane lipids, *Arch. Biochem. Biophys.* 341:251–258.

Muller, W. A., 2002, Leukocyte-endothelial cell interactions in the inflammatory response, *Lab. Invest.* 82:521–533.

Murai, A., Nakajima, T., and Tahara, N., 2003, Verification of ozone clusters (O<sub>6</sub> & O<sub>9</sub>), *Ozone Sci. Eng.* 25:211–221.

Murphy, W. J., and Longo, D. L., 2000, Growth hormone as an immunomodulating therapeutic agent, *Immunol. Today* 21:211–213.

Murry, C. E., Jennings, R. B., and Reimer, K. A., 1986, Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium, *Circulation* 74:1124–1136.

Murry, C. E., Soonpaa, M. H., Reinecke, H., Nakajima, H., Nakajima, H. O., Rubart, M., Pasumarthi, K. B., Virag, J. I., Bartelmez, S. H., Poppa, V., Bradford, G., Dowell, J. D., Williams, D. A., and Field, L. J., 2004, Haematopoietic stem cells do not transdifferentiate into cardiac myocytes in myocardial infarcts, *Nature* 428:664–668.

Musselman, D. L., Lawson, D. H., Gumnick, J. F., Manatunga, A. K., Penna, S., Goodkin, R. S., Greiner, K., Nemeroff, C. B., and Miller, A. H., 2001, Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa, *N. Engl. J. Med.* 344:961–966.

Nakao, A., Sugimoto, R., Billiar, T. R., and McCurry, K. R., 2009a, Therapeutic antioxidant medical gas, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 44:1–13.

Nakao, A., Faleo, G., Nalesnik, M. A. et al., 2009b, Low-dose carbon monoxide inhibits progressive chronic allograft nephropathy and restores renal allograft function, *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 297: F19–F26.

Nakao, N., Frodl, E. M., Widner, H., Carlson, E., Eggerding, F. A., Epstein, C. J., and Brundin, P., 1995, Overexpressing Cu/Zn superoxide dismutase enhances survival of

transplanted neurons in a rat model of Parkinson's disease, *Nat. Med.* 1:226–231.

Natelson, B. H., 2001, Chronic fatigue syndrome, *JAMA* 285:2557–2559.

Nath, K. A., Haggard, J. J., Croatt, A. J., Grande, J. P., Poss, K. D., and Alam, J., 2000, The indispensability of heme oxygenase-1 in protecting against acute heme protein-induced toxicity in vivo, *Am. J. Pathol.* 156:1527–1535.

Nathan, C. F., and Cohn, Z. A., 1981, Antitumor effects of hydrogen peroxide in vivo, *J. Exp. Med.* 154:1539–1553.

Nathan, C. F., Brukner, L. H., Silverstein, S. C., and Cohn, Z. A., 1979a, Extracellular cytolysis by activated macrophages and granulocytes. I. Pharmacologic triggering of effector cells and the release of hydrogen peroxide, *J. Exp. Med.* 149:84–99.

Nathan, C. F., Silverstein, S. C., Brukner, L. H., and Cohn, Z. A., 1979b, Extracellular cytolysis by activated macrophages and granulocytes. II. Hydrogen peroxide as a mediator of cytotoxicity, *J. Exp. Med.* 149:100–113.

Nemoto, S., and Finkel, T., 2002, Redox regulation of forkhead proteins through a p66shc-dependent signalling pathway, *Science* 295:2450–2452.

Neuhaus, O., Farina, C., Yassouridis, A., Wiendl, H., Then, B. F., Dose, T., Wekerle, H., and Hohlfeld, R., 2000, Multiple sclerosis: comparison of copolymer-1-reactive T cell lines from treated and untreated subjects reveals cytokine shift from T helper 1 to T helper 2 cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:7452–7457.

Neumann, A. U., Lam, N. P., Dahari, H., Gretch, D. R., Wiley, T. E., Layden, T. J., and Perelson, A. S., 1998, Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon- $\alpha$  therapy, *Science* 282:103–107.

Newsome, D. A., Swartz, M., Leone, N. C., Elston, R. C., and Miller, E., 1988, Oral zinc in macular degeneration, *Arch. Ophthalmol.* 106:192–198.

Nicolaidis, N., 1974, Skin lipids: their biochemical uniqueness, *Science* 186:19–26.

Nieva, J., and Wentworth, P., Jr., 2004, The antibody-catalyzed water oxidation pathway – a new chemical arm to immune defense? *Trends Biochem. Sci.* 29:274–278.

Niki, E., 2009, Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects, *Free Radic. Biol. Med.* 47:469–484.

Noguchi, P., 2003, Risks and benefits of gene therapy, *N. Engl. J. Med.* 348:193–194.

Nortvedt, M. W., Riise, T., Myhr, K. M., Nyland, H. I., and Hanestad, B. R., 1999, Type I interferons and the quality of life of multiple sclerosis patients. Results from a clinical trial on interferon alfa-2a, *Mult. Scler.* 5:317–322.

Noyer, C. M., and Brandt, L. J., 1999, Hyperbaric oxygen therapy for perineal Crohn's disease, *Am. J. Gastroenterol.* 94:318–321.

- Null, 1996, Ozone: a wide-spectrum realer, *Penthouse Mag.* January 12.
- Oberley, T. D., and Oberley, L. W., 1997, Antioxidant enzyme levels in cancer, *Histol. Histopathol.* 12(2):525–535.
- O’Byrne, P. M., Inman, M. D., and Adelroth, E., 2004, Reassessing the Th2 cytokine basis of asthma, *Trends Pharmacol. Sci.* 25:244–248.
- Oehler, M. K., and Bicknell, R., 2000, The promise of anti-angiogenic cancer therapy, *Br. J. Cancer* 82:749–752.
- O’Farrelly, C., and Crispe, I. N., 1999, Prometheus through the looking glass: reflections on the hepatic immune system, *Immunol. Today* 20:394–398.
- Ohkura, N., and Sakagushi, S., 2009, A novel modifier of regulatory T cells, *Nat. Immunol.* 10: 685–686.
- Okabe, N., 2001, The pathogenesis of Crohn’s disease, *Digestion* 63(Suppl 1):52–59.
- Olin, J. W. 2006. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study of immune modulation therapy in patients with symptomatic peripheral arterial diseases: the SIMPADICO trial., Presented at: Smaller Late-Breaking Clinical Trials I, American College of Cardiology 55th Annual Scientific Sessions, Atlanta, GA, March 11–14.
- Olivieri, G., Bodycote, J., and Wolff, S., 1984, Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine, *Science* 223:594–597.
- Olivieri, N. F., and Brittenham, G. M., 1997, Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia, *Blood* 89:739–761.
- Olsen, S. J., DeBess, E. E., McGivern, T. E., Marano, N., Eby, T., Mauvais, S., Balan, V. K., Zirnstein, G., Cieslak, P. R., and Angulo, F. J., 2001, A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant salmonella infection, *N. Engl. J. Med.* 344:1572–1579.
- Olwin, J. H., Ratajczak, H. V., and House, R. V., 1997, Successful treatment of herpetic infections by autohemotherapy, *J. Altern. Complement. Med.* 3:155–158.
- Onik, G., Maroon, J., Helms, C., Schweigel, J., Mooney, V., Kahanovitz, N., Day, A., Morris, J., McCulloch, J. A., and Reicher, M., 1987, Automated percutaneous discectomy: initial patient experience. Work in progress, *Radiology* 162:129–132.
- O’Reilly, M. S., Boehm, T., Shing, Y., Fukai, N., Vasios, G., Lane, W. S., Flynn, E., Birkhead, J. R., Olsen, B. R., and Folkman, J., 1997, Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth, *Cell* 88:277–285.
- Orlic, D., Kajstura, J., Chimenti, S., Limana, F., Jakoniuk, I., Quaini, F., Nadal-Ginard, B., Bodine, D. M., Leri, A., and Anversa, P., 2001, Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:10344–10349.

Orringer, E. P., Casella, J. F., Ataga, K. I., Koshy, M., Adams-Graves, P., Luchtman-Jones, L., Wun, T., Watanabe, M., Shafer, F., Kutlar, A., Abboud, M., Steinberg, M., Adler, B., Swerdlow, P., Terregino, C., Saccente, S., Files, B., Ballas, S., Brown, R., Wojtowicz-Praga, S., and Grindel, J. M., 2001, Purified poloxamer 188 for treatment of acute vaso-occlusive crisis of sickle cell disease: a randomized controlled trial., *JAMA* 286:2099–2106.

Orta de Velasquez, Ma. T., Rojas, Ma. N., Martinez, J. L., and Monje, I., 2001, Destruction of helminth eggs (*Ascaris suum*) by ozone, 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. 63–71.

Otterbein, L. E., Kolls, J. K., Mantell, L. L., Cook, J. L., Alam, J., and Choi, A. M. K., 1999, Exogenous administration of heme oxygenase-1 by gene transfer provides protection against hyperoxia-induced lung injury, *J. Clin. Invest.* 103:1047–1054.

Overgaard, J., Gonzalez, G. D., Hulshof, M. C., Arcangeli, G., Dahl, O., Mella, O., and Bentzen, S. M., 1995, Randomised trial of hyperthermia as adjuvant to radiotherapy for recurrent or metastatic malignant melanoma. *European Society for Hyperthermic Oncology, Lancet* 345:540–543.

Owen, C. G., Fletcher, A. E., Donoghue, M., and Rudnicka, A. R., 2003, How big is the burden of visual loss caused by age related macular degeneration in the United Kingdom? *Br. J. Ophthalmol.* 87:312–317.

Packer, L., Roy, S., and Sen, C. K., 1997, Alpha-lipoic acid: a metabolic antioxidant and potential redox modulator of transcription, *Adv. Pharmacol.* 38:79–101.

Padayatty, S. J., Riordan, H. D., Hewitt, S. M. et al., 2006, Intravenously administered vitamin C as cancer therapy: three cases, *CMAJ* 174:937–942.

Pamphilon, D., 2000, Viral inactivation of fresh frozen plasma, *Br. J. Haematol.* 109:680–693.

Pannen, B. H. J., Köhler, N., Hole, B., Bauer, M., Clemens, M. G., and Geiger, K. K., 1998, Protective role of endogenous carbon monoxide in hepatic microcirculatory dysfunction after hemorrhagic shock in rats, *J. Clin. Invest.* 102:1220–1228.

Pantel, K., Cote, R. J., and Fodstad, Ø., 1999, Detection and clinical importance of micrometastatic disease, *J. Natl. Cancer Inst.* 91:1113–1124.

Pardo, C. A., Xu, Z., Borchelt, D. R., Price, D. L., Sisodia, S. S., and Cleveland, D. W., 1995, Superoxide dismutase is an abundant component in cell bodies, dendrites, and axons of motor neurons and in a subset of other neurons, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 954–958.

Parker, A. J., Wessely, S., and Cleare, A. J., 2001, The neuroendocrinology of chronic fatigue syndrome and fibromyalgia, *Psychol. Med.* 31:1331–1345.

Parks, D. A., and Granger, D. N., 1983, Ischemia-induced vascular changes: role of xanthine oxidase and hydroxyl radicals, *Am. J. Physiol.* 245: G285–G289.

Parmiani, G., Rodolfo, M., and Melani, C., 2000, Immunological gene therapy with ex vivo genemodified tumor cells: a critique and a reappraisal., *Hum. Gene. Ther.* 11:1269–1275.

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.

Patterson, C., and Runge, M. S., 2000, Therapeutic myocardial angiogenesis via vascular endothelial growth factor gene therapy: moving on down the road, *Circulation* 102:940–942.

Pauleikhoff, D., and Koch, J. M., 1995, Prevalence of age-related macular degeneration, *Curr. Opin. Ophthalmol.* 6:51–56.

Pauleikhoff, D., Barondes, M. J., Minassian, D., Chisholm, I. H., and Bird, A. C., 1990, Drusen as risk factors in age-related macular disease, *Am. J. Ophthalmol.* 109:38–43.

Paulesu, L., Luzzi, E., and Bocci, V., 1991, Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ) on human leucocytes, *Lymphokine Cytokine Res.* 10:409–412.

Pawliuk, R., Westerman, K. A., Fabry, M. E., Payen, E., Tighe, R., Bouhassira, E. E., Acharya, S. A., Ellis, J., London, I. M., Eaves, C. J., Humphries, R. K., Beuzard, Y., Nagel, R. L., and Leboulch, P., 2001, Correction of sickle cell disease in transgenic mouse models by gene therapy, *Science* 294:2368–2371.

Payne, L. C., and Krueger, J. M., 1992, Interactions of cytokines with the hypothalamus-pituitary axis, *J. Immunother.* 12:171–173.

Payr, E., 1935, Über Ozonbehandlung in der Chirurgie, *Münch. Med. Wochenschr.* 82:220–291.

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

Pembrey, M. E., Bygren, L. O., Kaati, G. et al., 2006, Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans, *Eur. J. Hum. Genet.* 14:159–166.

Peng, J., Jones, G. L., and Watson, K., 2000, Estresse proteins as biomarkers of oxidative estresse: effects of antioxidant supplements, *Free Radic. Biol. Med.* 28:1598–1606.

Peralta, C., Leon, O. S., Xaus, C., Prats, N., Jalil, E. C., Planell, E. S., Puig-Parellada, P., Gelpi, E., and Rosello-Catafau, J., 1999, Protective effect of ozone treatment on the injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: antioxidant-prooxidant balance, *Free Radic. Res.* 31:191–196.

Peralta, C., Xaus, C., Bartrons, R., Leon, O. S., Gelpi, E., and Rosello-Catafau, J., 2000, Effect of ozone treatment on reactive oxygen species and adenosine production during hepatic ischemiareperfusion, *Free Radic. Res.* 33:595–605.

Perdue, M. H., 1999, Mucosal immunity and inflammation III. The mucosal antigen barrier: cross talk with mucosal cytokines, *Am. J. Physiol.* 277: G1–G5.

Perletti, G., Concari, P., Giardini, R., Marras, E., Piccinini, F., Folkman, J., and Chen, L., 2000, Antitumor activity of endostatin against carcinogen-induced rat primary mammary tumors, *Cancer Res.* 60:1793–1796.

Perry, G., Nunomura, A., Hirai, K., Zhu, X., Perez, M., Avila, J., Castellani, R. J., Atwood, C. S., Aliev, G., Sayre, L. M., Takeda, A., and Smith, M. A., 2002, Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free Radic. Biol. Med.* 33:1475–1479.

Petersen, K. F., Oral, E. A., Dufour, S., Befroy, D., Ariyan, C., Yu, C., Cline, G. W., DePaoli, A. M., Taylor, S. I., Gorden, P., and Shulman, G. I., 2002, Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy, *J. Clin. Invest.* 109:1345–1350.

Peterson, L. R., 1998, Estrogen replacement therapy and coronary artery disease, *Curr. Opin. Cardiol.* 13:223–231.

Petralia, B., Tommasini, G., Lavaroni, A., and Fabris, G., 2001, A tutto gas! Il "mal di schiena" curato con l'Ozonioterapia, *Riv. Neuroradiol.* 14:71–73.

Pianko, S., and McHutchison, J., 1999, Chronic hepatitis B: new therapies on the horizon? *Lancet* 354:1662–1663.

Pickup, J., Mattock, M., and Kerry, S., 2002, Glycaemic control with continuous subcutaneous insulin infusion compared with intensive insulin injections in patients with type 1 diabetes: meta-analysis of randomised controlled trials, *BMJ* 324:705.

Pierce, G. F., Tarpley, J. E., Tseng, J., Bready, J., Chang, D., Kenney, W. C., Rudolph, R., Robson, M. C., Vande Berg, J., Reid, P., Kaufman, S., and Farrell, C. L., 1995, Detection of platelet-derived growth factor (PDGF)-AA in actively healing human wounds treated with recombinant PDGF-BB and absence of PDGF in chronic nonhealing wounds, *J. Clin. Invest.* 96:1336–1350.

Piguet, B., Palmvang, I. B., Chisholm, I. H., Minassian, D., and Bird, A. C., 1992, Evolution of age-related macular degeneration with choroidal perfusion abnormality, *Am. J. Ophthalmol.* 113:657–663.

Pippard, M. J., and Weatherall, D. J., 2000, Oral iron chelation therapy for thalassaemia: an uncertain scene, *Br. J. Haematol.* 111:2–5.

Piroddi, M., Depunzio, I., Calabrese, V., et al., 2007, Oxidatively-modified and glycated proteins as candidate pro-inflammatory toxins in uremia and dialysis patients. *Amino Acids* 32:573–592.

Pizarro, T. T., Michie, M. H., Bentz, M., Woraratanadharm, J., Smith, M. F., Jr., Foley, E., Moskaluk, C. A., Bickston, S. J., and Cominelli, F., 1999, IL-18, a novel immunoregulatory cytokine, is up-regulated in Crohn's disease: expression and localization in intestinal mucosal cells, *J. Immunol.* 162:6829–6835.

Podda, M., Traber, M. G., Weber, C., Yan, L.-J., and Packer, L., 1998, UV-irradiation depletes antioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin, *Free Radic. Biol. Med.* 24:55–65.

Polidori, M. C., Mecocci, P., Levine, M., and Frei, B., 2004, Short-term and long-term vitamin C supplementation in humans dose-dependently increases the resistance of plasma to ex vivo lipid peroxidation, *Arch. Biochem. Biophys.* 423:109–115.

Polidori, M. C., Stahl, W., Eichler, O., Niestroj, I., and Sies, H., 2001, Profiles of antioxidants in human plasma, *Free Radic. Biol. Med.* 30:456–462.

Poli, G., Schaur, R. J., Siems, W. G., and Leonarduzzi, G., 2008, 4-hydroxynonenal: a membrane lipid oxidation product of medicinal interest, *Med. Res. Rev.* 28:569–631.

Polman, C. H., and Uitdehaag, B. M., 2000, Drug treatment of multiple sclerosis, *Brit. Med. J.* 321:490–494.

Polman, C., Barkhof, F., Kappos, L., Pozzilli, C., Sandbrink, R., Dahlke, F., Jakobs, P., and Lorenz, A., 2003, Oral interferon beta-1a in relapsing-remitting multiple sclerosis: a double-blind randomized study, *Mult. Scler.* 9:342–348.

Powell, P., Bentall, R. P., Nye, F. J., and Edwards, R. H., 2001, Randomised controlled trial of patient education to encourage graded exercise in chronic fatigue syndrome, *BMJ* 322: 387–390.

Prengler, M., Pavlakis, S. G., Prohovnik, I., and Adams, R. J., 2002, Sickle cell disease: the neurological complications, *Ann. Neurol.* 51:543–552.

Present, D. H., Rutgeerts, P., Targan, S., Hanauer, S. B., Mayer, L., van Hogezaand, R. A., Podolsky, D. K., Sands, B. E., Braakman, T., DeWoody, K. L., Schaible, T. F., and van Deventer, S. J. H., 1999, Infliximab for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 340:1398–1405.

Prins, J. B., Bleijenberg, G., Bazelmans, E., Elving, L. D., de Boo, T. M., Severens, J. L., van der Wilt, G. J., Spinhoven, P., and van der Meer, J. W., 2001, Cognitive behaviour therapy for chronic fatigue syndrome: a multicentre randomised controlled trial., *Lancet* 357: 841–847.

Prows, D. R., Shertzer, H. G., Daly, M. J., Sidman, C. L., and Leikauf, G. D., 1997, Genetic analysis of ozone-induced acute lung injury in sensitive and resistant strains of mice, *Nat. Genet.* 17:471–474.

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., 2000, Vitamin E and heart disease: basic science to clinical intervention trials, *Free Radic. Biol. Med.* 28:141–164.
- 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.
- Pullar, J. M., Vissers, M. C., and Winterbourn, C. C., 2000, Living with a killer: the effects of hypochlorous acid on mammalian cells, *IUBMB. Life* 50:259–266.
- Purasiri, P., Mckechnie, A., Heys, S. D., and Eremin, O., 1997, Modulation in vitro of human natural cytotoxicity, lymphocyte proliferative response to mitogens and cytokine production by essential fatty acids, *Immunology* 92:166–172.
- Puskas, F., Gergely, P., Jr., Banki, K., and Perl, A., 2000, Stimulation of the pentose phosphate pathway and glutathione levels by dehydroascorbate, the oxidized form of vitamin C, *FASEB J.* 14:1352–1361.
- Qi, W.-N., and Scully, S. P., 1997, Extracellular collagen modulates the regulation of chondrocytes by transforming growth factor- $\beta$ 1, *J. Orthopaed. Res.* 15:483–490.
- Radu, R. A., Mata, N. L., Nusinowitz, S., Liu, X., Sieving, P. A., and Travis, G. H., 2003, Treatment with isotretinoin inhibits lipofuscin accumulation in a mouse model of recessive Stargardt's macular degeneration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:4742–4747.
- Rafikova, O., Rafikov, R., and Nudler, E., 2002, Catalysis of S-nitrosothiols formation by serum albumin: the mechanism and implication in vascular control, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:5913–5918.
- Ragab, A., Shreef, E., Behiry, E. et al., 2009, Randomised, double-blinded, placebo-controlled, clinical trial of ozone therapy as treatment of sudden sensorineural hearing loss, *J. Laryngol. Otol.* 123:54–60.
- Raghu, G., Brown, K. K., Bradford, W. Z., Starko, K., Noble, P. W., Schwartz, D. A., and King, T. E., Jr., 2004, A placebo-controlled trial of interferon gamma-1b in patients with idiopathic pulmonary fibrosis, *N. Engl. J. Med.* 350:125–133.
- Rahman, I., Clerch, L. B., and Massaro, D., 1991, Rat lung antioxidant enzyme induction by ozone, *Am. J. Physiol.* 260: L412–L418.
- Ranjbar, S., and Holmes, H., 1996, Influence of hydrogen peroxide on the in vitro infectivity of human immunodeficiency virus, *Free Radic. Biol. Med.* 20:573–577.
- Rasmussen, H., Chu, K. W., Campochiaro, P., Gehlbach, P. L., Haller, J. A., Handa, J. T., Nguyen, Q. D., and Sung, J. U., 2001, Clinical protocol. An open-label, phase I, single administration, dose-escalation study of ADGVPEDF.11D (ADPEDF) in neovascular age-related macular degeneration (AMD), *Hum. Gene. Ther.* 12:2029–2032.

Rassaf, T., Preik, M., Kleinbongard, P., Lauer, T., Heiss, C., Strauer, B. E., Feelisch, M., and Kelm, M., 2002, Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma, *J. Clin. Invest.* 109:1241–1248.

Rattan, V., Shen, Y., Sultana, C., Kumar, D., and Kalra, V. K., 1997, Diabetic RBC-induced oxidant estresse leads to transendothelial migration of monocyte-like HL-60 cells, *Am. J. Physiol.* 273: E369–E375.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 26:1231–1237.

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

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.

Reddy, S. P., Harwood, R. M., Moore, D. F., Grimm, E. A., Murray, J. L., and Vadhan-Raj, S., 1997, Recombinant Interleukin-2 in combination with recombinant interferon-g in patients with advanced malignancy: a phase 1 study, *J. Immunother.* 20:79–87.

Reeve, V. E., and Tyrrell, R. M., 1999, Heme oxygenase induction mediates the photoimmunoprotective activity of UVA radiation in the mouse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:9317–9321.

Reichlin, S., 1993, Neuroendocrine-immune interactions, *N. Engl. J. Med.* 329:1246–1253. Reid, S., Chalder, T., Cleare, A., Hotopf, M., and Wessely, S., 2000, Chronic fatigue syndrome, *BMJ* 320:292–296.

Reimold, A. M., 2003, New indications for treatment of chronic inflammation by TNF-alpha blockade, *Am. J. Med. Sci.* 325:75–92.

Reisberg, B., Doody, R., Stoffler, A., Schmitt, F., Ferris, S., and Mobius, H. J., 2003, Memantine in moderate-to-severe Alzheimer's disease, *N. Engl. J. Med.* 348:1333–1341.

Reiter, R. J., 1991, Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions, *Endocr. Rev.* 12:151–180.

Renaud, B., and Brun-Buisson, C., 2001, Outcomes of primary and catheter-related bacteremia. A cohort and case- control study in critically ill patients, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 163: 1584–1590.

Renke, M., Tylicki, L., Rutkowski, P. et al., 2008, The effect of N-acetylcysteine on proteinuria and markers of tubular injury in non-diabetic patients with chronic kidney disease. A placebocontrolled, randomised, open, cross-over study, *Kidney Blood Press Res.* 31:404–410.

Resnick, H. E., and Howard, B. V., 2002, Diabetes and cardiovascular disease, *Annu. Rev. Med.* 53:245–267.

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

Revel, M., 2003, Interferon-beta in the treatment of relapsing-remitting multiple sclerosis, *Pharmacol. Ther.* 100:49–62.

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.

Rice-Evans, C., and Miller, N. J., 1994, Total antioxidant status in plasma and body fluids, *Meth. Enzimol.* 234:279–293.

Richards, S. C., and Scott, D. L., 2002, Prescribed exercise in people with fibromyalgia: parallel group randomised controlled trial., *BMJ* 325:185–188.

Richter, C., Gogvadze, V., Laffranchi, R., Schlapbach, R., Schweizer, M., Suter, M., Walter, P., and Yaffee, M., 1995, Oxidants in mitochondria: from physiology to diseases, *Biochim. Biophys. Acta* 1271:67–74.

Richter, C., Park, J. W., and Ames, B. N., 1988, Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:6465–6467.

Riedemann, N. C., Guo, R. F., and Ward, P. A., 2003, Novel strategies for the treatment of sepsis, *Nat. Med.* 9:517–524.

Riethmüller, G., Klein, C. A., and Pantel, K., 1999, Hunting down the seminal cells of clinical metastases, *Immunol. Today* 20:294–296.

Riksen, N. P., Rongen, G. A., Blom, H. J., Russel, F. G., Boers, G. H., and Smits, P., 2003, Potential role for adenosine in the pathogenesis of the vascular complications of hyperhomocysteinemia, *Cardiovasc. Res.* 59:271–276.

Riva Sanseverino, E., 1989, Knee-joint disorders treated by oxygen-ozone therapy, *Eur. Medicophysica* 25:163–170.

Riva Sanseverino, E., Meduri, R.A., Pizzino, A., Prantera, M., Martini, E., 1990. Effects of oxygen-ozone therapy on age-related degenerative retinal maculopathy. *Panminerva Med* 32, 77–84.

Roberts, A. B., Sporn, M. B., Assoian, R. K., Smith, J. M., Roche, N. S., Wakefield, L. M., Heine, U. I., Liotta, L. A., Falanga, V., and Kehrl, J. H., 1986, Transforming

growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:4167–4171.

Roberts, W. C., 1996, The underused miracle drugs: the statin drugs are to atherosclerosis what penicillin was to infectious disease, *Am. J. Cardiol.* 78:377–378.

Robinson, D., Hamid, Q., Bentley, A., Ying, S., Kay, A. B., and Durham, S. R., 1993, Activation of CD4+ T cells, increased TH2-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma, *J. Allergy Clin. Immunol.* 92:313–324.

Rocchini, A. P., 2002, Childhood obesity and a diabetes epidemic, *N. Engl. J. Med.* 346:854–855.

Rodríguez, M.M., García, J.R., Menendez, S., Devesa, E., Valverde, S., 1998a. [Ozone therapy in the ischemic cerebrovascular disease]. *Rev CENIC Cienc Biol* 29, 145–148.

Rodríguez, M.M., Menéndez, S., Devesa, E., Gonzáles, R., 1998b. [Ozone therapy in the treatment of senile dementia]. *Rev CENIC Cienc Biol* 29, 141–144.

Rodríguez, M.M., Menéndez, S., García, J.R., Devesa, E., Cámbara, A., 1998c. [Ozone therapy in the treatment of old patients suffering from Parkinson's syndromes]. *Rev CENIC Cienc Biol* 29, 149–152.

Roederer, M., Staal, F. J. T., Raju, P. A., Ela, S. W., Herzenberg Le., A., and Herzenberg L. A., 1990, Cytokine-stimulated human immunodeficiency virus replication is inhibited by N-acetyl-L-cysteine, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4884–4888.

Rokitansky, O., 1982, *Klinik und Biochemie der Ozontherapie*, *Hospitalis* 52:643–647.

Rokitansky, O., Rokitansky, A., Steiner, J., Trubel, W., Viebahn, R., and Washüttl, J., 1981, Die Ozontherapie bei peripheren, arteriellen Durchblutungsstörungen; klinik, biochemische und blutgasanalytische Untersuchungen, in *Wasser IOA, Ozon-Weltkongress*, Berlin, pp. 53–75.

Romero Valdes, A., Menendez Cepero, S., Gomez Moraleda, M., and Ley Pozo, J., 1993, Ozone therapy in the advanced stages of arteriosclerosis obliterans, *Angiologia* 45: 146–148.

Romero, A. et al., 1988, La Ozonioterapia en la aterosclerosis obliterante, *CENIC Ciencias Biologicas* 20:70–76.

Romero, A. et al., 1993, Arteriosclerosis obliterans and ozone therapy: its administration by different routes, *Angiologia* 177–179.

Romero, M. J., Bosch-Morell, F., Romero, B., Rodrigo, J. M., Serra, M. A., and Romero, F. J., 1998, Serum malondialdehyde: possible use for the clinical management of chronic hepatitis C patients, *Free Radic. Biol. Med.* 25:993–997.

Rosa, L., Rosa, E., Sarner, L., and Barrett, S., 1998, A close look at therapeutic touch, *JAMA* 279:1005–1010.

Rosen, L. S., 2001, Angiogenesis inhibition in solid tumors, *Cancer J.* 7(suppl 3):S120–S128.

Rosen, P., Nawroth, P. P., King, G., Moller, W., Tritschler, H. J., and Packer, L., 2001, The role of oxidative estresse in the onset and progression of diabetes and its complications: a summary of a Congress Series sponsored by UNESCO-MCBN, the American Diabetes Association and the German Diabetes Society, *Diab. Metab. Res. Rev.* 17:189–212.

Rosenberg, G. A., 1999, Ischemic brain edema, *Prog. Cardiovasc. Dis.* 42:209–216.

Rosenberg, S. A., 2001, Progress in human tumour immunology and immunotherapy, *Nature* 411:380–384.

Rosenberg, S. A., Lotze, M. T., Muul, L. M., Chang, A. E., Avis, F. P., Leitman, S., Linehan, W. M., Robertson, C. N., Lee, R. E., Rubin, J. T., Seipp, C. A., Simpson, C. G., and White, D. E., 1987, A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone, *N. Engl. J. Med.* 316:889–897.

Rossio, J. L., and Goldstein, A. L., 1977, Immunotherapy of cancer with thymosin, *World J. Surg.* 1:605–616.

Roth, J. A., and Cristiano, R. J., 1997, Gene therapy for cancer: what have we done and where are we going? *J. Natl. Cancer Inst.* 89:21–39.

Rotilio, G., 2001, Risk from exposure to metals: deficits and excesses (Cu, Fe, Mn, Al., Cr, B), in *Nutrition and Brain* (J. D. Fernstrom, R. Uauy, and P. Arroyo, Eds.), Karger AG, Basel, pp. 247–262.

Rotilio, G., Carri, M. T., Rossi, L., and Ciriolo, M. R., 2000, Copper-dependent oxidative estresse and neurodegeneration, *IUBMB Life* 50:309–314.

Rousseau, Y., Haeffner-Cavaillon, N., Poignet, J. L., Meyrier, A., and Carreno, M. P., 2000, In vivo intracellular cytokine production by leukocytes during haemodialysis, *Cytokine* 12:506–517.

Rowland, L. P., and Shneider, N. A., 2001, Amyotrophic lateral sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 344:1688–1700.

Rowland, M., 2000, Transmission of *Helicobacter pylori*: is it all child's play? *Lancet* 355: 332–333.

Rubartelli, A., Poggi, A., Sitia, R., and Zocchi, M. R., 1999, HIV-1 Tat: a polypeptide for all seasons, *Immunol. Today* 19:543–545.

Rubin, P., Hanley, J., Keys, H. M., Marcial., V., and Brady, L., 1979, Carbogen breathing during radiation therapy-the Radiation Therapy Oncology Group Study, *Int.*

J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 5:1963–1970.

Rudick, R. A., Cohen, J. A., Weinstock-Guttman, B., Kinkel, R. P., and Ransohoff, R. M., 1997, Management of multiple sclerosis, *N. Engl. J. Med.* 337:1604–1611.

Rudikoff, D., and Lebwohl, M., 1998, Atopic dermatitis, *Lancet* 351:1715–1721.

Rudman, D., Feller, A. G., Nagraj, H. S., Gergans, G. A., Lalitha, P. Y., Goldberg, A. F., Schlenker, R. A., Cohn, L., Rudman, I. W., and Mattson, D. E., 1990, Effects of human growth hormone in men over 60 years old, *N. Engl. J. Med.* 323:1–6.

Ruidavets, J. B., Cournot, M., Cassadou, S. et al., 2005, Ozone air pollution is associated with acute myocardial infarction, *Circulation* 111:563–569.

Ruggenenti, P., Schieppati, A., and Remuzzi, G., 2001, Progression, remission, regression of chronic renal diseases, *Lancet* 357:1601–1608.

Ruiz, L., Carcelain, G., Martinez-Picado, J., Frost, S., Marfil, S., Paredes, R., Romeu, J., Ferrer, E., Morales-Lopetegi, K., Autran, B., and Clotet, B., 2001, HIV dynamics and T-cell immunity after three structured treatment interruptions in chronic HIV-1 infection, *AIDS* 15 :F19–F27.

Ryan, H. E., Lo, J., and Johnson, R. S., 1998, HIF-1 alpha is required for solid tumor formation and embryonic vascularization, *EMBO J.* 17:3005–3015.

Ryter, S. W., Choi, A. M., 2009, Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from metabolism to molecular therapy. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 41:251–260.

Ryter, S. W., and Tyrrell, R. M., 2000, The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties, *Free Radic. Biol. Med.* 28:289–309.

Sagara, Y., Dargusch, R., Chambers, D., Davis, J., Schubert, D., and Maher, P., 1998, Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative estresse, *Free Radic. Biol. Med.* 24:1375–1389.

Sakagushi, S., Yamagushi, T., Nomura, T., and Ono, M., 2008, Regulatory T cells and immune tolerance, *Cell* 133:775–787.

Saliou, C., Kitazawa, M., McLoughlin, L., Yang, J. P., Lodge, J. K., Tetsuka, T., Iwasaki, K., Cillard, J., Okamoto, T., and Packer, L., 1999, Antioxidants modulate acute solar ultraviolet radiation-induced NF- kappa-B activation in a human keratinocyte cell line, *Free Radic. Biol. Med.* 26:174–183.

Salvioli, S., Capri, M., Santoro, A. et al., 2008, The impact of mitochondrial DNA on human lifespan: a view from studies on centenarians, *Biotechnol. J.* 3:740–749.

Samanta, A., and Beardsley, J., 1999, Low back pain: which is the best way forward? *BMJ* 318:1122–1123.

Sanchez, G. M., Al Dalain, S., Menendez, S. et al., 2005, Therapeutic efficacy of

ozone in patients with diabetic foot, *Eur. J. Pharmacol.* 523:151–161.

Sands, B. E., Anderson, F. H., Bernstein, C. N., Chey, W. Y., Feagan, B. G., Fedorak, R. N., Kamm, M. A., Korzenik, J. R., Lashner, B. A., Onken, J. E., Rachmilewitz, D., Rutgeerts, P., Wild, G., Wolf, D. C., Marsters, P. A., Travers, S. B., Blank, M. A., and van Deventer, S. J., 2004, Infliximab maintenance therapy for fistulizing Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 350: 876–885.

Saran, M., Beck-Speier, I., Fellerhoff, B., and Bauer, G., 1999, Phagocytic killing of microorganisms by radical processes: consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms, *Free Radic. Biol. Med.* 26:482–490.

Sardina, J. O. et al., 1991, Tratamiento de la giardiasis recidivante con ozônio, *CENIC Ciencias Biologicas* 20:61–64.

Sarks, J. P., Sarks, S. H., and Killingsworth, M. C., 1988, Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium, *Eye* 2(Pt 5):552–577.

Sarnesto, A., Linder, N., and Raivio, K. O., 1996, Organ distribution and molecular forms of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase protein, *Lab. Invest.* 74:48–56.

Sartor, R. B., 2000, New therapeutic approaches to Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 342: 1664–1666.

Sasaki, H., Wakutani, T., Oda, S., and Yamasaki, Y., 1967, Application of hydrogen peroxide infusion to maxillary cancer, *Yonago Acta Med.* 11:141–149.

Sastre, J., Pallardo, F. V., and Vina, J., 2003, The role of mitochondrial oxidative estresse in aging, *Free Radic. Biol. Med.* 35:1–8.

Sato, K., Balla, J., Otterbein, L., Smith, R. N., Brouard, S., Lin, Y., Csizmadia, E., Sevigny, J., Robson, S. C., Vercellotti, G., Choi, A. M., Bach, F. H., and Soares, M. P., 2001, Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses the rejection of mouse-to-rat cardiac transplants, *J. Immunol.* 166:4185–4194.

Sato, Y., Sato, K., and Suzuki, Y., 1999, Mechanisms of free radical-induced hemolysis of human erythrocytes: comparison of calculated rate constants for hemolysis with experimental rate constants, *Arch. Biochem. Biophys.* 366:61–69.

Schmid, P., Cox, D., Bilbe, G., McMaster, G., Morrison, C., Stähelin, H., Lüscher, N., and Seiler, W., 1993, TGF- $\beta$ s and TGF- $\beta$  type II receptor in human epidermis: differential expression in acute and chronic skin wounds, *J. Pathol.* 171:191–197.

Schreiber, S., Heinig, T., Thiele, H. G., and Raedler, A., 1995, Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease, *Gastroenterology* 108:1434–1444.

Schrope, M., 2000, Successes in fight to save ozone layer could close holes by 2050, *Nature* 408:627.

Schultze, H. E., and Heremans, J. F., 1966, *Molecular biology of human proteins*, Volume 1, Elsevier, Amsterdam, p. 473.

Schulz, S., 1986, The role of ozone/oxygen in clindamycin-associated enterocolitis in the Djungarian hamster (*Phodopus sungorus sungorus*), *Lab. Anim.* 20:41–48.

Schulz, S., Haussler, U., Mandic, R. et al., 2008, Treatment with ozone/oxygen-pneumoperitoneum results in complete remission of rabbit squamous cell carcinomas, *Int. J. Cancer* 122: 2360–2367.

Schwartz, R. S., and Curfman, G. D., 2002, Can the heart repair itself? *N. Engl. J. Med.* 346:2–4.

Schwarz, K. B., 1996, Oxidative estresse during viral infection: a review, *Free Radic. Biol. Med.* 21:641–649.

Scott, M. D., van den Berg, J. J., Repka, T., Rouyer-Fessard, P., Hebbel, R. P., Beuzard, Y., and Lubin, B. H., 1993, Effect of excess alpha-hemoglobin chains on cellular and membrane oxidation in model beta-thalassemic erythrocytes, *J. Clin. Invest.* 91:1706–1712.

Sechi, L. A., Lezcano, I., Nunez, N., Espim, M., Dupre, I., Pinna, A., Molicotti, P., Fadda, G., and Zanetti, S., 2001, Antibacterial activity of ozonized sunflower oil (Oleozone), *J. Appl. Microbiol.* 90:279–284.

Seddon, J. M., Ajani, U. A., Sperduto, R. D., Hiller, R., Blair, N., Burton, T. C., Farber, M. D., Gragoudas, E. S., Haller, J., and Miller, D. T., 1994, Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group, *JAMA* 272:1413–1420.

Seddon, J. M., Gensler, G., Milton, R. C., Klein, M. L., and Rifai, N., 2004, Association between C-reactive protein and age-related macular degeneration, *JAMA* 291:704–710.

Seeman, T. E., and Robbins, R. J., 1994, Aging and hypothalamic-pituitary-adrenal response to challenge in humans, *Endocr. Rev.* 15:233–260.

Seifried, H. E., McDonald, S. S., Anderson, D. E., Greenwald, P., and Milner, J. A., 2003, The antioxidant conundrum in cancer, *Cancer Res.* 63:4295–4298.

Sega, A., Zanardi, I., Chiasserini, L. et al., 2010, Properties of sesame oil by detailed (1) H and (13) C NMR assignments before and after ozonation and their correlation with iodine value, peroxide value and viscosity measurements, *Chem. Phys. Lipids* 163:148–156.

Seixas, E., Gozzelino, R., Chora, A., et al., 2009, Heme oxygenase-1 affords protection against noncerebral forms of severe malaria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106:15837–15842.

Semenza, G. L., 2001, Hypoxia-inducible factor 1: oxygen homeostasis and disease pathophysiology, *Trends Mol. Med.* 7:345–350.

Semenza, G. L., 2003, Targeting HIF-1 for cancer therapy, *Nat. Rev. Cancer* 3:721–732.

Servaes, P., Verhagen, C., and Bleijenberg, G., 2002, Fatigue in cancer patients during and after treatment: prevalence, correlates and interventions, *Eur. J. Cancer* 38:27–43.

Shanahan, F., 2002, Crohn's disease, *Lancet* 359:62–69.

Sharma, Y. K., and Davis, K. R., 1997, The effects of ozone on antioxidant responses in plants, *Free Radic. Biol. Med.* 23:480–488.

Sharpe, M. C., Archard, L. C., Banatvala, J. E., Borysiewicz, L. K., Clare, A. W., David, A., Edwards, R. H., Hawton, K. E., Lambert, H. P., Lane, R. J. et al., 1991, A report – chronic fatigue syndrome: guidelines for research, *J. R. Soc. Med.* 84:118–121.

Shaschova, N. M., Kachalina, T. S., and Nevmjatullin, A. L., 1995, Application of ozonotherapy in complex treatment of inner female genital inflammatory diseases, 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. 145–155.

Sheldon, T., 2004, Netherlands to crack down on complementary medicine, *BMJ* 328:485.

Shiba, M., Tadokoro, K., Sawanobori, M., Nakajima, K., Suzuki, K., and Juji, T., 1997, Activation of the contact system by filtration of platelet concentrates with a negatively charged white cell-removal filter and measurement of venous blood bradykinin level in patients who received filtered platelets, *Transfusion* 37:457–462.

Shinriki, N., Ishizaki, K., Yoshizaki, T., Miura, K., and Ueda, T., 1988, Mechanism of inactivation of tobacco mosaic virus with ozone, *Wat. Res.* 22:933–938.

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.

Shiomori, T., Miyamoto, H., and Makishima, K., 2001, Significance of airborne transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in an otolaryngology-head and neck surgery unit, *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 127:644–648.

Shiozawa, A., 2000, Characterization of reactive oxygen species generated from the mixture of NaClO and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> used as root canal irrigants. *J. Endod.* 26:11–15.

Shull, S., Heintz, N. H., Periasamy, M., Manohar, M., Janssen, Y. M. W., Marsh, J. P., and Mossman, B. T., 1991, Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants, *J. Biol. Chem.* 266:24398–24403.

Siemann, D. W., Hill, R. P., and Bush, R. S., 1977, The importance of the pre-

irradiation breathing times of oxygen and carbogen (5% CO<sub>2</sub>: 95% O<sub>2</sub>) on the in vivo radiation response of a murine sarcoma, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2:903–911.

Siemann, D. W., Horsman, M. R., and Chaplin, D. J., 1994, The radiation response of KHT sarcoma following nicotinamide treatment and carbogen breathing, *Radiother. Oncol.* 31:117–122.

Siemsen, C.-H., 1995, Ozon-Anwendung bei akuten und chronischen Gelenkerkrankungen, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. V-9.2 1–V-9.2 14.

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

Singh RL, Singh RK, Tripathi AK, Gupta N, Kumar A, Singh AK, Mahdi AA, Prasad R, Singh RK., 2004, Circadian periodicity of plasma lipid peroxides and anti-oxidant enzymes in pulmonary tuberculosis, *Indian J Clin Biochem.* Jan;19(1):14-20.

Silver, F. H., and Glasgold, A. I., 1995, Cartilage wound healing. An overview, *Otolaryngol. Clin. N. Am.* 28:847–864.

Simonian, N. A., and Coyle, J. T., 1996, Oxidative estresse in neurodegenerative diseases, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 36:83–106.

Sinclair, D. A., 2005, Toward a unified theory of caloric restriction and longevity regulation, *Mech. Ageing Dev.* 126:987–1002.

Sirito, M. A., 2006, Oxygen-ozone therapy for local adipose deposits and oedematous fibrosclerotic panniculopathy. *Riv. It Ossigeno Ozonioterapia*5:37–40.

Slavin, J., 1996, The role of cytokines in wound healing, *J. Pathol.* 178:5–10.

Sliwa, K., and Ansari, A. A., 2008, Immunosuppression as therapy for congestive heart failure, *Lancet* 371:184–186.

Slonim, A. D., and Singh, N., 2001, Nosocomial bloodstream infection and cost, *Crit. Care Med.* 29:1849.

Slonim, A. E., Bulone, L., Damore, M. B., Goldberg, T., Wingertzahn, M. A., and McKinley, M. J., 2000, A preliminary study of growth hormone therapy for Crohn's disease, *N. Engl. J. Med.* 342:1633–1637.

Small, D. L., Morley, P., and Buchan, A. M., 1999, Biology of ischemic cerebral cell death, *Prog. Cardiovasc. Dis.* 42:185–207.

Smith, L. J., Shamsuddin, M., Sporn, P. H., Denenberg, M., and Anderson, J., 1997, Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma, *Free Radic. Biol. Med.* 22: 1301–1307.

Smith, L., 1969, Chemonucleolysis, *Clin. Orthop.* 67:72.

Snyder, S. H., and Baranano, D. E., 2001, Heme oxygenase: a font of multiple messengers, *Neuropsychopharmacology* 25:294–298.

Soares, C., 2004, Body building, *Sci. Am.* 290(20):22.

Sohal, R. S., Mockett, R. J., and Orr, W. C., 2002, Mechanisms of aging: an appraisal of the oxidative estresse hypothesis, *Free Radic. Biol. Med.* 33:575–586.

Soholm, B., 1998, Clinical improvement of memory and other cognitive functions by Ginkgo biloba: review of relevant literature, *Adv. Ther.* 15:54–65.

Song, C. W., Hasegawa, T., Kwon, H. C., Lyons, J. C., and Levitt, S. H., 1992, Increase in tumor oxygenation and radiosensitivity caused by pentoxifylline, *Radiat. Res.* 130:205–210.

Song, C. W., Lee, I., Hasegawa, T., Rhee, J. G., and Levitt, S. H., 1987, Increase in pO<sub>2</sub> and radiosensitivity of tumors by Fluosol-DA (20%) and carbogen, *Cancer Res.* 47:442–446.

Song, C. W., Shakil, A., Griffin, R. J., and Okajima, K., 1997, Improvement of tumor oxygenation status by mild temperature hyperthermia alone or in combination with carbogen, *Semin. Oncol.* 24:626–632.

Song, C. W., Shakil, A., Osborn, J. L., and Iwata, K., 1996, Tumour oxygenation is increased by hyperthermia at mild temperatures, *Int. J. Hyperthermia* 12:367–373.

Sorensen, P. S., Ross, C., Clemmesen, K. M., Bendtzen, K., Frederiksen, J. L., Jensen, K., Kristensen, O., Petersen, T., Rasmussen, S., Ravnborg, M., Stenager, E., and Koch-Henriksen, N., 2003, Clinical importance of neutralising antibodies against interferon beta in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis, *Lancet* 362:1184–1191.

Spencer, F. A., Allegrone, J., Goldberg, R. J., Gore, J. M., Fox, K. A., Granger, C. B., Mehta, R. H., and Brieger, D., 2004, Association of statin therapy with outcomes of acute coronary syndromes: the GRACE study, *Ann. Intern. Med.* 140:857–866.

Sperduto, R. D., Ferris, F. L., I., and Kurinij, N., 1990a, Do we have a nutritional treatment for age-related macular degeneration? *Arch. Ophthalmol.* 108:1403–1405.

Sperduto, R. D., Ferris, F. L., III, and Kurinij, N., 1990b, Do we have a nutritional treatment for age-related cataract or macular degeneration? *Arch. Ophthalmol.* 108:1403–1405.

Sporn, M. B., and Roberts, A. B., 1993, A major advance in the use of growth factors to enhance wound healing, *J. Clin. Invest.* 92:2565–2566.

Stadlbauer, T. H. W., Eisele, A., Heidt, M. C. et al., 2008, Preconditioning with ozone abrogates acute rejection and prolongs cardiac allograft survival in rats, *Transplant. Proc.* 40:974–977.

Stadtman, E. R., and Oliver, C. N., 1991, Metal-catalyzed oxidation of proteins.

Physiological consequences, *J. Biol. Chem.* 266:2005–2008.

Stamler, J. S., 2004, S-nitrosothiols in the blood: roles, amounts, and methods of analysis, *Circ. Res.* 94:414–417.

Stamler, J. S., Singel, D. J., and Loscalzo, J., 1992, Biochemistry of nitric oxide and its redoxactivated forms, *Science* 258:1898–1902.

Stamm, C., Westphal, B., Kleine, H. D., Petzsch, M., Kittner, C., Klinge, H., Schumichen, C., Nienaber, C. A., Freund, M., and Steinhoff, G., 2003, Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration, *Lancet* 361:45–46.

Stasi, R., Abriani, L., Beccaglia, P., Terzoli, E., and Amadori, S., 2003, Cancer-related fatigue: evolving concepts in evaluation and treatment, *Cancer* 98:1786–1801.

Steece-Collier, K., Maries, E., and Kordower, J. H., 2002, Etiology of Parkinson's disease: genetics and environment revisited, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:13972–13974.

Steidler, L., Hans, W., Schotte, L., Neiryneck, S., Obermeier, F., Falk, W., Fiers, W., and Remaut, E., 2000, Treatment of murine colitis by *Lactococcus lactis* secreting interleukin-10, *Science* 289:1352–1355.

Stein, J. L., and Schwartzbrod, J. K., 1990, Experimental contamination of vegetables with helminth eggs, *Wat. Sci. Tech.* 22:51–57.

Steinberg, M. H., 1999, Management of sickle cell disease, *N. Engl. J. Med.* 340:1021–1030.

Steinhart, H., Schulz, S., and Mutters, R., 1999, Evaluation of ozonated oxygen in an experimental animal model of osteomyelitis as a further treatment option for skull-base osteomyelitis, *Eur. Arch. Otorhinolaryngol.* 256:153–157.

Stephan, F., Cheffi, A., and Bonnet, F., 2001, Nosocomial infections and outcome of critically ill elderly patients after surgery, *Anesthesiology* 94:407–414.

Steuer-Vogt, M. K., Bonkowsky, V., Ambrosch, P., Scholz, M., Neiss, A., Strutz, J., Hennig, M., Lenarz, T., and Arnold, W., 2001, The effect of an adjuvant mistletoe treatment programme in resected head and neck cancer patients: a randomised controlled clinical trial., *Eur. J. Cancer* 37:23–31.

Stillier, B., Sonntag, J., Dahnert, I., Alexi-Meskishvili, V., Hetzer, R., Fischer, T., and Lange, P. E., 2001, Capillary leak syndrome in children who undergo cardiopulmonary bypass: clinical outcome in comparison with complement activation and C1 inhibitor, *Intensive Care Med.* 27:193–200.

Stockley, R. A., Mannino, D., and Barnes, P. J., 2009, Burden and pathogenesis of COPD, *Proc. Am. Thorac. Soc.* 6:524–526.

Stone, J. R., and Collins, T., 2002, The role of hydrogen peroxide in endothelial proliferative responses, *Endothelium* 9:231–238.

Stone, J. R., and Yang, S., 2006, Hydrogen peroxide: a signalling messenger, *Antioxid. Redox Signal* 8:243–270.

Stover, B. H., Shulman, S. T., Bratcher, D. F., Brady, M. T., Levine, G. L., and Jarvis, W. R., 2001, Nosocomial infection rates in US children's hospitals' neonatal and pediatric intensive care units, *Am. J. Infect. Control* 29:152–157.

Strauer, B. E., and Kornowski, R., 2003, Stem cell therapy in perspective, *Circulation* 107: 929–934.

Strauer, B. E., Brehm, M., Zeus, T., Gattermann, N., Hernandez, A., Sorg, R. V., Kogler, G., and Wernet, P., 2001, Intracoronary, human autologous stem cell transplantation for myocardial regeneration following myocardial infarction, *Dtsch. Med. Wochenschr* 126:932–938.

Stewart, S. T., Cutler, D. M., and Rosen, A. B., 2009, Forecasting the effects of obesity and smoking on US life expectancy, *N. Engl. J. Med.* 361:2252–2260.

Stocco, D. M., and McPhaul, M., 2006, Physiology of testicular steroidogenesis, in *Physiology of Reproduction* (3rd Ed.) (J. D. Neill, Ed.), Elsevier, San Diego, CA:977–1016.

Su, W. Y., and Gordon, T., 1997, In vivo exposure to ozone produces an increase in a 72-kDa heat shock protein in guinea pigs, *J. Appl. Physiol.* 83:707–711.

Subarsky, P., and Hill, R. P., 2003, The hypoxic tumour microenvironment and metastatic progression, *Clin. Exp. Metastasis* 20:237–250.

Suckfull, M., 2002, Fibrinogen and LDL apheresis in treatment of sudden hearing loss: a randomised multicentre trial., *Lancet* 360:1811–1817.

Suhadolnik, R. J., Peterson, D. L., O'Brien, K., Cheney, P. R., Herst, C. V., Reichenbach, N. L., Kon, N., Horvath, S. E., Iacono, K. T., Adelson, M. E., De Meirleir, K., De Becker, P., Charubala, R., and Pfeleiderer, W., 1997, Biochemical evidence for a novel low molecular weight 2-5A-dependent RNase L in chronic fatigue syndrome, *J. Interferon Cytokine Res.* 17:377–385.

Sun, J. S., Lu, F. J., Huang, W. C., Hou, S. M., Tsuang, Y. H., and Hang, Y. S., 1999, Antioxidant status following acute ischemic limb injury: a rabbit model, *Free Radic. Res.* 31:9–21.

Swartz, M. N., 1988, The chronic fatigue syndrome – one entity or many? *N. Engl. J. Med.* 319:1726–1728.

Sweet, F., Kao, M.-S., Lee, S.-C. D., Hagar, W. L., and Sweet, W. E., 1980, Ozone selectively inhibits growth of human cancer cells, *Science* 209:931–933.

Symons, M. C., Rusakiewicz, S., Rees, R. C., and Ahmad, S. I., 2001, Hydrogen

peroxide: a potent cytotoxic agent effective in causing cellular damage and used in the possible treatment for certain tumours, *Med. Hypotheses* 57:56–58.

Szatrowski, T. P., and Nathan, C. F., 1991, Production of large amounts of hydrogen peroxide by human tumor cells, *Cancer Res.* 51:794–798.

Tabaracci, G., 2001, L'Ozonioterapia con tecnica "classica" intramuscolo paravertebrale, *Riv. Neuroradiol.* 14:67–70.

Tacchini, L., Pogliaghi, G., Radice, L., Bernelli-Zazzera, A., and Cairo, G., 1996, Posttranscriptional control of increased hepatic catalase gene expression in response to oxidative estresse, *Redox Report* 2:273–278.

Taga, K., Mostowski, H., and Tosato, G., 1993, Human interleukin-10 can directly inhibit T-cell growth, *Blood* 81:2964–2971.

Tamura, Y., Peng, P., Liu, K., Daou, M., and Srivastava, P. K., 1997, Immunotherapy of tumors with autologous tumor-derived heat shock protein preparations, *Science* 278:117–120.

Tan, S., Yokoyama, Y., Dickens, E., Cash, T. G., Freeman, B. A., and Parks, D. A., 1993, Xanthine oxidase activity in the circulation of rats following hemorrhagic shock, *Free Radic. Biol. Med.* 15:407–414.

Tarkington, B. K., Duvall, T. R., and Last, J. A., 1994, Ozone exposure of cultured cells and tissues, *Meth. Enzymol.* 234:257–265.

Tateishi-Yuyama, E., Matsubara, H., Murohara, T., Ikeda, U., Shintani, S., Masaki, H., Amano, K., Kishimoto, Y., Yoshimoto, K., Akashi, H., Shimada, K., Iwasaka, T., and Imaizumi, T., 2002, Therapeutic angiogenesis for patients with limb ischaemia by autologous transplantation of bone-marrow cells: a pilot study and a randomised controlled trial., *Lancet* 360:427–435.

Taylor, R. S., Belli, A. M., and Jacob, S., 1999, Distal venous arterialisation for salvage of critically ischaemic inoperable limbs, *Lancet* 354:1962–1965.

Teicher, B. A., Rose, C. M., 1984, Perfluorochemical emulsions can increase tumor radiosensitivity. *Science* 223:934–936.

Tepel, M., van der, G. M., Statz, M., Jankowski, J., and Zidek, W., 2003, The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial., *Circulation* 107:992–995.

Thiele, J. J., Traber, M. G., Tsang, K., Cross, C. E., and Packer, L., 1997a, In vivo exposure to ozone depletes vitamins C and E and induces lipid peroxidation in epidermal layers of murine skin, *Free Radic. Biol. Med.* 23:385–391.

Thiele, J. J., Traber, M. T., Podda, M., Tsang, K., Cross, C. E., and Packer, L., 1997b, Ozone depletes tocopherols and tocotrienols topically applied to murine skin, *FEBS Lett* 401: 167–170.

Thomas, J. A., Darby, T. D., Wallin, R. F., Garvin, P. J., and Martis, L., 1978, A review of the biological effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 45:1–27.

Thomas, T., Thomas, G., McLendon, C., Sutton, T., and Mullan, M., 1996, Beta-Amyloid-mediated vasoactivity and vascular endothelial damage, *Nature* 380:168–171.

Thomson, A. J., Webb, D. J., Maxwell, S. R., and Grant, I. S., 2002, Oxygen therapy in acute medical care, *BMJ* 324:1406–1407.

Thorburn, A. N., and Hansbro, P. M., 2010, Harnessing regulatory T cells to suppress asthma: from potential to therapy, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* in press.

Tibbles, P. M., and Edelsberg, J. S., 1996, Hyperbaric-oxygen therapy, *N. Engl. J. Med.* 334: 1642–1648.

Ting, H. H., Timimi, F. K., Boles, K. S., Creager, S. J., Ganz, P., and Creager, M. A., 1996, Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *J. Clin. Invest.* 97:22–28.

Tisdale, M. J., 2002, Cachexia in cancer patients, *Nat. Rev. Cancer* 2:862–871.

Titheradge, M. A., 1999, Nitric oxide in septic shock, *Biochim. Biophys. Acta* 1411:437–455.

Topol, E. J., 2004, Intensive statin therapy – a sea change in cardiovascular prevention, *N. Engl. J. Med.* 350:1562–1564.

Torre-Amione, G., Anker, S. D., Bourge, R. C. et al., 2008, Results of a non-specific immunomodulation therapy in chronic heart failure (ACCLAIM trial): a placebo-controlled randomised trial., *Lancet* 371:228–236.

Torre-Amione, G., Sestier, F., Radovancevic, B., and Young, J., 2004, Effects of a novel immune modulation therapy in patients with advanced chronic heart failure: results of a randomized, controlled, phase II trial., *J. Am. Coll. Cardiol.* 44:1181–1186.

Torri, G., Della Grazia, A., and Casadei, C., 1999, Clinical experience in the treatment of lumbar disk disease, with a cycle of lumbar muscle injections of an oxygen + ozone mixture, *Int. J. Med. Biol. Environ.* 27:177–183.

Tosetti, F., Ferrari, N., De Flora, S., and Albini, A., 2002, Angioprevention': angiogenesis is a common and key target for cancer chemopreventive agents, *FASEB J.* 16:2–14.

Toze, S., 1999, PCR and the detection of microbial pathogens in water and wastewater, *Wat. Res.* 33:3545–3556.

Tracey, K. J., 2002, The inflammatory reflex, *Nature* 420:853–859.

Traverso, N., Menini, S., Odetti, P., Pronzato, M. A., Cottalasso, D., and Marinari, U. M., 2002, Diabetes impairs the enzymatic disposal of 4-hydroxynonenal in rat liver, *Free Radic. Biol. Med.* 32:350–359.

Travagli, V., Zanardi, I., and BocciSilviotti, A. V., 2007, A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood, *Intern. J. Biolog. Macromol.* 41:504–511.

Travagli, V., Zanardi, I., Gabbrielli, A., Paccagnini, E., and Bocci, V., 2009a, *Artif. Organs*, October 10 PMID 19817737.

Travagli, V., Zanardi, I., and Bocci, V., 2009b, Topical applications of ozone and ozonated oils as anti-infective agents: an insight into the patent claims, *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 4:130–142.

Travagli, V., Zanardi, I., Bernini, P. et al., 2010, Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood, *Intern. J. Toxicol.* in press.

Travagli, V., Zanardi, I., Gabbrielli, A., Paccagnini, E., Bocci, V., 2010a, Are dialysis devices usable as ozone gas exchangers? *Artif Organs* 34(2):170–175. doi: 10.1111/j.15251594.2009.00767x.

Travagli, V., Zanardi, I., Bernini, P., et al., 2010b, Effects of ozone blood treatment on the metabolite profile of human blood. *Int. J. Toxicol.* 29:165–174.

Travagli, V., Zanardi, I., Valacchi, G., Bocci, V., 2010c, Ozone and ozonated oils in skin diseases: a review. *Mediat. Inflamm.* doi: 10.1155/2010/610418.

Trippel, S. B., 1995, Growth factor actions on articular cartilage, *J. Rheumatol.* 43:129–132.

Tse, H. F., Kwong, Y. L., Chan, J. K., Lo, G., Ho, C. L., and Lau, C. P., 2003, Angiogenesis in ischaemic myocardium by intramyocardial autologous bone marrow mononuclear cell implantation, *Lancet* 361:47–49.

Tylicki, L., Biedunkiewicz, B., Nieweglowski, T., Chamienia, A., Slizien, A. D., Luty, J., Lysiak-Szydłowska, W., and Rutkowski, B., 2004a, Ozonated autohemotherapy in patients on maintenance hemodialysis: influence on lipid profile and endothelium, *Artif. Organs* 28:234–237.

Tylicki, L., Biedunkiewicz, B., Rachon, D. et al., 2004b, No effects of ozonated autohemotherapy on inflammation response in hemodialyzed patients, *Mediators Inflamm.* 13:377–380.

Tylicki, L., Niew, G. T., Biedunkiewicz, B., Burakowski, S., and Rutkowski, B., 2001, Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs – pilot study, *Int. J. Artif. Organs* 24:79–82.

Tylicki, L., Nieweglowski, T., Biedunkiewicz, B., Chamienia, A., Debska-Slizien, A.,

Aleksandrowicz, E., Lysiak-Szydłowska, W., and Rutkowski, B., 2003, The influence of ozonated autohemotherapy on oxidative estresse in hemodialyzed patients with atherosclerotic ischemia of lower limbs, *Int. J. Artif. Organs* 26:297–303.

Ueno, I., Hoshino, M., Miura, T., and Shinriki, N., 1998, Ozone exposure generates free radicals in the blood samples in vitro. Detection by the ESR spin-trapping technique, *Free Radic. Res.* 29:127–135.

Unger, R. H., 2002, Lipotoxic diseases, *Annu. Rev. Med.* 53:319–336.

Urschel, H. C., 1967, Cardiovascular effects of hydrogen peroxide: current status, *Dis. Chest* 51:180–192.

Valacchi, G., and Bocci, V., 1999, Studies on the biological effects of ozone: 10. Release of factors from ozonated human platelets, *Mediators Inflamm.* 8:205–209.

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.

Valacchi, G., Pagnin, E., Okamoto, T., Corbacho, A. M., Olano, E., Davis, P. A., van der Vliet, A., Packer, L., and Cross, C. E., 2003, Induction of estresse proteins and MMP-9 by 0.8 ppm of ozone in murine skin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 305:741–746.

Valacchi, G., van der Vliet, A., Schock, B. C., Okamoto, T., Obermuller-Jevic, U., Cross, C. E., and Packer, L., 2002, Ozone exposure activates oxidative estresse responses in murine skin, *Toxicology* 179:163–170.

Valacchi, G., Weber, S. U., Luu, C., Cross, C. E., and Packer, L., 2000, Ozone potentiates vitamin E depletion by ultraviolet radiation in the murine stratum corneum, *FEBS Lett.* 466: 165–168.

Valdagni, R., and Amichetti, M., 1994, Report of long-term follow-up in a randomized trial comparing radiation therapy and radiation therapy plus hyperthermia to metastatic lymph nodes in stage IV head and neck patients, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 28:163–169.

Valeri, C. R., Contreas, T. J., Feingold, H., Shebley, R. H., and Jaeger, R. J., 1973, Accumulation of di-2-ethylhexyl phthalate (DEHP) in whole blood, platelet concentrates and platelet-poor plasma. I: effect of DEHP on platelet survival and function, *Environ. Health Perspect.* 3: 103–118.

Van der Zee, J., van Beek, E., Dubbelman, T. M. A. R., and Van Steveninck, J., 1987, Toxic effects of ozone on murine L929 fibroblasts, *Biochem. J.* 247:69–72.

Van Leeuwen, R., Vingerling, J. R., Hofman, A., de Jong, P. T., and Stricker, B. H., 2003, Cholesterol lowering drugs and risk of age related maculopathy: prospective cohort study with cumulative exposure measurement, *BMJ* 326:255–256.

Van Parijs, L., and Abbas, A. K., 1998, Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off, *Science* 280:243–248.

Varro, J., 1966, Über das Krebsproblem und seine Therapie, *Ztschr. Int. Med. Ges. F. Blut. U. Geschwulstkrankheiten* 4:5–6.

Varro, J., 1974, Die krebsbehandlung mit ozon, *Erfahrungsheilkunde* 23:178–181.

Varro, J., 1983, Ozone applications in cancer cases, in *Medical Applications of Ozone* (J. LaRaus, Ed.), International Ozone Association, Pan American Committee, Norwalk, CT, pp. 94–95.

Vasiliou, V., Pappa, A., and Petersen, D. R., 2000, Role of aldehyde dehydrogenases in endogenous and xenobiotic metabolism, *Chem. Biol. Interact.* 129:1–19.

Vaughn, J. M., Chen, Y. S., Novotny, J. F., and Strout, D., 1990, Effects of ozone treatment on the infectivity of hepatitis A virus, *Can. J. Microbiol.* 36:557–560.

Vaupel, P., and Hockel, M., 2000, Blood supply, oxygenation status and metabolic micromilieu of breast cancers: characterization and therapeutic relevance, *Int. J. Oncol.* 17:869–879.

Verga, C., 1989, Nuovo approccio terapeutico alle ernie e protrusioni discali lombari, *Riv. Neuroradiol.* 2:148.

Verma, A., Hirsch, D. J., Glatt, C. E., Ronnett, G. V., and Snyder, S. H., 1993, Carbon monoxide: a putative neural messenger, *Science* 259:381–384.

Verrax, J., and Calderon, P. B., 2009, Pharmacologic concentrations of ascorbate are achieved by parenteral administration and exhibit antitumoral effects, *Free Radic. Biol. Med.* 47:32–40.

Verrazzo, G., Coppola, L., Luongo, C., Sammartino, A., Giunta, R., Grassia, A., Ragone, R., and Tirelli, A., 1995, Hyperbaric oxygen, oxygen-ozone therapy, and rheologic parameters of blood in patients with peripheral occlusive arterial disease, *Undersea Hyperbar. Med.* 22: 17–22.

Verteporfin in Photodynamic Therapy (VIP) Study Group, 2003, Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in pathologic myopia: 2-year results of a randomized clinical trial – VIP report no. 3, *Ophthalmology* 110:667–673.

Victor, V. M., McCreath, K. J., and Rocha, M., 2006, Recent progress in pharmacological research of antioxidants in pathological conditions, cardiovascular health, *Recent Pat. Antinfect. Drug Discov.* 1:17–31.

Victorin, K., 1992, Review of the genotoxicity of ozone, *Mutat. Res.* 277:221–238.

Videm, V., Mollnes, T. E., Bergh, K., Fosse, E., Mohr, B., Hagve, T. A., Aasen, A. O., and Svennevig, J. L., 1999, Heparin-coated cardiopulmonary bypass equipment. II. Mechanisms for reduced complement activation in vivo, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*

117:803–809.

Viebahn-Hänsler, R., 1999a, The use of ozone in medicine, ODREI Publishers, Iffezheim, pp. 1–148.

Viebahn-Hänsler, R., 1999b, Einfluss auf den erythrozytenstoffwechsel, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. 1–15.

Viebahn-Hänsler, R., Lell, B., and Kreamsner, P. G., 2001, The effect of ozone on plasmodium falciparum-infected red blood cells, 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. 26–39.

Vingerling, J. R., Hofman, A., Grobbee, D. E., and de Jong, P. T., 1996, Age-related macular degeneration and smoking. The Rotterdam Study, *Arch. Ophthalmol.* 114:1193–1196.

Viru, A., and Tendzegolskis, Z., 1995, Plasma endorphin species during dynamic exercise in humans, *Clin. Physiol.* 15:73–79.

Vivekananthan, D. P., Penn, M. S., Sapp, S. K., Hsu, A., and Topol, E. J., 2003, Use of antioxidant vitamins for the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of randomised trials, *Lancet* 361:2017–2023.

Vollmer, T., Key, L., Durkalski, V., Tyor, W., Corboy, J., Markovic-Plese, S., Preiningerova, J., Rizzo, M., and Singh, I., 2004, Oral simvastatin treatment in relapsing-remitting multiple sclerosis, *Lancet* 363:1607–1608.

Von Harsdorf, R., Poole-Wilson, P. A., and Dietz, R., 2004, Regenerative capacity of the myocardium: implications for treatment of heart failure, *Lancet* 363:1306–1313.

Wadhwa, P. D., Zielske, S. P., Roth, J. C., Ballas, C. B., Bowman, J. E., and Gerson, S. L., 2002, Cancer gene therapy: scientific basis, *Annu. Rev. Med.* 53:437–452.

Wagner, M., Cadetg, P., Ruf, R., Mazzucchelli, L., Ferrari, P., and Redaelli, C. A., 2003, Heme oxygenase-1 attenuates ischemia/reperfusion-induced apoptosis and improves survival in rat renal allografts, *Kidney Int.* 63:1564–1573.

Wahl, C., Liptay, S., Adler, G., and Schmid, R. M., 1998, Sulfasalazine: a potent and specific inhibitor of nuclear factor kappa B, *J. Clin. Invest.* 101:1163–1174.

Wang, P., Chen, H., Qin, H., Sankarapandi, S., Becher, M. W., Wong, P. C., and Zweier, J. L., 1998, Overexpression of human copper, zinc-superoxide dismutase (SOD1) prevents postischemic injury, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:4556–4560.

Warkentin, T. E., 2003, Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis and management, *Br. J. Haematol.* 121:535–555.

Warlow, C., Sudlow, C., Dennis, M., Wardlaw, J., and Sandercock, P., 2003, Stroke,

Lancet 362:1211–1224.

Warren, H. S., Suffredini, A. F., Eichacker, P. Q., and Munford, R. S., 2002, Risks and benefits of activated protein C treatment for severe sepsis, *N. Engl. J. Med.* 347:1027–1030.

Warren, J. B., and Higenbottam, T., 1996, Caution with use of inhaled nitric oxide, *Lancet* 348:629–630.

Wasser, G. H., 1995a, Behandlung von Verletzungen mit ozoniertem Wasser, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. V-7.4 1–V-7.4 8.

Wasser, G. H., 1995b, Zerebrale Durchblutungsstörungen, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, pp. V-6.3 1–V-6.3 12.

Weber, W., and Butcher, J., 2001, Doubts over cell therapy for Parkinson's disease, *Lancet* 357:859.

Webster, G. J., Hallett, R., Whalley, S. A., Meltzer, M., Balogun, K., Brown, D., Farrington, C. P., Sharma, S., Hamilton, G., Farrow, S. C., Ramsay, M. E., Teo, C. G., and Dusheiko, G. M., 2000, Molecular epidemiology of a large outbreak of hepatitis B linked to autohaemotherapy, *Lancet* 356:379–384.

Weck, P. K., Buddin, D. A., and Whisnant, J. K., 1988, Interferons in the treatment of genital human papillomavirus infections, *Am. J. Med.* 85:159–164.

Wehrli, F., and Steinbart, H., 1954, Erfahrungen mit der Haematogenen Oxydations – Therapie (HOT), *Ars. Medici.* 10:44–51.

Wei, Y., Chen, K., Whaley-Connell, A. T., Stump, C. S. et al., 2008, Skeletal muscle insulin resistance: role of inflammatory cytokines and reactive oxygen species, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 294: R673–R680.

Weksler, M. E., Pawelec, G., and Franceschi, C., 2009, Immune therapy for age-related diseases, *Trends Immunol.* 30:344–350.

Weleber, R. G., 1996, The Cuban experience. False hope for a cure for retinitis pigmentosa, *Arch. Ophthalmol.* 114:606–607.

Wells, K. H., Latino, J., Gavalchin, J., and Poiesz, B. J., 1991, Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by ozone in vitro, *Blood* 78:1882–1890.

Wenning, W., Haghikia, A., Laubenberger, J. et al., 2009, Treatment of progressive multifocal leukoencephalopathy associated with natalizumab, *N. Engl. J. Med.*, 361:1075–1080.

Wenzel, R. P., and Edmond, M. B., 1999, The evolving technology of venous access, *N. Engl. J. Med.* 340:48–50.

- Wenzel, R. P., and Edmond, M. B., 2001, The impact of hospital-acquired bloodstream infections, *Emerg. Infect. Dis.* 7:174–177.
- Werkmeister, H., 1995, Dekubitalgeschwüre und die Behandlung mit der Ozon-Unterdruckbegasung, in *Ozon-Handbuch. Grundlagen. Prävention. Therapie* (E. G. Beck, and R. Viebahn-Hänsler, Eds.), Ecomed, Landsberg, p. V-7.1 1–V-7.1 22.
- Wessely, S., 2001, Chronic fatigue: symptom and syndrome, *Ann. Intern. Med.* 134:838–843.
- West, I. C., 2000, Radicals and oxidative estresse in diabetes, *Diabet. Med.* 17:171–180.
- West, S., Vitale, S., Hallfrisch, J., Munoz, B., Muller, D., Bressler, S., and Bressler, N. M., 1994, Are antioxidants or supplements protective for age related macular degeneration? *Arch. Ophthalmol.* 112:222–227.
- Westendorp, M. O., Shatrov, V. A., Schulze-Osthoff, K., Frank, R., Kraft, M., Los, M., Krammer, P. H., Droge, W., and Lehmann, V., 1995, HIV-1 Tat potentiates TNF-induced NF-kappa B activation and cytotoxicity by altering the cellular redox state, *EMBO J.* 14:546–554.
- Whysner, J., Conaway, C. C., Verna, L., and Williams, G. M., 1996, Vinyl chloride mechanistic data and risk assessment: DNA reactivity and cross-species quantitative risk extrapolation, *Pharmacol. Ther.* 71:7–28.
- Wieczorek, G., Asemissen, A., Model, F. et al., 2009, Quantitative DNA methylation analysis of FOXP3 as a new method for counting regulatory T cells in peripheral blood and solid tissue, *Cancer Res.* 69:599–608.
- Wiernsperger, N. F., 2003, Oxidative estresse as a therapeutic target in diabetes: revisiting the controversy, *Diabetes Metab.* 29:579–585.
- Wigley, F. M., Wise, R. A., Seibold, J. R., McCloskey, D. A., Kujala, G., Medsger, T. A., Jr., Steen, V. D., Varga, J., Jimenez, S., and Mayes, M., 1994, Intravenous iloprost infusion in patients with Raynaud phenomenon secondary to systemic sclerosis. A multicenter, placebo-controlled, double-blind study, *Ann. Intern. Med.* 120:199–206.
- Williams, H., 2002, New treatments for atopic dermatitis, *BMJ* 324:1533–1534.
- Williamson, L. M., 2000, Leucocyte depletion of the blood supply – how will patients benefit? *Br. J. Haematol.* 110:256–272.
- Willis, W. D. J., 1995, Il sistema somatosensoriale, in *Fisiologia* (R. M. Berne, and M. N. Levy, Eds.), Casa Editrice Ambrosiana, Milano, pp. 130–151.
- Wilson, P. W., and Grundy, S. M., 2003a, The metabolic syndrome: practical guide to origins and treatment: part I, *Circulation* 108:1422–1424.
- Wilson, P. W., and Grundy, S. M., 2003b, The metabolic syndrome: a practical guide

to origins and treatment: part II, *Circulation* 108:1537–1540.

Wing, K., and Sakaguchi, S., 2010, Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity, *Nat. Immunol.* Jan. 11(1):7–13.

Wiseman, H., and Halliwell, B., 1996, Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer, *Biochem. J.* 313:17–29.

Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Nguyen, K. T., Capeillere-Blandin, C., Nguyen, A. T., Canteloup, S., Dayer, J. M., Jungers, P., Druke, T., and Descamps-Latscha, B., 1998, Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure, *J. Immunol.* 161:2524–2532.

Witko-Sarsat, V., Rieu, P., Descamps-Latscha, B., Lesavre, P., and Halbwachs-Mecarelli, L., 2000, Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects, *Lab. Invest.* 80:617–653.

Witschi, H., Espiritu, I., Pinkerton, K. E., Murphy, K., and Maronpot, R. R., 1999, Ozone carcinogenesis revisited, *Toxicol. Sci.* 52:162–167.

Wolff, H. H., 1974, Die Behandlung peripherer Durchblutungsstörungen mit Ozon, *Erfahr. Hk.* 23:181–184.

Wolff, H. H., 1979, *Das medizinische Ozon. Theoretische Grundlagen, Therapeutische Anwendungen*, Verlag für Medizin, Heidelberg.

Wolff, S., 1996, Aspects of the adaptive response to very low doses of radiation and other agents, *Mutat. Res.* 358:135–142.

Wood, K. C., Hsu, L. L., Gladwin, M. T., 2008, Sickle cell disease vasculopathy: a state of nitric oxide resistance. *Free Radic. Biol. Med.* 44:1506–1528.

Wood, M. J., Johnson, R. W., McKendrick, M. W., Taylor, J., Mandal., B. K., and Crooks, J., 1994, A randomized trial of acyclovir for 7 days or 21 days with and without prednisolone for treatment of acute herpes zoster, *N. Engl. J. Med.* 330:896–900.

Xu, R. X., 2004, *Burns regenerative medicine and therapy*, Karger Publishers, Basel.

Yakes, F. M., and Van Houten, B., 1997, Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative estresse, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:514–519.

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.

Yang, J. C., Haworth, L., Sherry, R. M., Hwu, P., Schwartzentruber, D. J., Topalian, S. L., Steinberg, S. M., Chen, H. X., and Rosenberg, S. A., 2003, A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer, *N. Engl. J. Med.* 349:427–434.

Yee Koh, M., Spivak-Kroizman, T. R., Powis, G., 2008, HIF-1 regulation: not so easy come, easy go. *Trends Biochem. Sci.* 33:526–534.

Yoritaka, A., Hattori, N., Uchida, K., Tanaka, M., Stadtman, E. R., and Mizuno, Y., 1996, Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:2696–2701.

Young, S. D., Marshall, R. S., and Hill, R. P., 1988, Hypoxia induces DNA overreplication and enhances metastatic potential of murine tumor cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:9533–9537.

Youngman, L. D., Park, J. Y., and Ames, B. N., 1992, Protein oxidation associated with aging is reduced by dietary restriction of protein or calories, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:9112–9116.

Yu, B. P., 1994, Cellular defenses against damage from reactive oxygen species, *Physiol. Rev.* 74:139–162.

Yu, B. P., 1996, Aging and oxidative estresse: modulation by dietary restriction, *Free Radic. Biol. Med.* 21:651–668.

Zabel, W., 1960, Ganzheitsbehandlung der Geschwulsterkrankungen, *Hippokrates* 31:751–760.

Zagury, D., Lachgar, A., Chams, V., Fall, L. S., Bernard, J., Zagury, J. F., Bizzini, B., Gringeri, A., Santagostino, E., Rappaport, J., Feldman, M., Burny, A., and Gallo, R. C., 1998, Interferon alpha and Tat involvement in the immunosuppression of uninfected T cells and C-C chemokine decline in AIDS, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:3851–3856.

Zajicek, G., 1995, The placebo effect is the healing force of nature, *Cancer J.* 8:44–45.

Zamora, Z., Gonzales, R., Guanche, D., 2008, Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm. Res.* 57:39–43.

Zanardi, I., Travagli, V., Gabbrielli, A., Chiasserini, L., and Bocci, V., 2008, Physico-chemical characteruzation of sesame oil derivatives, *Lipids* 43:877–886.

Zeuzem, S., 2004, Heterogeneous virologic response rates to interferon-based therapy in patients with chronic hepatitis C: who responds less well? *Ann. Intern. Med.* 140:370–381.

Zhang, Y., and Hogg, N., 2004, S-nitrosohemoglobin: a biochemical perspective,

Free Radic. Biol. Med. 36:947–958.

Zhong, H., De Marzo, A. M., Laughner, E., Lim, M., Hilton, D. A., Zagzag, D., Buechler, P., Isaacs, W. B., Semenza, G. L., and Simons, J. W., 1999, Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in common human cancers and their metastases, *Cancer Res.* 59: 5830–5835.

Zhulina, N. I. et al., 1993, Ozonotherapy efficiency in the treatment of patients with atherosclerosis of coronary and cerebral vessels, in *Ozone in Medicine*, in Proceedings of the 11th Ozone World Congress (P. A. C. International Ozone Association, Ed.), Stamford, CT, pp. M-2-9-11.

Zino, S., Skeaff, M., Williams, S., and Mann, J., 1997, Randomised controlled trial of effect of fruit and vegetable consumption on plasma concentrations of lipids and antioxidants, *BMJ* 314:1787–1791.

Zoukourian, C., Wautier, M. P., Chappey, O., Dosquet, C., Rohban, T., Schmidt, A. M., Stern, D., and Wautier, J. L., 1996, Endothelial cell dysfunction secondary to the adhesion of diabetic erythrocytes. Modulation by iloprost, *Int. Angiol.* 15:195–200.

Zucker et al., 2014, Nrf2 Amplifies Oxidative Estresse via Induction of Klf9, *Molecular Cell*, Vol 53, Issue 6, p916–928, 20

Zuckerbraun, B. S., and Billiar, T. R., 2003, Heme oxygenase-1: a cellular Hercules, *Hepatology* 37:742–744.