

MEDICINA FUNZIONALE REGOLATORIA

1 - 2 0 2 0



**Effetti biologici
dell'ossigeno-ozonoterapia
sul bilancio ossidativo
e sulla glicemia
in ambito clinico**



Associazione Italiana di Medicina Funzionale



Pubblicazione periodica online riservata alla categoria medica

Registrazione Tribunale di Monza
nr. 01/2018

Editore:
Associazione Italiana di Medicina Funzionale
Health Lesmo

Direttore Responsabile:
Serenella Sironi

Via Manzoni, Lesmo (MB),
www.aimfhealth.it
info@aimfhealth.it

In collaborazione con:
Comed, Acta Biologica, Erfahrungs Heilkunde,
Ärztezeitschrift für Naturheilverfahren

Grafica:
Studio Stampa snc, Lesmo (MB)

Provider:
Eurobusiness, Agrate B.za (MB)

L'Editore si riserva la facoltà di rifiutare, a suo insindacabile giudizio, la pubblicazione di qualsiasi articolo od inserzione che non ritenesse idoneo. Gli autori degli articoli si assumono la responsabilità di quanto espresso negli stessi.

Effetti biologici dell'ossigeno-ozonoterapia sul bilancio ossidativo e sulla glicemia in ambito clinico

Fabrizio De Gasperis

Laurea in Medicina e Chirurgia conseguita presso l'Università Statale di Milano nel luglio 1985;

Perfezionato in Endodonzia all'Università di Firenze

Perfezionato in Nutrizione all'Università degli Studi di Milano

Perfezionato in Chirurgia Parodontale all'Università di Firenze

PAROLE CHIAVE

Ozonoterapia - Stress Ossidativo - Potenziale Antiossidante - d-ROM Test - BAP Test - Glicemia - Saturazione Ossigeno.

ABSTRACT

Con questo studio si è cercato di determinare, in termini quantificabili, l'efficacia dell'ossigeno-ozonoterapia nella cura di patologie cronico-degenerative utilizzando: la misurazione dello stress ossidativo (d-ROM Test) del potenziale antiossidante (BAP Test), della glicemia e della saturazione periferica dell'ossigeno. Questo ha permesso di evidenziare come nel medio-lungo periodo l'efficacia di questa metodica terapeutica sia da considerare di primaria importanza. I dosaggi sono stati eseguiti prima di ogni grande autoemoterapia e successivamente dopo un'ora.

INTRODUZIONE

Il medico che utilizza la GAET deve oggettivamente utilizzare strumenti atti a verificare una reale risposta positiva all'ossigeno-ozonoterapia.

Possiamo utilizzare analisi di laboratorio, esami diagnostici strumentali ed ovviamente una scala di valutazione inerente la qualità della vita del paziente pre- e post-trattamento.

Nello studio eseguito abbiamo esaminato un gruppo di pazienti affetti da patologie cronic-degenerative ed autoimmuni eseguendo d-ROMs Test, BAP Test, glicemia e saturazione periferica dell'ossigeno prima e dopo trattamento con GAET.

Test utilizzati

d-ROMs Test: misura indiretta della produzione dei radicali liberi attraverso la detezione di idroperossidi. La quantità degli idroperossidi circolanti presenti nel campione è quindi direttamente proporzionale alla produzione dei radicali liberi e quindi alla potenziale presenza di un danno ossidativo.

BAP Test: misura del potenziale Biologico Antiossidante Plasmatico. Rientrano tra gli antiossidanti misurati quelli esogeni come Vitamina C, E e antiossidanti endogeni come N-acetilcisteina, acido urico, bilirubina, gruppi cisteici e albumina.

I test d-ROMs e BAP sono stati eseguiti su un fotometro dedicato FREE. Kit e strumentazione sono stati acquistati presso Diacron International srl, Grosseto, Italia.

Glucometro: Accu Chek Aviva Connect.

4

BILANCIO OSSIDATIVO E OSSIGENO-OZONOTERAPIA

Premessa

Per l'analisi riportata di seguito verranno utilizzati unicamente i dati relativi ai test d-ROMs⁽¹⁻⁴⁾ e BAP^(5, 6), indici per la valutazione del bilancio ossidativo^(7, 8).

Sono stati selezionati 25 pazienti sui 31 totali. Sono stati esclusi i 6 pazienti che non hanno eseguito il ciclo GAET per intero e/o hanno assunto farmaci antinfiammatori durante il ciclo del trattamento.

I 25 pazienti selezionati sono stati suddivisi in due gruppi:

- GRUPPO 1: pazienti che non assumevano farmaci che potessero interferire con d-ROMs e BAP Test, 17 pazienti.
- GRUPPO 2: pazienti che assumevano integratori e/o antiossidanti, 8 pazienti.
- GRUPPO 3 rappresentante l'unione dei due precedenti gruppi, 25 pazienti totali.

L'analisi dei dati è stata suddivisa in due fasi:

- nella prima, per l'analisi dei dati e l'interpretazione, sono stati utilizzati esclusivamente i valori di d-ROMs e BAP Test ottenuti nel prelievo eseguito nella fase prima del trattamento con GAET.
- nel paragrafo d-ROMs Test prima e dopo **la terapia** sono stati analizzati i dati ottenuti all'interno della stessa seduta prima e dopo la GAET.

Per semplificare l'interpretazione dei dati è stato deciso di utilizzare solo quelli ottenuti a tempo zero (valore basale presunto del paziente), al secondo ciclo, al quinto ciclo e al decimo ciclo di ossigeno-ozonoterapia considerandoli riassuntivi dell'andamento globale nelle sedute intermedie.

Effetti dell'ossigeno-ozonoterapia sul bilancio ossidativo

Una delle principali conseguenze che produce l'ossigeno-ozono inoculato nel paziente è quella di indurre un moderato stress ossidativo in quanto l'ozono per natura è una molecola ossidante^(9, 10). Questo è uno dei meccanismi che permette alla molecola di ozono di apportare benefici al paziente.

Alla luce di questa osservazione, il significato che andremo a dare al d-ROMs Test dovrà essere ben chiaro al fine di dare una corretta interpretazione da quanto emerge da questo estratto.

Infatti, nella comune pratica clinica una diminuzione del d-ROMs Test è associata a miglioramenti⁽¹¹⁾ delle condizioni del paziente così come un aumento dei valori del test è legato a peggioramenti delle condizioni cliniche del paziente.

In questa terapia di tipo ozonizzante, quanto appena detto potrebbe essere l'esatto opposto.

Infatti, il beneficio fornito dall'ozono è generato dalla sollecitazione di un moderato stress ossidativo e probabilmente il paziente che rivela un d-ROMs con andamento a scendere potrebbe non subire l'effetto desiderato della terapia ozonizzante.

Tuttavia, all'interno di questo report è stato considerato l'andamento del d-ROMs come normalmente inteso nella comune pratica clinica riservando al paragrafo di interpretazione dei dati del bilancio ossidativo una analisi nel contesto della terapia ozonizzante.

La diversa interpretazione del significato del d-ROMs Test porterà a una diversa analisi e interpretazione dei grafici e delle tabelle riportate all'interno di questo studio.

Per fare un esempio pratico:

il paziente 9 che durante i 10 cicli di terapia ha avuto sempre un d-ROMs uguale o più basso del suo basale ma inizia l'ultimo ciclo con un d-ROMs più alto, probabilmente inizia a rispondere positivamente solo a questo stadio agli effetti dell'ozonoterapia.

Viceversa, un paziente che dalla prima seduta, esempio il paziente 22, manifesta d-ROMs con andamento ad aumentare probabilmente risponde in maniera tempestiva agli effetti positivi dell'ossigeno-ozonoterapia.

Per la barriera antiossidante possiamo aspettarci che durante l'ossigeno-ozonoterapia questa venga stimolata e subisca, perciò, un aumento misurato in termini di concentrazione dei valori di BAP Test^(7, 8).

Andamento del bilancio ossidativo

■ Legenda

Alcuni dei dati inseriti nelle tabelle e nei grafici sono stati approssimati in base a dei criteri di correzione arbitrari. Questi criteri si sono basati sull'andamento generale dei dati ricavati dell'intero ciclo di terapia per ogni paziente. Laddove sono state apportate approssimazioni il dato interessato è stato contrassegnato con *.

In particolare, queste variazioni sono state apportate:

- per il d-ROMs:
 - Pz 3 al 2° ciclo, Pz 4 al 5° ciclo; Pz 18 al 1° ciclo; Pz 31 al 2° ciclo;
- per il BAP:
 - Pz 22 1° e 5° ciclo.

L'analisi dei dati è basata sulla variabilità dei due biomarker (d-ROMs e BAP Test) tra il tempo zero e le successive sedute di ossigeno-ozonoterapia (secondo, quinto e decimo ciclo). La variabilità dei due biomarker è stata fissata con un margine di scarto del $\pm 5\%$.

Ad esempio, il dato che subiva una variazione entro il $\pm 5\%$ è stato considerato pressoché invariato e contrassegnato con (=) sia per il d-ROMs che per il BAP Test.

Il dato del d-ROMs che subiva un incremento maggiore del 5% è stato evidenziato in rosso (>) mentre un decremento maggiore del 5% è stato segnalato con il verde (<).

Per il BAP Test l'utilizzo dei colori rosso e verde è invertito rispetto al d-ROMs, in quanto un aumento del BAP (>) è considerato positivo e viceversa per il decremento (<).

Nelle tabelle dove compaiono le seguenti annotazioni:

- **1°-2°**: sono presi in considerazione i dati a tempo zero e alla seconda seduta;
- **1°-5°**: sono presi in considerazione i dati a tempo zero e alla quinta seduta;
- **1°-10°**: sono presi in considerazione i dati a tempo zero e alla decima seduta.

Quindi, questi dati rappresentano le variazioni al secondo ciclo, al quinto ciclo e al decimo ciclo rispetto al valore basale.

Come già accennato, nei grafici saranno riportati solo tre valori:

- a tempo zero;
- alla quinta seduta;
- alla decima seduta;

considerando questi valori esemplificativi dell'andamento generale fra la prima e la quinta seduta e fra la quinta e la decima.

▪ GRUPPO 1: pazienti che non assumono farmaci interferenti (N 17)

In questo gruppo si evidenzia che l'effetto primario (quindi tra la prima e la seconda terapia) dell'ossigeno-ozono inoculato è quello di alterare il d-ROMs in 14 casi su 17, sia in termini di incremento che di diminuzione. La tendenza, tuttavia, è quella di un aumento del d-ROMs, 9 casi su 17. Solo in 5 pazienti su 17 si registra una diminuzione del d-ROMs alla prima seduta. Interessante è il fatto che in 8 casi su 9 in cui il d-ROMs aumenta in nessun caso il BAP aumenta, rimane uguale in 7 casi. In 4 casi su 5 in cui il d-ROMs diminuisce si ha un aumento del BAP Test.

Il migliore risultato per il d-ROMs si raggiunge al quinto ciclo di terapia con 4 pazienti a cui questo parametro diminuisce e 7 a cui non aumenta rispetto al valore basale. Valutando come positivi anche i casi in cui il d-ROMs non subisce una variazione rispetto al valore basale, il quinto ciclo di terapia sembra essere la condizione migliore in termini di diminuzione del d-ROMs Test. Diversamente, il primo ciclo di terapia risulta essere la condizione peggiore (aumento del d-ROMs Test).

Tuttavia, solo 3 pazienti su 17 arriveranno al termine della terapia (10° ciclo) con un d-ROMs diminuito rispetto al valore basale.

L'andamento del BAP Test è decisamente più positivo rispetto al d-ROMs. Già alla prima seduta di terapia 7 pazienti su 17 mostrano un aumento, ma soprattutto solo a due pazienti diminuisce il valore del BAP. Da annotare che l'effetto primario (quindi tra la prima e la seconda terapia) dell'ossigeno-ozonoterapia ha minori effetti sulla barriera antiossidante del paziente rispetto a quanto visto per il d-ROMs (quantità idroperossidi).

Infatti, 8 pazienti su 17 non modificano il valore di partenza del BAP. Il decimo ciclo di terapia risulta essere la condizione migliore in termini di BAP Test.

Pazienti	2	6	7	8	9	12	15	16	21	22	25	26	27	29	30	31	19	TOTALE		
d-ROMs 1° ciclo	251	360	247	397	326	467	226	445	288	393	486	359	503	285	401	259	323	<	=	>
1°-2°	<	<	>	>	=	<	>	>	>	>	<	>	=	>	<	=*	>	5	3	9
1°-5°	<	<	>	=	<	=	>	=	=	>	<	>	=	>	=	=	>	4	7	6
1°-10°	<	=	>	=	>	=	=	<	>	=	<	>	=	>	>	=	>	3	7	7
d-ROMs 10° ciclo	231	363	289	396	382	466	217	391	349	397	405	420	479	357	446	255	364	UCARR		

Tabella 1 - valori del d-ROMs test del GRUPPO 1 - pazienti che non assumono farmaci

Pazienti	2	6	7	8	9	12	15	16	21	22	25	26	27	29	30	31	19	TOTALE		
BAP 1° ciclo	1679	1753	1745	1915	1581	1549	1638	1660	1814	1600*	1332	1556	1618	1571	1618	1337	1701	>	=	<
1°-2°	=	>	=	<	>	>	=	=	=	=	>	>	>	=	<	>	=	7	8	2
1°-5°	=	=	<	=	>	>	=	<	<	=*	=	>	>	=	<	>	>	6	7	4
1°-10°	=	=	=	=	>	>	<	>	>	>	=	<	=	>	<	>	>	8	6	3
BAP 10° ciclo	1680	1816	1811	2010	1902	1798	1358	1801	1974	2054	1283	1104	1561	1715	1393	1590	1982	µmol/L		

Tabella 2 - valori del BAP test del GRUPPO 1 - pazienti che non assumono farmaci

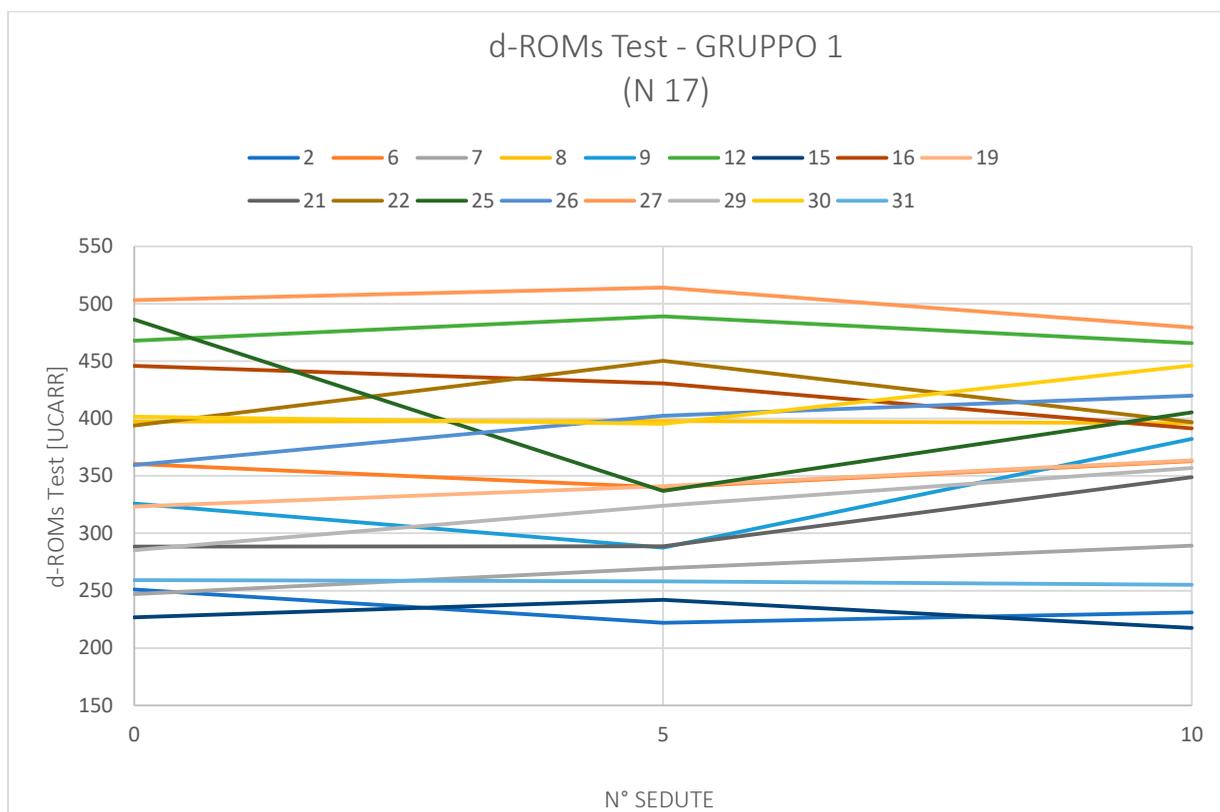


Figura 1 - andamento dei d-ROMs del Gruppo 1 tra tempo zero, 5^a e 10^a seduta

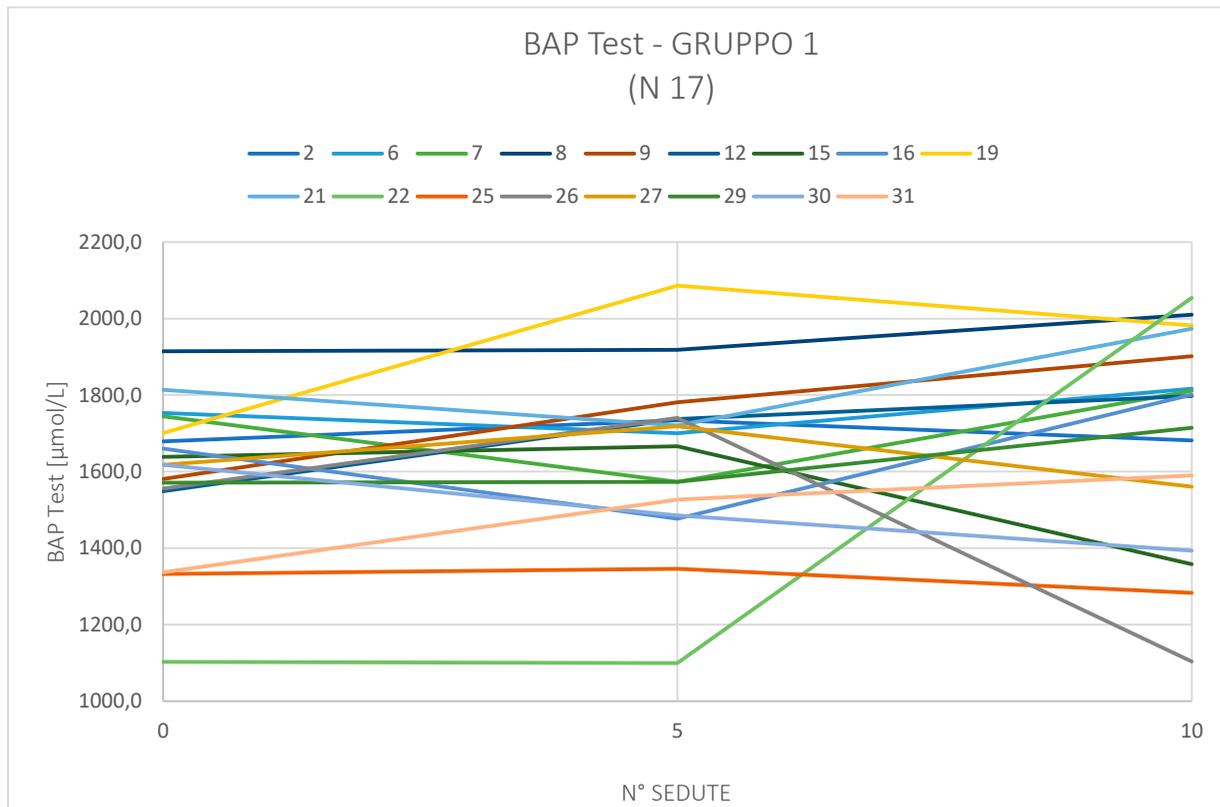


Figura 2 - andamento dei BAP del Gruppo 1 tra tempo zero, 5^a e 10^a seduta

Dividendo i pazienti del Gruppo 1 in base ai valori di partenza (1° ciclo) del d-ROMs Test è possibile riscontrare un incremento medio sia del d-ROMs Test che del BAP Test nelle fasce sotto i 400 UCARR.

Diversamente nella fascia di pazienti con d-ROMs sopra i 400 UCARR si ha un decremento del d-ROMs Test con un BAP Test pressoché invariato. In questo gruppo di pazienti (d-ROMs > 400 UCARR) si può ipotizzare che parte delle difese antiossidanti (BAP Test) siano state consumate per combattere l'eccesso di ROMs.

	d-ROMs < 300 UCARR			300 < d-ROMs < 400			d-ROMs > 400 UCARR		
	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP
Media valori basale	6	260	1630	6	360	1601	5	461	1555
Media ciclo 5		267	1632		370	1721		433	1553
Media ciclo 10		283	1762		387	1760		438	1567

Tabella 3 - valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 1 raggruppati per fascia di d-ROMs

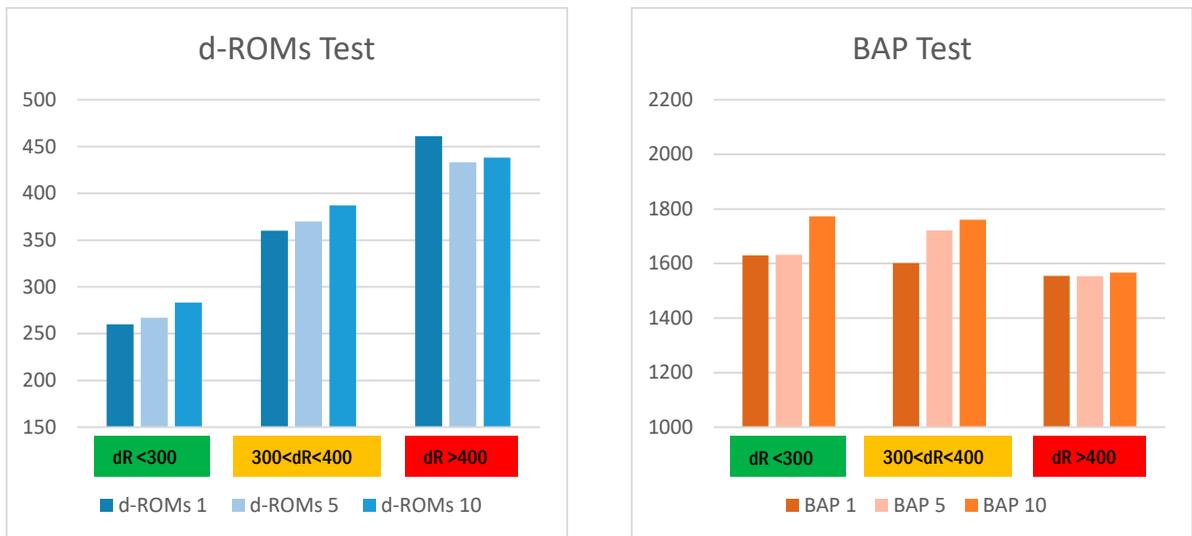


Figura 3 - valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 1 raggruppati per fascia di d-ROMs

▪ GRUPPO 2: pazienti che assumono integratori e/o antiossidanti (N 8)

Nel Gruppo 2 il dato che risalta maggiormente è che al primo ciclo di terapia solo 1 paziente su 8 mostra un aumento di d-ROMs, questo dato si conferma anche al quinto ciclo di terapia (stesso paziente). Questo aspetto assume maggiore importanza se paragonato all'andamento del d-ROMs nel Gruppo 1 al primo ciclo (9 pazienti su 17 con un d-ROMs Test aumentato).

È, inoltre, importante sottolineare che il d-ROMs non aumenta in questo gruppo sia nei pazienti con valori di partenza di d-ROMs alti sia in quelli con valori medio-bassi.

A differenza del Gruppo 1, l'effetto primario dell'ossigeno-ozono non è così di impatto in questi pazienti che assumono integratori e/o antiossidanti, in quanto ben 4 pazienti su 8 non modificano il valore basale di d-ROMs. Nel Gruppo 1 invece in 14 casi su 17 presenta una modifica, sia in termini di incremento che di diminuzione per il d-ROMs Test.

Anche in questo gruppo, alla quinta seduta si raggiunge il miglior risultato in termini di diminuzione del d-ROMs. Al quinto ciclo infatti 4 pazienti su 8 presentano una diminuzione del d-ROMs rispetto al valore di partenza.

Solo quando si arriva alla decima seduta si verificano i primi casi di incremento del d-ROMs Test.

Il BAP Test mostra un andamento a salire durante tutta la terapia, in questo caso fino alla decima seduta. Infatti, 6 pazienti su 8 presentano il valore del BAP Test migliorato. Tuttavia, al quinto ciclo già 5 pazienti su 8 risultano migliorati.

Si può quindi ipotizzare che il prosieguo della terapia in questi pazienti avrebbe ulteriormente modificato in senso positivo il rapporto d-ROMs/BAP (moderato incremento del d-ROMs a fronte di un aumento del BAP Test).

Pazienti	3	4	5	10	11	17	18	28	TOTALE		
d-ROMs 1° ciclo	307	340	430	331	443	249	320*	233	<	=	>
1°-2°	=*	<	<	=	=	<	=*	>	3	4	1
1°-5°	<	<*	=	<	=	<	=	>	4	3	1
1°-10°	>	=	>	<	=	<	=	>	2	3	3
d-ROMs 10° ciclo	333	342	467	274	430	217	303	407	UCARR		

Tabella 4 - valori del d-ROMs Test del GRUPPO 2 - pazienti che assumono integratori e/o antiossidanti

Pazienti	3	4	5	10	11	17	18	28	TOTALE		
BAP 1° ciclo	1452	1550	1915	1402	1632	1959	1196	1693	>	=	<
1°-2°	=	=	<	>	>	>	>	>	5	2	1
1°-5°	=	>	>	>	>	=	>	<	5	2	1
1°-10°	>	>	=	>	>	=	>	>	6	2	0
BAP 10° ciclo	1875	1761	1800	1816	1910	1835	1654	1931	µmol/L		

Tabella 5 - valori del BAP Test del GRUPPO 2 - pazienti che assumono integratori e/o antiossidanti

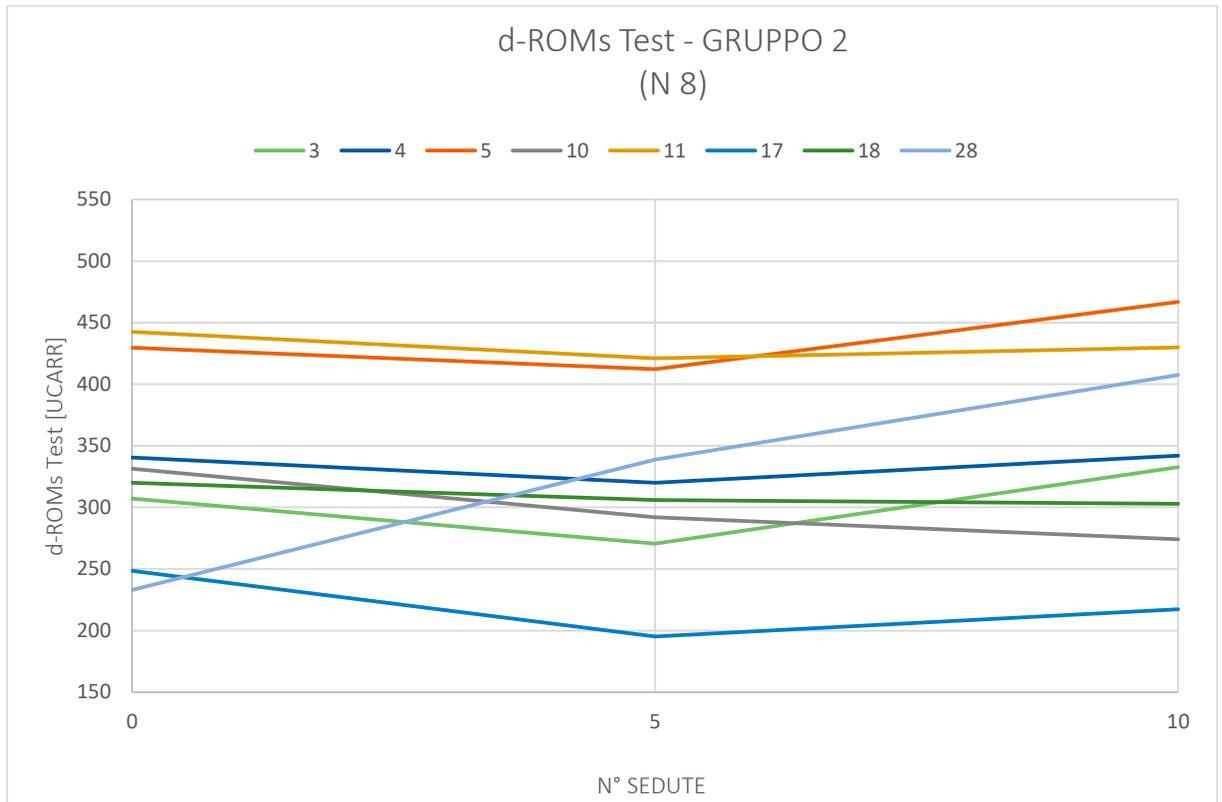


Figura 4 - andamenti dei d-ROMs del Gruppo 2 tra tempo zero, 5^a e 10^a seduta

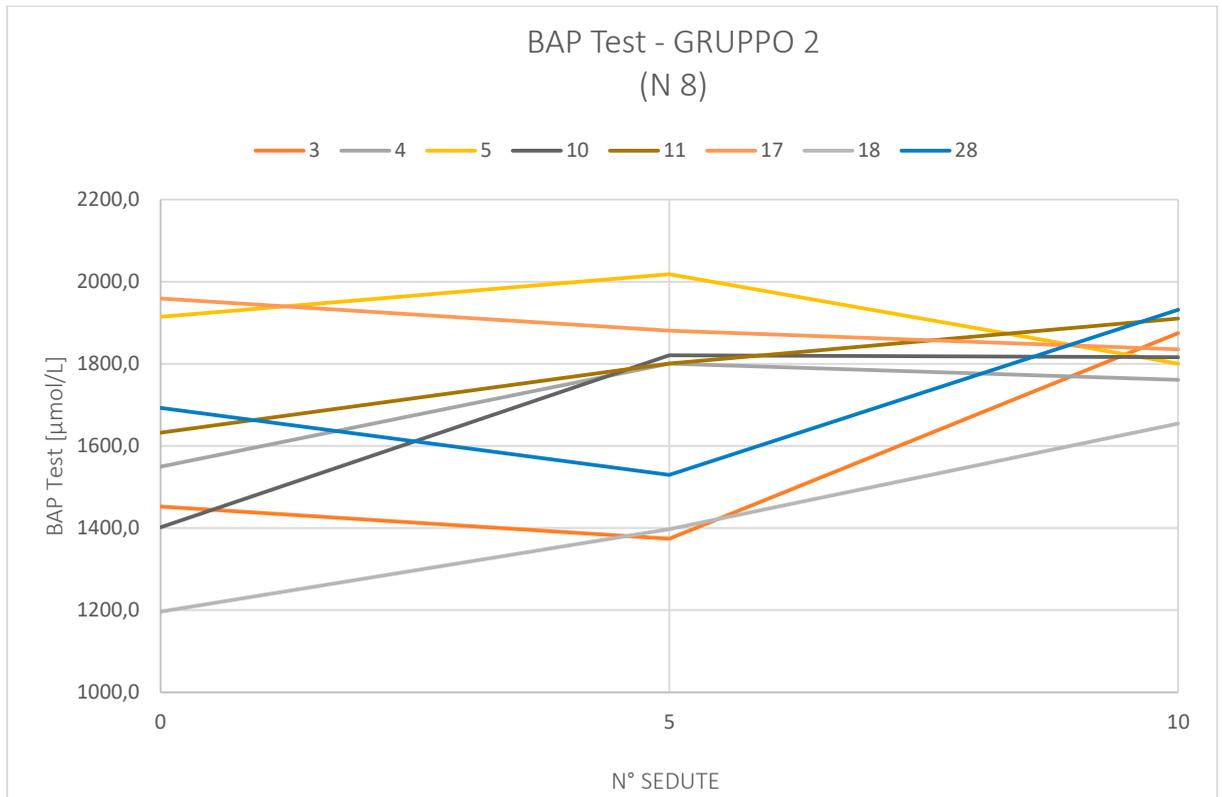


Figura 5 - andamenti del BAP del Gruppo 2 tra tempo zero, 5^a e 10^a seduta

Dividendo i pazienti del Gruppo 2 in base ai valori di partenza del d-ROMs Test è possibile riscontrare un incremento medio del d-ROMs Test nella fascia sotto i 300 UCARR ed una momentanea diminuzione del d-ROMs al ciclo 5 nelle altre due fasce.

Per il BAP si ha un incremento generale in decima seduta rispetto al valore basale. Questo incremento è più significativo nei pazienti con un d-ROMs basale compreso fra 300 e 400 UCARR.

	d-ROMs < 300 UCARR			300 < d-ROMs < 400			d-ROMs > 400 UCARR		
	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP
Media valori basale	2	241	1825	4	325	1400	2	436	1773
Media ciclo 5		267	1705		297	1598		417	1909
Media ciclo 10		312	1883		313	1776		448	1855

Tabella 6 - valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 2 raggruppati per fascia di d-ROMs

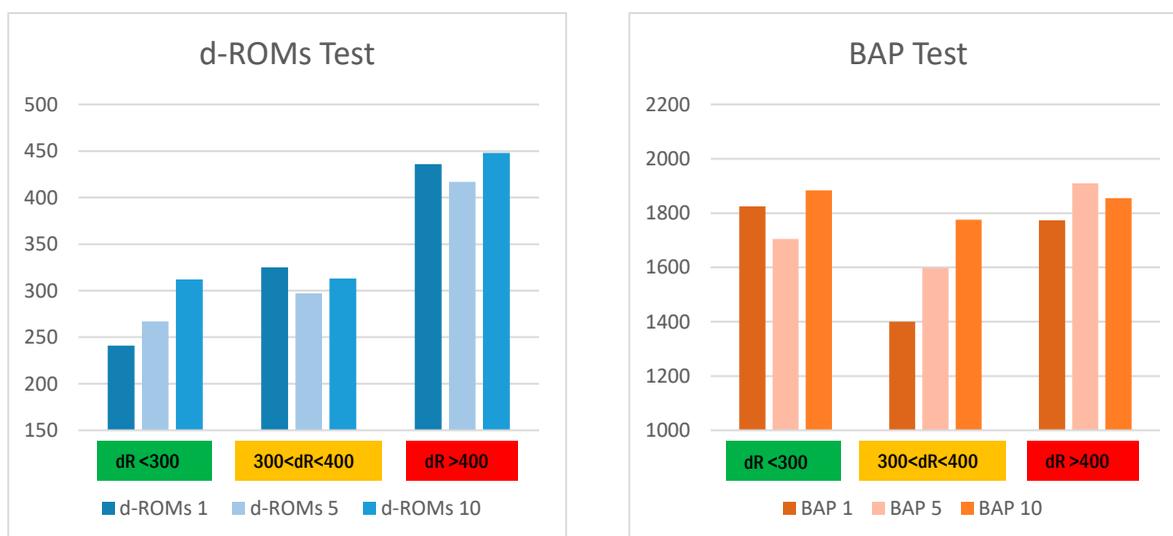


Figura 6 - valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 2 raggruppati per fascia di d-ROMs

GRUPPO 3: tutti i pazienti (N 25)

Visione d'insieme dei due gruppi:

- d-ROMs:
 - il miglior risultato, in termini di diminuzione del dato, è raggiunto al quinto ciclo con 8 casi su 25 a cui sale rispetto al valore di partenza;
 - nell'arco delle dieci sedute di ossigeno-ozonoterapia l'andamento generale del d-ROMs Test è a salire.
- BAP:
 - l'ossigeno-ozonoterapia ha un effetto positivo sulla barriera antiossidante sin dalla prima seduta, infatti a solo 3 pazienti su 25 diminuisce il BAP alla prima seduta;
 - l'effetto migliore si raggiunge alla decima seduta con 14 pazienti su 25 a cui migliora il BAP e solo a 3 a cui diminuisce il livello di antiossidanti.

Paz.	2	6	7	8	9	12	15	16	21	22	25	26	27	29	30	31	19	3	4	5	10	11	17	18	28	<	=	>
1°-2°	<	<	>	>	=	<	>	>	>	>	<	>	=	>	<	=	>	=	<	<	=	=	<	=	>	8	7	10
1°-5°	<	<	>	=	<	=	>	=	=	>	<	>	=	>	=	=	>	<	<	=	<	=	<	=	>	8	10	7
1°-10°	<	=	>	=	>	=	=	<	>	=	<	>	=	>	>	=	>	>	=	>	<	=	<	=	>	5	10	10

Tabella 7 - valori del d-ROMs Test del GRUPPO 3- tutti i pazienti

12

Paz.	2	6	7	8	9	12	15	16	21	22	25	26	27	29	30	31	19	3	4	5	10	11	17	18	28	>	=	<
1°-2°	=	>	=	<	>	>	=	=	=	=	>	>	>	=	<	>	=	=	=	<	>	>	>	>	>	12	10	3
1°-5°	=	=	<	=	>	>	=	<	<	=	=	>	>	=	<	>	>	=	>	>	>	>	=	>	<	11	9	5
1°-10°	=	=	=	=	>	>	<	>	>	>	=	<	=	>	<	>	>	>	>	=	>	>	=	>	>	14	8	3

Tabella 8 - valori del BAP Test del GRUPPO 3 – tutti i pazienti

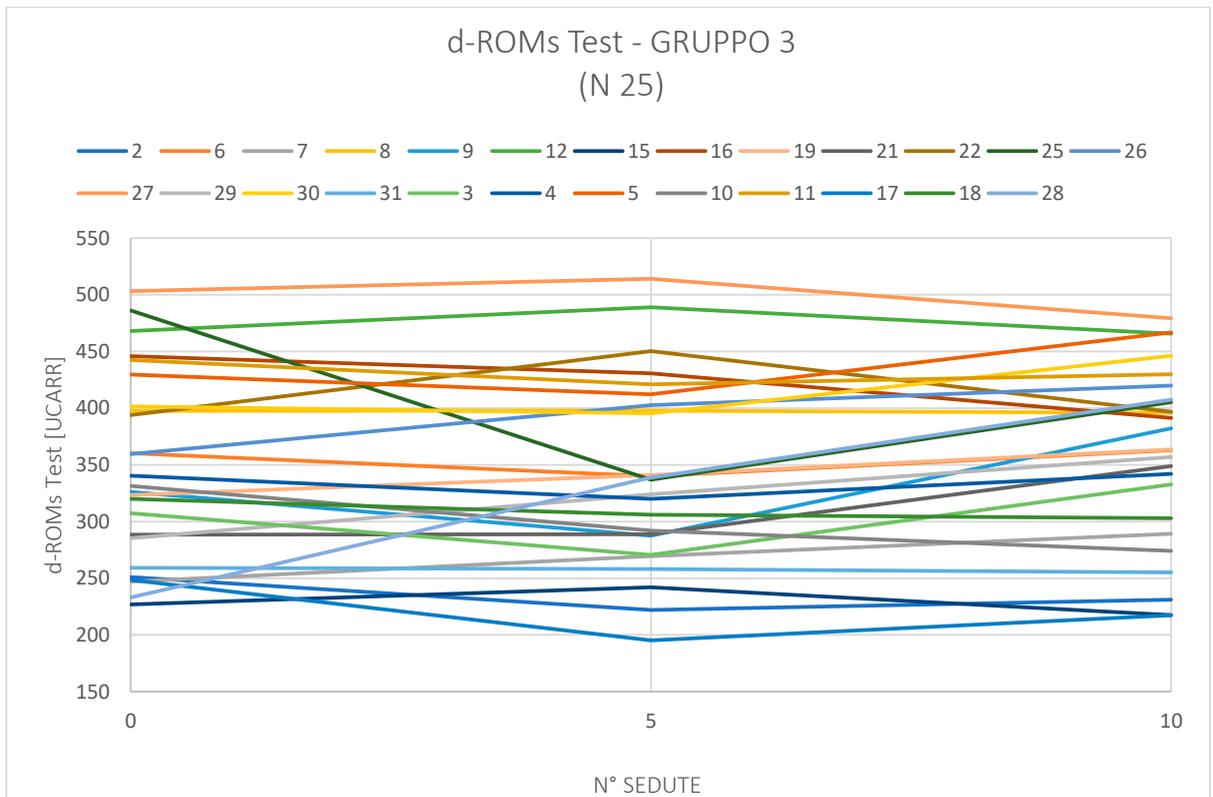


Figura 7 - andamenti dei d-ROMs del Gruppo 3 tra tempo zero, 5^a e 10^a seduta

Dei 25 pazienti totali, 16 mostrano un andamento a decrescere fra la prima e la quinta seduta per il d-ROMs Test.

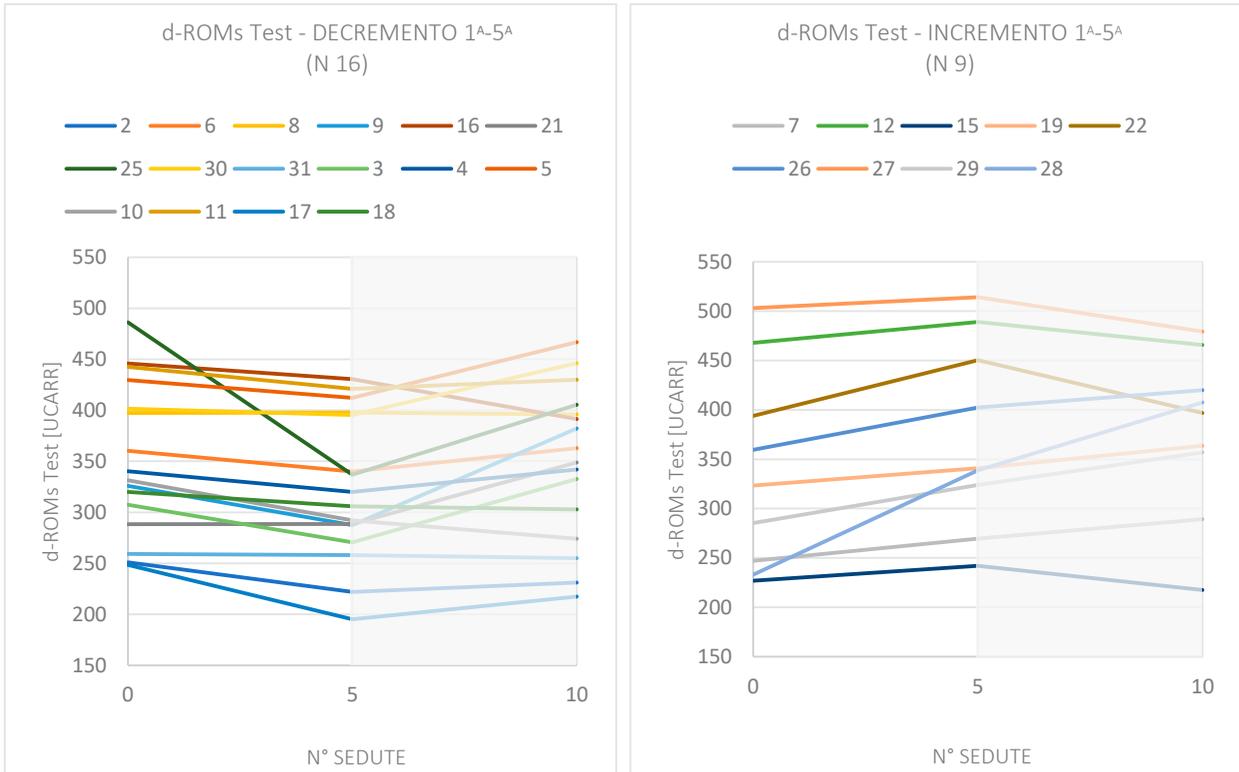


Figura 8 - d-ROMs del Gruppo 3 per andamento tra tempo zero e 5^A seduta

Dei 25 pazienti totali, 18 mostrano un andamento a crescere fra la quinta e la decima seduta per il d-ROMs Test.

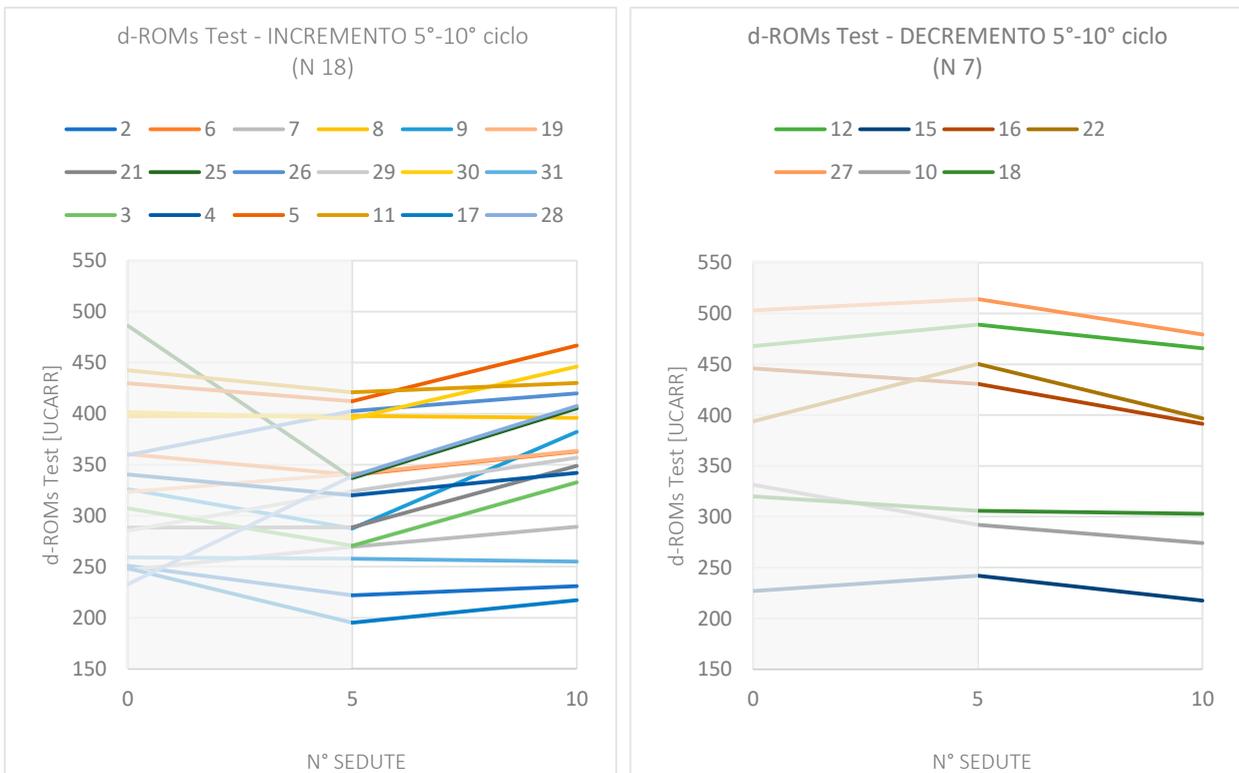


Figura 9 - d-ROMs del Gruppo 3 per andamento tra 5^A e 10^A seduta

Dei 25 pazienti totali, 18 mostrano un andamento a crescere fra la prima e la decima seduta per il BAP Test.

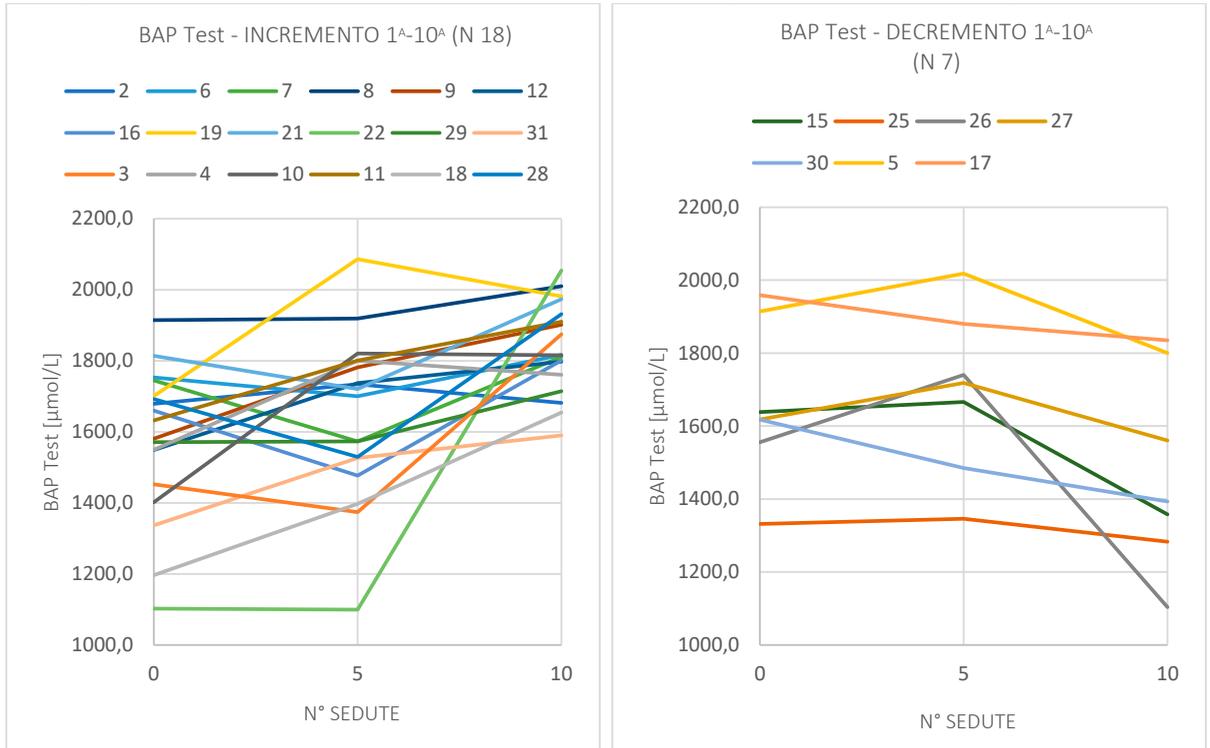


Figura 10 - BAP del Gruppo 3 per andamento tra tempo zero e 10^a seduta

Dividendo i pazienti in base ai valori di partenza del d-ROMs Test è possibile riscontrare un incremento medio del d-ROMs Test nella fascia sotto i 400 UCARR (più marcato nella fascia sotto i 300 UCARR) ed un incremento generale del BAP più marcato però nei pazienti con un d-ROMs basale inferiore a 400 UCARR.

	d-ROMs < 300 UCARR			300 < d-ROMs < 400			d-ROMs > 400 UCARR		
	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP	Pazienti	d-ROMs	BAP
Media valori basale	8	255	1679	10	346	1520	7	454	1617
		267	1650		341	1672		428	1655
Media ciclo 10		290	1800		357	1776		441	1649

Tabella 9 – valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 3 raggruppati per fascia di d-ROMs

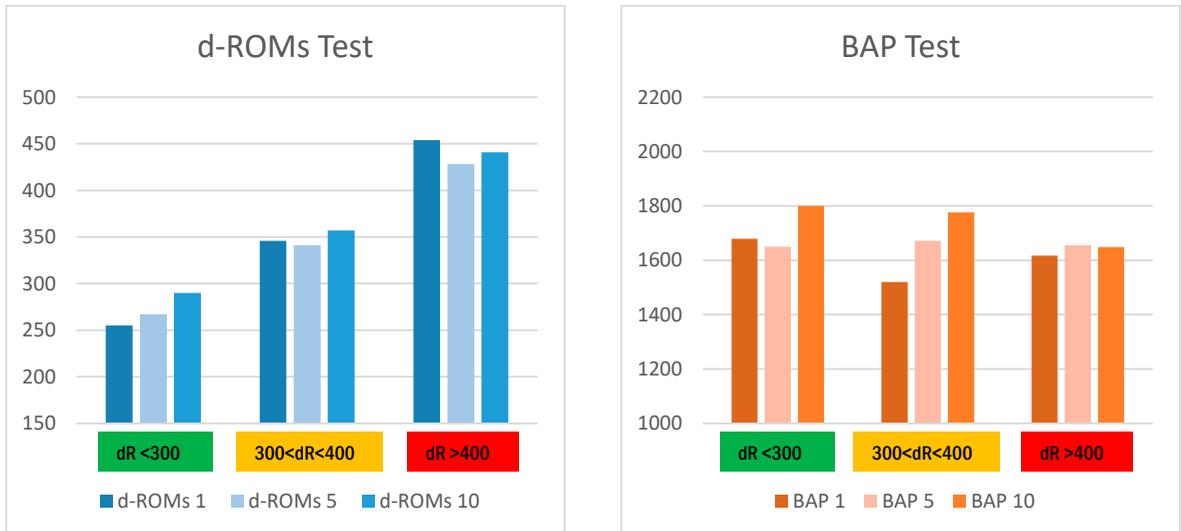


Figura 11 - valori medi di d-ROMs e BAP del GRUPPO 3 raggruppati per fascia di d-ROMs

OSI - Indice di Stress Ossidativo

Per avere una migliore visuale dell'andamento della ossigeno-ozonoterapia sul bilancio ossidativo del paziente è stato applicato un indice di stress ossidativo dato dal rapporto tra BAP e d-ROMs Test. Questo indice dà più peso alla componente plasmatica antiossidante rispetto a quella pro-ossidante.

$$OSI = \frac{BAP}{d - ROMs}$$

L'indice che ricaviamo da questo rapporto non ha unità di misura e più il valore numerico sarà basso più il bilancio ossidativo risulterà alterato. Viceversa, più il valore sarà alto più il paziente avrà una migliore condizione fisiologica in termini di produzione di radicali liberi e antiossidanti.

Il valore numerico di normalità ricavato dal rapporto tra BAP e d-ROMs è stato stabilito essere 5,0.

Questo numero deriva dal rapporto tra 1700/340 in quanto per il d-ROMs è stato stabilito come valore soglia di normalità 340 UCARR e 1700 µM per il BAP Test. Questi due valori sono stati arbitrariamente fissati sulla base delle medie riscontrate nei pazienti a tempo 0.

L'utilizzo di valori di d-ROMs e BAP Test, comunemente considerati di riferimento in popolazioni sane (300 UCARR e 2200 µM), avrebbero alterato la presente analisi in quanto la popolazione dei pazienti all'interno di questo studio era di partenza tendenzialmente patologica.

In particolare, dei 25 pazienti presenti all'interno di questo studio sono stati creati gli indici di stress ossidativo al tempo zero, al quinto ciclo e decimo ciclo di ossigeno-ozonoterapia.

Come è possibile osservare dalla Figura 12, otto pazienti che a tempo zero presentavano un indice OSI sotto quello di normalità, raggiungeranno al decimo ciclo un valore OSI maggiore di 5. Usciranno quindi dalla terapia con una condizione di bilancio ossidativo migliorata e addirittura ottimale.

Al quinto ciclo, invece, solo 5 pazienti degli 8 citati riuscivano a portare l'indice OSI a un valore superiore a 5.

CICLI TERAPIA	PAZIENTI	ANNOTAZIONE
Tempo zero	3, 4, 6, 8, 9, 10, 18, 22	OSI sotto la soglia di normalità
Ciclo 5°	3, 4, 6, 9, 10	superano il valore OSI di normalità
Ciclo 10°	3, 4, 6, 8, 9, 10, 18, 22	superano il valore OSI di normalità

Oltre a questi 8 pazienti su 25, che subiscono gli effetti benefici della terapia, si evidenzia che su altri 7 pazienti l'indice OSI rimane (durante tutta l'intera terapia) sempre sopra il valore di normalità. Sommando questi 7 pazienti ai precedenti 8, risulta che 15 pazienti su 25 trarranno beneficio dai 10 cicli di ossigeno-ozonoterapia in termini di bilancio ossidativo.

Considerando, quindi, il rapporto tra i due parametri BAP/d-ROMs, possiamo affermare che l'ossigeno-ozonoterapia esplica un beneficio in termini di benessere di bilancio ossidativo alla decima seduta. Questo è in controtendenza rispetto a quanto emergeva nella prima parte di questo lavoro, dove avevamo preso in considerazione i singoli casi e i singoli parametri d-ROMs e BAP Test.

È quindi evidente che il BAP Test aumenta sensibilmente durante la terapia ed è proprio questo biomarker che influenzerà positivamente la riuscita dell'ossigeno-ozonoterapia.

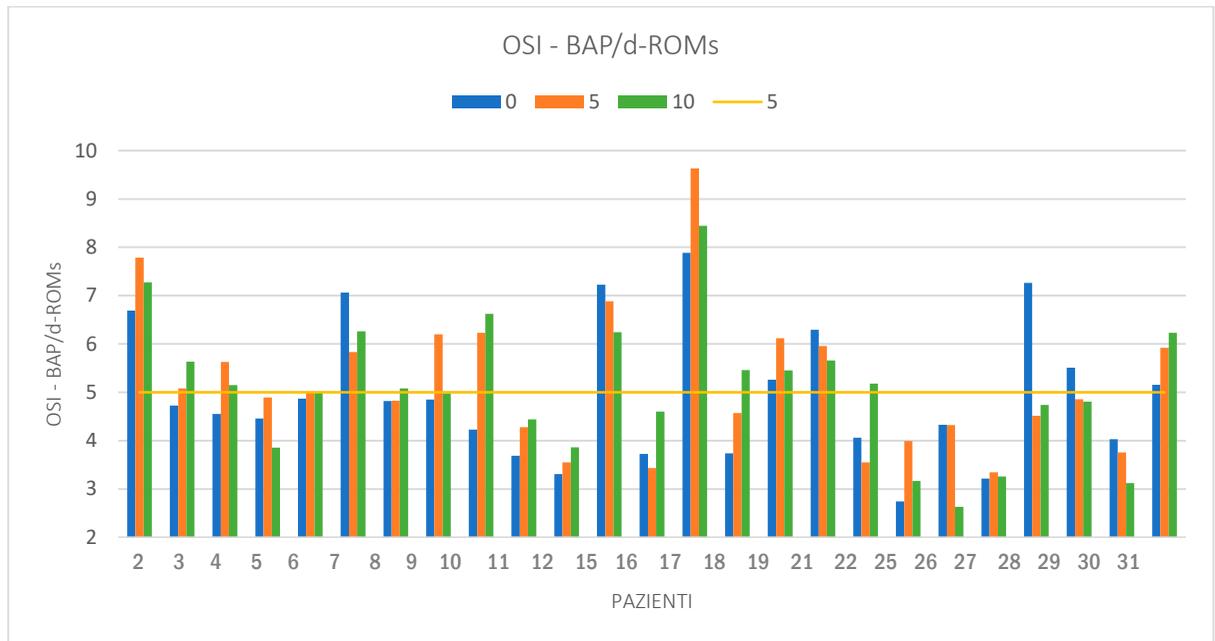


Figura 12 - OSI (Indice di Stress Ossidativo)

d-ROMs Test prima e dopo la terapia

In base alla statistica dei dati ottenuti fra il prelievo effettuato prima e subito dopo la seduta con ossigeno-ozonoterapia, il d-ROMs ha mostrato:

- la tendenza ad aumentare a seguito della terapia in 157 casi su 274 ($\Delta > 0$, valore finale meno valore iniziale),
- la tendenza a diminuire a seguito della terapia in 117 casi su 274 ($\Delta < 0$, valore finale meno valore iniziale).

Utilizzando questi due sottogruppi e prendendo in considerazione anche i dati prima del trattamento sia della seduta precedente che della successiva, si è potuto osservare che nella maggior parte dei casi (2 su 3) in cui si rileva un $\Delta > 0$ il valore di d-ROMs prima della seduta risultava inferiore sia alla seduta precedente che alla successiva (picco basso).

Un andamento analogo è stato riscontrato nei casi in cui la terapia ha portato ad una diminuzione del d-ROMs ($\Delta < 0$). In questi casi il valore di d-ROMs prima della seduta (3 casi su 4) risultava superiore al dato precedente ed al successivo (picco alto).

Riassumendo: la tendenza ad aumentare o a diminuire del d-ROMs, con l'aumentare del numero di cicli, non avviene in maniera lineare, bensì con andamento sinusoidale, come riportato in Figura 13

L'analisi di questi dati suggerisce che l'ossigeno-ozonoterapia necessita di svariati cicli per poter espletare al meglio il proprio effetto.

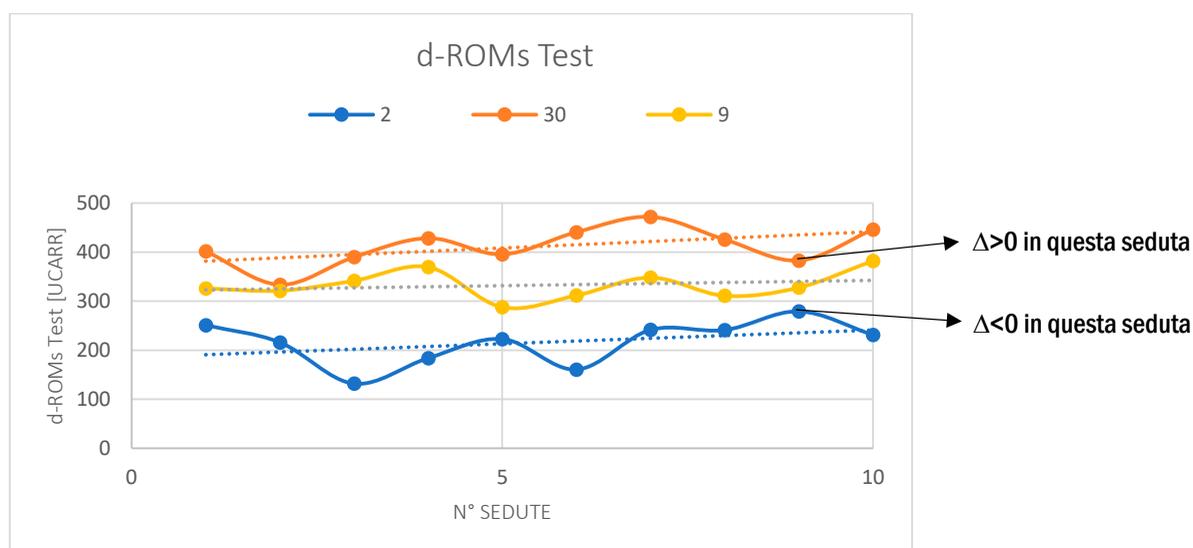


Figura 13 - andamento d-ROMs (prima della seduta)

Interpretazione dei dati del bilancio ossidativo

Nella prima parte di analisi di questo lavoro, analizzando il GRUPPO 1, è emerso che il miglior risultato in termini di condizione di bilancio ossidativo si raggiunge al quinto ciclo di terapia. Questo concetto è basato sull'analisi dei due biomarker (d-ROMs e BAP) il contributo del d-ROMs è stato significativamente maggiore. Il BAP Test manifesta un andamento ad aumentare nel corso della terapia raggiungendo i migliori risultati sia al primo ciclo che al decimo ciclo di ossigeno-ozonoterapia. In questa tipologia di gruppo potrebbe essere utile, quindi, valutare se interrompere alla quinta seduta per poi riprendere una nuova sessione di ossigeno-ozonoterapia a distanza temporale opportuna.

La condizione del GRUPPO 2, in cui i pazienti assumono integratori e antiossidanti prima e durante l'ossigeno-ozonoterapia, evidenzia un miglior risultato in termini di bilancio ossidativo. Il d-ROMs ed il BAP Test mostrano i migliori risultati rispettivamente al quinto e al decimo ciclo. Alla luce di questi dati si potrebbe suggerire di far assumere al paziente antiossidanti prima di intraprendere terapie di ossigeno-ozono.

È possibile ipotizzare che il prosieguo della terapia in questi pazienti avrebbe ulteriormente modificato, in senso positivo, il rapporto d-ROMs/BAP (moderato incremento del d-ROMs a fronte di un aumento del BAP Test).

Esaminando invece la valutazione basata sull'INDICE OSI (valutando cioè il rapporto tra i due biomarker di stress ossidativo) possiamo affermare che i dieci cicli di ossigeno-ozonoterapia sono necessari al fine di esplicare al meglio i suoi effetti benefici sull'organismo.

Questo risultato è inoltre avvalorato dal fatto che nella maggior parte dei pazienti la tendenza a salire o a scendere si esplica attraverso un andamento sinusoidale, suggerendo appunto che l'ossigeno-ozonoterapia necessita di svariati cicli per poter espletare al meglio il proprio effetto. Quest'ultima interpretazione è principalmente influenzata dai dati del BAP Test e pertanto possiamo affermare che l'ossigeno-ozonoterapia ha effetti positivi sulla barriera antiossidante plasmatica del paziente. Ciò avviene nonostante la sua azione moderatamente ossidante registrata dai valori del d-ROMs Test.

Per un'interpretazione più completa dei dati presentati in questo report sarà opportuno incrociare quanto rilevato con la condizione fisica/clinica dei pazienti sottoposti a terapia.

GLICEMIA E OSSIGENO-OZONOTERAPIA

Premessa

Per l'analisi riportata di seguito sono stati utilizzati i dati di 28 pazienti escludendo, perciò, i pazienti 1, 2, 3 in quanto non avevano dati sufficienti sulla glicemia. I pazienti 5,6,7 nonostante avessero parte di dati incompleti sulla glicemia sono stati comunque selezionati per fini statistici.

I casi totali di glicemia utilizzati per questo studio sono 268 distribuiti su 28 pazienti.

La prima parte del report è focalizzata sull'effetto dell'ossigeno-ozonoterapia sulla glicemia del singolo paziente e come questo parametro si modifica lungo le 10 sedute, considerando perciò solo il dato prima della GAET.

La seconda parte riguarda l'effetto dell'ossigeno-ozonoterapia sulla glicemia, valutando le differenze che questa subisce prima e dopo il trattamento GAET. È stata fatta un'analisi di correlazione tra i due biomarker glicemia e d-ROMs Test. A questo scopo la variabilità per il d-ROMs Test è stata fissata con un margine di scarto del $\pm 5\%$, quella della glicemia è stata fissata con un margine di scarto del $\pm 10\%$ (cioè il dato che non subiva variazioni maggiori del 10% è stato considerato come invariato).

Come range di normalità per la glicemia è stato usato l'intervallo 60-110 mg/dl. Valori superiori o inferiori sono stati considerati patologici o comunque valori alterati.

Andamento della glicemia durante i 10 cicli di terapia

Analizzando solo i dati ottenuti prima della GAET, è stato possibile selezionare 12 pazienti su 28 con almeno 3 casi su 10 con valori di glicemia fuori dal range di normalità.

Di questi 12 pazienti:

- 4 pazienti iniziano le prime sedute con valori normali di glicemia ma manifestano peggioramenti verso gli ultimi cicli di terapia (pazienti 4, 11, 23, 24)
- 4 pazienti iniziano con valori di glicemia alterati ma migliorano fin dai primi cicli di terapia (pazienti 9, 14, 20, 28)
- 4 pazienti iniziano con valori di glicemia alterati che a fine terapia tuttavia restano alterati (pazienti 12, 13, 27, 30)

Con questo numero ridotto di pazienti, con glicemia alterata, non è stato possibile riscontrare un trend statisticamente significativo.

Effetti dell'ossigeno-ozonoterapia sulla glicemia e correlazione con d-ROMs

Test

Analizzando il dato della glicemia prima e subito dopo la GAET è stato notato che su 268 casi totali (distribuiti su 28 pazienti) l'ossigeno-ozonoterapia ha avuto un effetto sulla glicemia in 85 casi, cioè ne ha modificato il valore di oltre il $\pm 10\%$.

Nei 268 casi totali, inoltre, sono presenti 68 casi (distribuiti su 21 pazienti) con glicemia patologica.

Considerando questi valori di glicemia patologici iniziali, l'ossigeno-ozonoterapia ha mostrato un'azione in 48 casi su 68 casi iniziali patologici, un impatto cioè del 70%. Questa azione dell'ossigeno-ozonoterapia sulla glicemia patologica si traduce, in tutti i 48 casi, in una diminuzione della glicemia.

Nei restanti 200 casi su 268 in cui la glicemia di partenza non ha un valore patologico l'ossigeno-ozonoterapia ha mostrato un impatto in soli 37 casi (variazione del dato oltre il $\pm 10\%$).

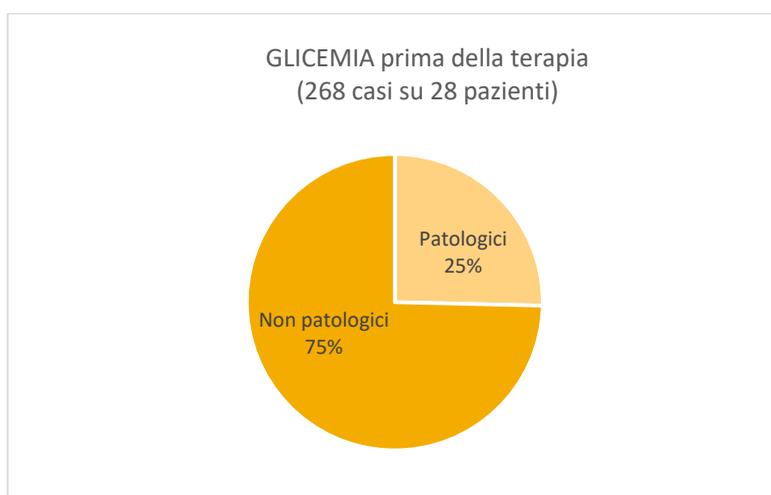


Figura 14 - distribuzione del dato di glicemia fra normale e patologico (prima della seduta)

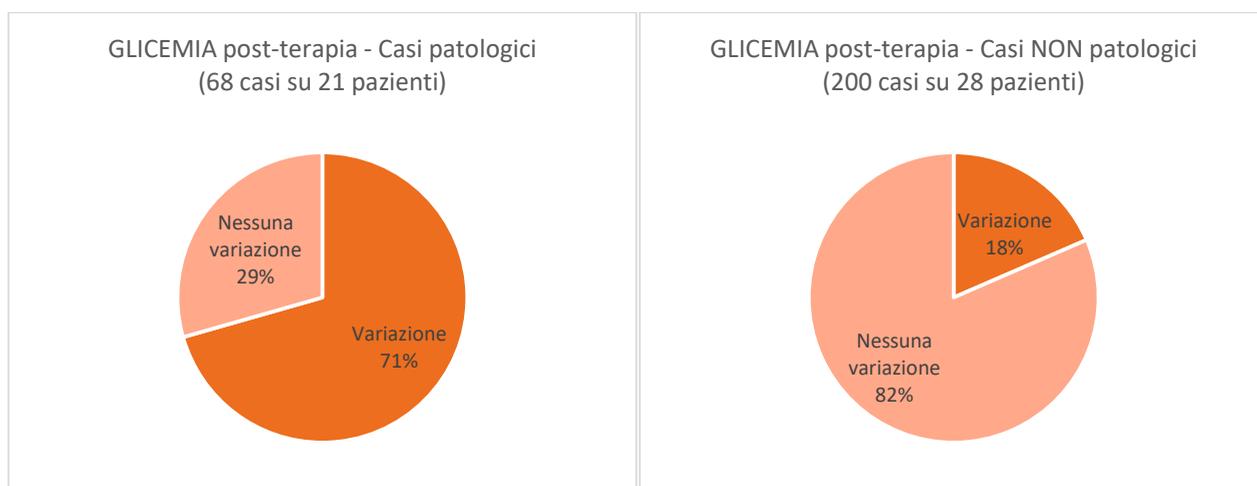


Figura 15 - effetto della terapia sulla glicemia a seconda del dato di partenza

Dei 48 casi in cui la terapia ha un effetto sulla glicemia di partenza patologica (abbassandola) in 32 casi è stata registrata anche la variazione del d-ROMs Test di almeno il $\pm 5\%$. Correlando graficamente i due parametri (glicemia e d-ROMs) notiamo che in 22 casi su 32 l'andamento dei due parametri fra il prima e il dopo la terapia è inverso.

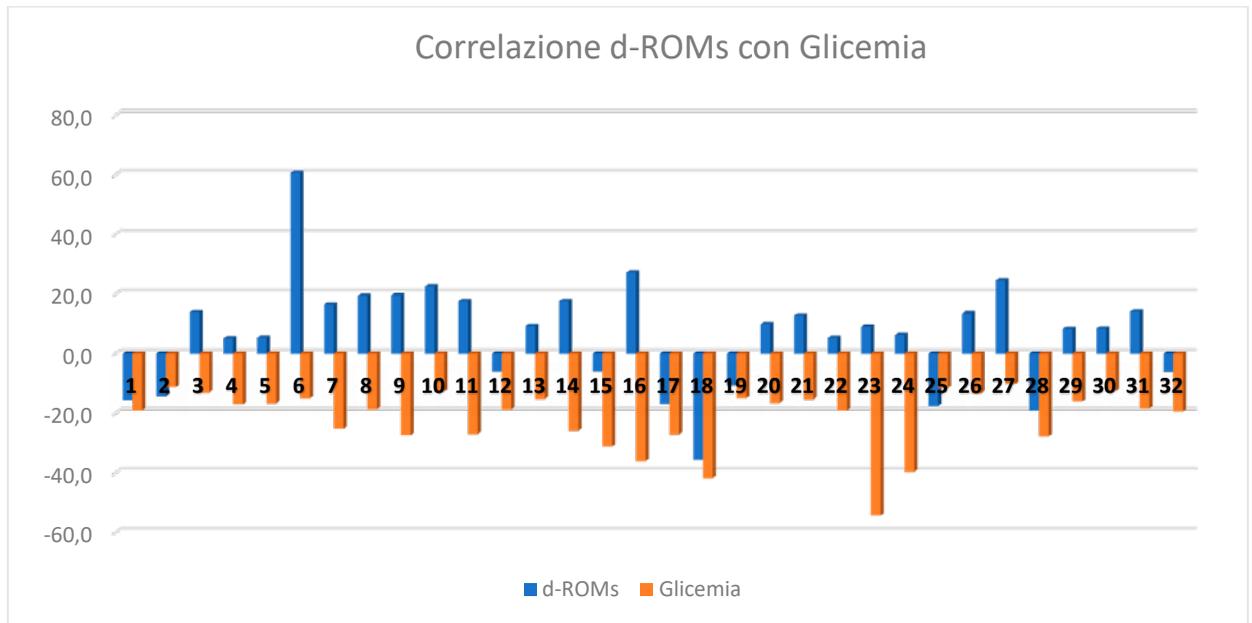


Figura 16 - effetto della terapia sulla glicemia e d-ROMs Test nei casi con glicemia patologica

Ricapitolando: l'ossigeno-ozonoterapia ha un effetto sulla glicemia nel 70% dei casi di una popolazione con glicemia patologica, determinando una diminuzione della glicemia mediamente del 20%. Tale effetto non si esplica con lo stesso impatto sulla popolazione con glicemia non patologica.

Inoltre, la variazione della glicemia (diminuzione) trova una marcata correlazione inversa con l'andamento del d-ROMs Test. Nel 69% dei casi, in cui entrambi i biomarker variano, si ha che il d-ROMs Test aumenta e la glicemia diminuisce.

Effetti biochimici dell'ossigeno-ozonoterapia sulla glicemia

L'ozono è responsabile della riattivazione di processi biologici che collaborano non solo al miglioramento dello stress ossidativo cronico, ma anche all'incremento della secrezione di insulina e alla diminuzione della resistenza all'insulina, in quanto agisce sul metabolismo cellulare ^(12, 13). Questo potrebbe spiegare il motivo per cui si riscontra un valore di glicemia più basso durante trattamento con ossigeno-ozono.

Dai dati ottenuti appare evidente che la diminuzione della glicemia avviene quasi esclusivamente nei casi in cui questo parametro è di partenza patologico (maggiore di 110 mg%). Inoltre nel 69% di questi casi l'andamento del d-ROMs è opposto a quello della glicemia.

Una possibile ipotesi per spiegare questo andamento (considerando la natura chimica ossidante dell'ozono) è quella di attribuire all'ossigeno-ozonoterapia una rapida azione ossidante nei confronti del glucosio circolante. In questo modo, il glucosio ossidato (acido gluconico) assume una struttura chimica non più riconoscibile dall'enzima glucosio ossidasi (GOD) del kit glucometro. Ciò spiegherebbe il perché, alla misurazione successiva, il glucosio circolante risulta diminuito. L'ossigeno-ozono inoculato tende, inoltre, a ossidare anche le principali macromolecole biologiche trasformandole in gruppi *idroperossidi* (composti organici aventi formula generale R-O-O-H) e proprio questo gruppo chimico formatosi può reagire, secondo la reazione di Fenton, e generare radicali liberi, misurabili con il d-ROMs Test.

In questa ipotesi la glicemia non patologica non diminuisce in seguito a trattamento con ossigeno-ozono (nonostante la possibile ossidazione del glucosio) poiché essa viene ripristinata a valori fisiologici dal metabolismo del glucagone.

Ulteriori ipotesi per cui il metabolismo glicemico potrebbe subire modifiche in seguito a ossigeno-ozonoterapia:

- attivazione metabolica con aumentata produzione di ATP. La modifica delle proprietà reologiche del sangue infatti permette una maggiore distribuzione capillare dell'ossigeno nel microcircolo e quindi un aumento del consumo di glucosio;
- differente polimorfismo genetico nella sensibilità all'insulina;
- differente composizione del microbiota intestinale in base al potenziale redox.

SATURAZIONE OSSIGENO VENOSO

La saturazione dell'ossigeno venoso del paziente è stata misurata con Pulse Oximeter MP-OX100-EU

I valori ottimali di saturazione di ossigeno sono definiti tra 95% e 99%, mentre valori compresi tra 90-95% sono da considerarsi scarsi. Valori inferiori a 90% indicano una condizione di ipossiemia.

La misura di questo parametro è stata eseguita subito prima e dopo la seduta con ossigeno-ozonoterapia per tutti e dieci i cicli.

Prima di iniziare la terapia ozonizzante 14 pazienti su 30 mostrano valori inferiori a 95%. A fine terapia, prima di intraprendere l'ultimo ciclo di ossigeno-ozono, l'86% di questi pazienti (12 su 14) ha riportato valori superiori a 96%.

Analizzando i valori ottenuti invece dopo il ciclo di ossigeno-ozono, notiamo che tutti i pazienti a fine terapia mostrano un'ossigenazione maggiore del 97% (tranne il paziente 30 che ha andamento altalenante) e addirittura 24 pazienti su 30 raggiungono un'ossigenazione del 99%. Questo andamento si manifesta già dalla prima seduta di terapia.

21

CONCLUSIONI

In base all'interpretazione dei dati ottenuti dall'indice di **bilancio ossidativo** (d-ROMs e BAP Test) è emerso che per ottenere benefici sull'organismo con ossigeno-ozonoterapia sono necessari almeno dieci cicli di trattamento. Questa evidenza è principalmente influenzata dai dati del BAP Test, in quanto ha registrato effetti positivi sulla barriera antiossidante plasmatica del paziente, nonostante l'azione moderatamente ossidante, e necessaria, dell'ozono evidenziata dai valori del d-ROMs Test.

L'ozono è responsabile della riattivazione di processi biologici che collaborano non solo al miglioramento dello stress ossidativo cronico ma anche al miglioramento del **metabolismo glicemico** del paziente. I dati ottenuti, prima e dopo trattamento, hanno mostrato un evidente miglioramento nella concentrazione di glucosio circolante.

Infine, anche la **saturazione periferica di ossigeno** ha mostrato un andamento a migliorare durante la terapia ossigeno-ozono. Il mantenimento della PO_2 a 99%, dopo 30 giorni dall'ultima seduta della GAET, può trovare logica spiegazione nell'incremento della massa eritrocitaria, con conseguente aumento della capacità di trasporto di O_2 da parte dell'EME.

BIBLIOGRAFIA

1. Alberti A. et al; *The radical cation of N, N-diethyl-para-phenylendiamine: A possible indicator of oxidative stress in biological samples*, «Res. Chem. Intermed», 2000; 26 (3), 253-267.
2. Jansen E. et al; *Long-term stability of cancer biomarkers in human serum: biomarkers of oxidative stress and redox status, homocysteine, CRP and the enzymes ALT and GGT*, «Biomark Med», 2015; 9(5), 425-432.
3. Cesarone MR. et al; *A simple Test to monitor oxidative stress*, «International Angiology», 1999; 18 (2), 127-130.
4. Gerardi GM. et al; *Plasma total antioxidant capacity in hemodialyzed patients and its relationships to other biomarkers of oxidative stress and lipid peroxidation*, «Clin. Chem. Lab Med», 2002, 40 (2), 104-110.
5. Jansen E. et al; *Serum Biomarkers of (Anti)Oxidant Status for Epidemiological Studies*, «Int J Mol Sci.», 2015; 16(11), 27378-27390.
6. Jansen EH. et al., *Long-term stability of oxidative stress biomarkers in human serum*, «Free Radic Res.», 2017; 51(11-12), 970-977.
7. Borrelli E. et al; *Disc Herniation and Knee Arthritis as Chronic Oxidative Stress Diseases: The Therapeutic Role of Oxygen Ozone Therapy*, «Journal of Arthritis» 2015.
8. Suzuki T. et al; *Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses*, «J Vet Med Sci» 2016 Jan; 77(12):1647-50.
9. Smith L. et al; *Ozone therapy: an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility*, «MedGasRes» 2017; 7(3).
10. Smith L. et al; *Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders*, «MedGasRes» 2018; 8(3):103-110.
11. Takahashi M. et al; *Effects of Curcumin Supplementation on Exercise-Induced Oxidative Stress in Humans*, «Int J Sports Med» 2014; 35(6):469-75.
12. Martínez-Sánchez G. et al; *Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot*, «Eur J Pharmacol», 2005 Oct 31;523(1-3):151-61.
13. Al-Dalain SM. et al; *Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats*, «Pharmacol Res» 2001 Nov; 44(5):391-6.