



Revisión WFOT sobre Ozonoterapia Basada en Evidencias

(Versión 1 oficial en Español del documento
WFOT's Review on Evidence Based Ozone Therapy)

Comité Científico Asesor de la WFOT - 2015

© World Federation of Ozone Therapy - WFOT, 2015

Ninguna parte de este documento puede reproducirse, ser guardado o transmitido de ningún modo o por ningún medio electrónico, mecánico, fotocopia, microfilmado o grabado de ninguna manera, sin permiso escrito de la WFOT.

Índice

Prefacio	3
Autores y reconocimientos	4
Introducción	5
Capítulo 1	7
Propiedades físico-químicas del ozono. Producción natural del ozono y su toxicidad.	7
Conclusiones	8
Capítulo 2	9
Generación de ozono médico	9
Capítulo 3	9
Preparación de agua y aceite ozonizados.....	9
Capítulo 4	10
Farmacología y toxicidad del ozono.	10
4.1 Peróxido de hidrógeno y LOPs como mensajeros biológicos del ozono.....	14
4.2 Algunas consideraciones acerca del estrés oxidativo natural e inducido por terapias oxidantes. Bases racionales para una dosificación de ozonoterapia eficaz.....	19
4.3 Conclusiones.....	24
Capítulo 5	25
Vías de administración del ozono.....	25
5.1 Conclusiones	29
Capítulo 6	29
Las tres modalidades terapéuticas sistémicas.	29
6.1 Autohemoterapia mayor ozonizada (MO-AHT)	29
6.2 Autohemoterapia ozonizada menor.	32
6.3 Insuflación rectal con Oxígeno-Ozono (IR).....	32
Capítulo 7	36
Potenciales efectos adversos y contraindicaciones de la ozonoterapia.	36
7.1 Ozonoterapia y Tratamientos Convencionales.	40
7.1.1 Contraindicaciones para la Ozonoterapia.....	40
Capítulo 8	41
¿Es el Ozono Realmente una “Droga Milagrosa”?.....	41
Capítulo 9	49
Las aplicaciones clínicas de la ozonoterapia.	49
Referencias	51

Prefacio

Después de haber sido elegido Presidente de la WFOT en octubre de 2014, una de mis mayores preocupaciones fue establecer un documento público sobre la ozonoterapia basada en la evidencia, que recogiera y organizara toda la información científica sobre esta terapia.

Varios libros del profesor Velio Bocci, la Dra. Silvia Menéndez y la Dra. Renate Viebhan, han establecido las bases científicas. Un reciente libro de la Dra. Emma Borrelli llegó a mis manos hace un par de meses, centrado en la autohemoterapia ozonizada.

Como presidente de la Sociedad Española de Ozonoterapia - SEOT había estado preparando durante los últimos tres años un documento exhaustivo que se envió a la AEMPS (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) con el fin de iniciar un proceso de regulación de la ozonoterapia en España y en la Unión Europea. Los autores de este texto se reconocen al comienzo de este documento.

La primera tarea que confié al Comité Científico Asesor de la WFOT fue desarrollar un texto basado en la evidencia real sobre Ozonoterapia, utilizando este documento de SEOT como un punto de inicio. Se han realizado varias modificaciones y mejoras a este documento, con el fin de crear un texto de referencia actualizado en todo el mundo. El Dr. Lamberto Re, Director del Comité Científico ha escrito la introducción de este documento.

Espero que con esto hayamos contribuido, al menos en parte, a una mejor comprensión de la esta terapia, para que nuestros colegas la puedan emplear adecuadamente, siguiendo lo conceptos más correctos..

*Prof. José Baeza Noci, M.D., Ph.D.
WFOT President*

Autores y reconocimientos

Para partir de una base sólida, hemos empelado el texto enviado a la AEMPS (Agencia Española de Medicamento y Producto Sanitario) por la SEOT (Sociedad Española de Ozonoterapia) para regular el uso del ozono en España. Este documento fue preparado tomando como base el libro del Profesor Velio Bocci de la Universidad de Siena (Italia), con su permiso expreso, titulado “Ozono, un nuevo medicamento” - Editorial Springer – New York, 2011. Se han consensuado con dicho autor los capítulos fundamentales para tener una aproximación completa y científica al uso médico del ozono.

El contenido de dichos capítulos se ha revisado, modificado y ampliado por:

- Dr. José Baeza Noci. Cirugía Ortopédica y Traumatología. Profesor Asociado de Anatomía Humana de la Universidad de Valencia. Presidente de la Sociedad Española de Ozonoterapia.

- Dr. José Ricardo Cabo Soler. Endocrinología y Nutrición. Catedrático Emérito de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Valencia. Secretario de la Sociedad Española de Ozonoterapia.

- Dr. Manuel Gómez Moraleda. Doctor en Química e Investigador Titular. Ex-director del Centro de Investigaciones del Ozono (perteneciente al CNIC), La Habana, Cuba. Miembro del Comité Científico Consultivo de la WFOT.

- Dra. Silvia Menéndez Cepero. Doctora en Química, Investigadora Titular y Biotecnóloga de Primer Nivel. Ex-directora de la Clínica Internacional del Centro de Investigaciones del Ozono (perteneciene al CNIC), La Habana, Cuba. Miembro del Comité Científico Consultivo de la WFOT.

- Dr Lamberto Re. Especialista en Farmacología Clínica y Toxicología. Profesor - investigador de la Facultad de Medicina de la Universidad de Ancona. Italia. Presidente de la Federación Italiana de Ozonoterapia. Director del Comité Científico Consultivo de la WFOT.

Introducción

A la luz del creciente interés acerca de la terapia con ozono, es nuestra intención actualizar - tanto desde un punto de vista científico como clínico - sus aplicaciones en el campo de la medicina humana.

En nuestra opinión, es hora de que la opinión pública y los profesionales de la salud amplíen sus horizontes con la terapia de ozono y su gran potencial, al menos como apoyo complementario o integrativo a los tratamientos convencionales.

De hecho, la terapia de ozono, además de ser útil en numerosos estados patológicos podría ser un recurso terapéutico de gran alcance para prevenir los daños del envejecimiento y mejorar muchas funciones en nuestro cuerpo.

Nuestra convicción científica de que la molécula de ozono, un oxidante fuerte, pero muy selectivo, podría inducir beneficios en diversas dolencias cuando se usa en dosis adecuadas se consideraba una teoría no convencional. Ahora estamos muy satisfechos de observar cómo este concepto está finalmente ganando una importante credibilidad científica.

De todos modos, evitando hacer hincapié en los usos anecdóticos y mirando a los amplios usos clínicos de las últimas décadas, pensamos que una reevaluación crítica positiva de la ozonoterapia no se puede retrasar más.

Es también hora de que el dogma de la toxicidad del ozono sea finalmente aclarado y reconocidas sus aplicaciones seguras bien demostradas.

Aunque la ozonoterapia no está exenta de posibles efectos secundarios, - en su mayor parte debidos a mala praxis por mala formación y/o desconocimiento - teniendo en cuenta su creciente difusión, estos son insignificantes en comparación con los inherentes a muchas otras técnicas y medicamentos de aceptación universal.

Reconocemos que un escepticismo desconcertante persiste todavía entre muchas autoridades académicas y oficiales, principalmente debido a los prejuicios y la falta de más estudios farmacológicos y clínicos controlados. En nuestra opinión, esto no justifica tan fuerte oposición a la ozonoterapia, sino por el contrario, debería animarlos a ayudar a la organización de este tipo de estudios, teniendo en cuenta que la ozonoterapia no es apoyada por la industria farmacéutica y que ésta puede contribuir a mejorar la condición de salud de la población a costos mucho menores que otras drogas.

Eso es cierto, a diferencia de cualquier droga comercializada actuando con mecanismo preciso y estadísticamente definido de acuerdo con la ley de acción de masas, el ozono actúa como una droga pro activadora de una miríada de eventos celulares, muchos de ellos bien aclarados en la actualidad.

Estas acciones no son fácilmente relacionables con una actividad clínica particular y, por tanto, son difíciles de ensayar. Esto significa que todavía no tenemos un buen enfoque metodológico que ayuda al investigador en la evaluación y la normalización de la eficacia clínica de la ozonoterapia.

Sin embargo, una vez más, creemos firmemente que este hecho por sí solo no podría representar una razón válida para bloquear cualquier avance en el objetivo de mirar un poco más allá de nuestros conocimientos actuales

Podemos estar de acuerdo en parte con la Autoridad de Salud respecto a la dificultad para evaluar cómo cada profesional utilizando la terapia de ozono podrían preparar y administrar su "droga" a raíz de la mejor buena práctica clínica. De hecho, debido a la falta de reglamentos o disposiciones de la ley, la mayoría de los terapeutas de ozono se les permite trabajar con muy escaso control de su formación en esta terapia.

Hasta ahora la mayoría de los datos clínicos sobre el tratamiento de ozono fueron claramente definidos desde un punto de vista científico sólo en el caso del dolor y la hernia de disco.

A pesar de estas condiciones, los efectos positivos inducidos por dosis adecuadas de ozono se observan comúnmente en pacientes que sufren de enfermedades raras o degenerativas. Sin embargo, el escaso conocimiento de su potencial terapéutico por la mayoría de los médicos hace difícil o incluso imposible una amplia cooperación entre las diversas especialidades con el objetivo de producir evidencia estadística de la respuesta clínica a esta terapia.

El ozono, al igual que algunos otros agentes y a diferencia de los medicamentos comunes que actúan sobre un receptor específico, induce un pequeño y controlado estrés en toda la célula cuando se usa en dosis adecuadas. Esto, a su vez, desencadena una serie de procesos metabólicos intracelulares y promueve una miríada de actividades que estimulan muchos mecanismos celulares. Como consecuencia de estas reacciones, los mecanismos de defensa de la célula son alertados, mejorando su funcionalidad. Esto explica parcialmente las acciones terapéuticas sorprendentes de este gas.

Como se puede ver, no es fácil de describir completamente las amplias aplicaciones clínicas de un agente tan diferente de los medicamentos comunes.

Esta es la razón por la cual la WFOT ha decidido proponer un documento revisado acerca de la literatura científica relacionada con la ozonoterapia.

Esperamos que este documento, que está destinado principalmente a los profesionales de la salud que utilizan el ozono y que quieran perfeccionar sus técnicas e informarse acerca de las bases científicas que soportan los usos clínicos de la ozonoterapia, podría ser igualmente útil a las autoridades sanitarias como línea guía y resumen de las más recientes investigaciones publicadas en el mundo.

Capítulo 1

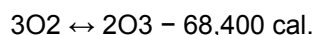
Propiedades físico-químicas del ozono. Producción natural del ozono y su toxicidad.

El ozono (en griego, quiere decir que emana un olor) es una molécula natural e inestable. El gas puro tiene un color azul cielo y un olor acre. La molécula está compuesta de tres átomos de Oxígeno (O₃) y el peso molecular, comparado con la molécula di-atómica de oxígeno (32,00) es de 48,00. El Ozono tiene una estructura cíclica con una distancia entre los átomos de oxígeno de 1,26 Å y existe en diversos estados mesoméricos en equilibrio dinámico. Para el médico es útil conocer que la solubilidad (ml) en 100 ml de agua (a 0°C) de ambos ozono y oxígeno es de 49,0 ml y 4,89 (diez veces menor), respectivamente. Consecuentemente, la gran solubilidad de ozono en agua permite la reacción inmediata con cualquier compuesto y biomolécula soluble presente en los fluidos biológicos. Cualquier traza de polímeros de oxígeno (O₄) o polímeros de ozono (O₆ y O₉) pueden ser creados, pero la idea de que los polímeros/grupos puedan tener un rol terapéutica es meramente especulativa (Cacace et al., 2001; Murai et al., 2003).

Se cree que durante la generación del ozono, una traza de oxígeno singulete (1O₂) puede formarse, siendo la significación práctica, desdeñable.

Entre los agentes oxidantes, el ozono es el tercer más potente, tras el flúor y el persulfato, un hecho que explica su alta reactividad.

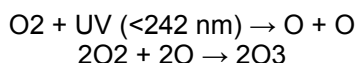
El ozono está formado por oxígeno puro vía un proceso endotérmico que requiere gradientes de alto voltaje entre los electrodos del tubo Siemens:



La reacción es reversible, por tanto el ozono se descompone espontáneamente y es por ello que no se puede almacenar. Además, la vida media de la molécula de ozono depende de la temperatura, por lo que a 20° C la concentración de ozono es la mitad en 40 min., a 30° C en 25 min., mientras que a -50° C es la mitad después de tres meses.

En la estratosfera, sobre aproximadamente 22 km de la superficie de la tierra, hay una capa de ozono que puede alcanzar una concentración máxima de 10 ppmv (partes por millón por volumen). El mantenimiento de la capa de ozono es muy importante, pues absorbe la mayor parte de la radiación (<290 nm) ultravioleta (UV) emitido por el sol. En los rayos UV se incluye la banda A (316-400 nm) responsable del bronceado cutáneo y las bandas B y C (desde 100 hasta 315 nm), que son mucho más mutagénicas y responsables de la aceleración del envejecimiento de la piel y la carcinogénesis, como se ha ido demostrando últimamente por el aumento progresivo de carcinomas y melanomas.

La naturaleza ha sido previsor, gracias a las cianobacterias, tan pronto como la concentración de oxígeno comenzó a aumentar en la atmósfera terrestre hace aproximadamente 2,3 billones de años, la emisión UV solar catalizaba la producción de ozono (mecanismo de Chapman), que entonces podía controlar la radiación UV y proteger los sistemas biológicos de la tierra:



La capa protectora de ozono en la estratosfera es bastante constante, como resultado de un equilibrio dinámico entre la reacción formadora de ozono y la disociación natural de ozono. Este equilibrio ha sido subvertido durante el último siglo debido a un aumento progresivo de sustancias contaminantes, principalmente óxidos nitrosos (NO_x) y cloro derivado de los clorofluorocarbonos (CFCs) usados en fluidos refrigerantes incautamente dispersados en el medio ambiente. Un único átomo de cloro, a través de un mecanismo de reacción catalítica descubierto por Molina y Rowland (1974), puede destruir miles de moléculas de ozono, antes

de volver a la troposfera.

Una vez más, las actividades caóticas humanas (procesos industriales, tráfico de vehículos, etc.) han llevado a un daño ambiental por la contaminación del aire presente en la troposfera, que se extiende entre 8-17 km de la superficie de la tierra. Las emisiones antropogénicas exageradas del monóxido de nitrógeno (NO) y la variante dióxida (NO₂), de monóxido de carbono (CO), de metano (CH₄), ácido sulfúrico y otros compuestos ácidos han favorecido el aumento casi intolerable de la concentración de ozono de hasta 0.3 µg/l o más. En las metrópolis grandes, el ozono, mezclado con otras sustancias, componen el smog fotoquímico: éste se ha convertido en el principal elemento tóxico para los pulmones, ojos, nariz y, en menor medida, para la piel, siendo especialmente nociva para la mucosa respiratoria, al no contener suficientes sustancias neutralizantes para esta mezcla ácida nociva. Sin duda, los fluidos de revestimiento del tracto respiratorio (FRTRs), que en total pueden ser sólo entre 20 y 40 ml dispersos en una capa de película acuosa sobre el espacio alveolar de aproximadamente 70 m² es fácilmente anulado por esta mezcla de agentes oxidantes fuertes. Particularmente niños, asmáticos y otros pacientes bronco-pulmonares están en riesgo y la “toxicomanía” del ozono por vía respiratoria está bien justificada (Devlin et al., 1991; Aris et al., 1993; Broeckert et al., 1999; Jerrett et al., 2009). Ciertamente la toxicidad del ozono a nivel de calle ha contribuido a apoyar el dogma de que el ozono es siempre tóxico y es por ello que uno puede preguntarse por qué el ozono puede usarse como agente terapéutico. Toxicólogos y Autoridades Sanitarias están al corriente de este problema, que es claramente debido no sólo al ozono y no debería conducir a la idea de que el ozono es “siempre tóxico”.

La molécula de ozono es sintetizada también in vivo por algunas células de nuestro organismo. Las investigaciones sobre leucocitos humanos activados que producen ozono en determinadas circunstancias (Babior et al., 2003; Nieva y Wentworth, 2004) pueden ser importantes para comprender su utilidad en situaciones fisiológicas y patológicas.

Se conocen otras tres moléculas gaseosas, principalmente CO, NO y H₂S (Moncada, 1992; Verma et al., 1993; Pannen et al., 1998; Nakao et al., 2009a, b), que, como el ozono, puede comportarse sorprendentemente a dosis fisiológicas como efectores esenciales y convertirse en tóxicos a altas concentraciones. En otras palabras, el concepto válido para cualquier molécula es que es la dosis correcta la que diferencia entre un agente terapéutico o tóxico.

Por tanto, por la seguridad de los pacientes y de los profesionales sanitarios, debe controlarse que la concentración ambiental de ozono no exceda de los límites establecidos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) permite trabajar durante 8 h cuando la concentración de ozono es de 0.06 ppm, que es, desde mucho antes, percibido como un olor fuerte a ozono (0.01 ppm ~ 0.000002 µg/ml). Esto es una ventaja, porque nos advierte anticipadamente de las fugas, aunque no hace falta decir que no deberíamos fiarnos solo de nuestra nariz, dado que los receptores olfativos se vuelven tolerantes y, en cualquier caso, el aire en las clínicas debería estar controlado en cuanto al nivel de ozono.

Desafortunadamente, confunde el hecho que las concentraciones de ozono sean reportados tanto en ppmv como en µg/ml en USA o Europa, respectivamente. La conversión es la siguiente:

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

Conclusiones.

El ozono es una molécula natural, muy reactiva y gaseosa producida por una descarga eléctrica y/o radiación UV, sólo o con NO_x. Es notable que incluso leucocitos activados generan ozono in vivo. Puede ser protector o dañino dependiendo de la concentración y localización. Hoy en día, el uso de ozono para aplicaciones industriales y

desinfección de agua ha recibido un amplio consenso, mientras que su uso medicinal sigue siendo controvertido porque muchos científicos médicos se muestran aún escépticos y no se han interesado en aprender ni entender la utilidad del ozono.

Capítulo 2

Generación de ozono médico.

El ozono médico debe ser producido utilizando oxígeno medicinal con un generador atóxico, en el cual todos los materiales en contacto con el ozono sean inertes al mismo, fiable, y que permita mediciones precisas y reproducibles de las concentraciones de ozono (1-80 µg/ml) a través de un dispositivo adecuado. El ozono médico es una mezcla de ozono en oxígeno, en el rango de concentraciones de aproximadamente 0,5 a 5 % de ozono. La dosis total de ozono es equivalente al volumen del gas (ml) multiplicado por la concentración de ozono (µg/ml). En la Unión Europea, los generadores de ozono son considerados productos sanitarios con la calificación II-b y deben estar registrados en el organismo notificado de referencia para el fabricante. Para diferentes aplicaciones médicas, el médico debe conocer las dosis de ozono óptimas, las cuales se tratarán en el Capítulo 9.

Capítulo 3

Preparación de agua y aceite ozonizados.

La ozonización de agua bidestilada y aceites vegetales se realiza burbujeando en ellos una mezcla de gases (O₂ – O₃). En el caso del agua, bastan unos 5 minutos para 2 ó 3 litros, mientras que para 100 gramos de aceite vegetal podrían necesitarse varias horas, si se emplease un aparato médico de ozonoterapia. Debe tenerse en cuenta que muchos de los ozónidos que se forman en los aceites vegetales tienen carácter explosivo y por ello conllevan un peligro potencial; por esta razón no es aconsejable que se realice por personas inexpertas. Es por ello que el aceite ozonizado se produce principalmente en laboratorios semi-industriales con medidas de seguridad y personal adecuados.

El aire no debe ser usado para generar ozono médico porque puede causar la generación de compuestos tóxicos del nitrógeno. La concentración de ozono en agua pura, debido al ozono solubilizado, corresponde a aproximadamente 25% de la concentración de ozono en el gas utilizado, a temperatura ambiente, que es suficiente para una desinfección óptima. Un gramo de aceite puede absorber más de 160 mg de ozono. Mientras que el agua ozonizada es eficiente durante 1 día, conservada en frío, el aceite se mantiene estable durante 2 años, si se conserva en frío. Ambos actúan como potentes desinfectantes y aceleran la curación mediante la estimulación de la proliferación celular. Cuando la comunidad médica aprecie su eficacia, ambos, el agua como el aceite ozonizados, podrían ser herramientas indispensables en unidades de cuidado para heridas crónicas. Actualmente existen en las farmacias europeas productos como el Azexin – aceite de girasol ozonizado – registrado en la EMEA como producto sanitario con la indicación de tratamiento de úlceras cutáneas.

Los problemas de la desinfección de agua potable y la prevención de infecciones nosocomiales han pasado a ser de importancia primaria porque su curación determina la vida o la muerte de muchas personas. Comparado con el cloro, la versatilidad y eficacia de ozono es aún desconocida. Debido a que el cloro tiene características organolépticas insatisfactorias, está siendo sustituido progresivamente por ozono, gracias en parte a las recomendaciones de la OMS en este sentido. El ozono es un desinfectante de agua potable más potente que el cloro, pudiendo inactivar varios patógenos humanos, por ejemplo, 63 bacterias diferentes (Salmonella, Shigella, Vibrio, Campylobacter jejuni, Yersinia enterocolitica, Legionella, etc.), diversas

variedades de levaduras y hasta 13 hongos patógenos (*Alternaria*, *Monilinia*, *Rhizopus*, etc.). Más recientemente, debido a la contaminación de aguas subterráneas por materia fecal, el problema de la desinfección se ha vuelto más complejo, pues protozoos enquistados, como la *Giardia lamblia*, ooquistes de *Cryptosporidium parvum* o huevos helmínticos (*Ascaris suum* y *Ascaris lumbricoides*), requieren mucho más contacto con el ozono que las bacterias y los virus. Cada año, el *Cryptosporidium* causa brotes de enfermedades que pueden ser fatales para pacientes ancianos o muy enfermos (SIDA).

Otro aspecto en la prevención de brotes de infecciones intestinales es la posibilidad de usar el ozono como agente antimicrobiano en contacto directo con alimentos y frutas. El 26 de junio de 2001, la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) aprobó formalmente el uso de ozono, en fases gaseosa y acuosa, como agente antimicrobiano para el tratamiento, almacenamiento y procesamiento de alimentos (Rice, 2001). Debe destacarse que, aparte de la desinfección de agua potable, el uso de ozono puede mejorar las características organolépticas. De hecho, mejora los procesos de coagulación y floculación, oxida componentes con mal sabor y olor (así como el hierro y el manganeso), mejora la extracción de partículas en filtros y a través de carbono bioactivado granular. La eficacia del ozono ha sido validado por más de 3.000 plantas de tratamiento de agua municipal en todo el mundo (incluyendo España).

Capítulo 4

Farmacología y toxicidad del ozono.

Este es uno de los capítulos más importantes porque creemos que, si el médico conoce cómo actúa el ozono con los fluidos y células corporales, puede alcanzar resultados terapéuticos útiles. La administración de ozono causa que ciertas reacciones bioquímicas tengan lugar en el paciente, y ello es parte esencial en el proceso.

El ozono, el oxígeno triatómico, sintetizado en la estratosfera nos protege de la excesiva radiación UV, y puede ser producido con precisión por un generador médico, pero depende de nosotros que lo usemos como un fármaco o no. El ozono es uno de los oxidantes más potentes; el tercero en la escala química, y hemos de aprender a usarlo. El objetivo de este capítulo es definir su coeficiente terapéutico, o en palabras más simples, distinguir la dosis terapéutica de la tóxica.

A pesar de que el oxígeno representa la mayoría (95-99%) de la mezcla del ozono médico, tiene un rol insignificante sobre los parámetros de la sangre ozonizada, ya que en condiciones in vitro el proceso de intercambio de oxígeno con la hemoglobina es muy lento y en el plasma solo se transporta menos del 1% del oxígeno contenido en la sangre.

Aunque, sólo debido al oxígeno podemos sobrevivir, este gas tiene un efecto negativo a largo plazo porque la respiración celular crea especies reactivas de oxígeno (ERO), entre otros, el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), que es uno de los compuestos radicales más destructivos para las enzimas y el ADN. Halliwell (1994) calculó que, incluso en reposo, el ser humano produce aproximadamente 5 g del anión superóxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) que es el padre de varias moléculas radicálicas. El anión superóxido es fisiológicamente producido por las mitocondrias, desde el Complejo I y II (Kowaltowski et al., 2009), pero otros ERO, como el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso y óxido nítrico son continuamente generados por varias oxidasas y mieloperoxidasas, que en trazas, tienen un papel defensivo crucial frente a patógenos. Por otro lado, la mayoría de la gente sabe que el envejecimiento y los trastornos metabólicos (aterosclerosis, diabetes, degeneración celular) pueden empeorar por una excesiva producción de ERO y, solo en parte, podemos prevenir sus efectos dañinos. Irónicamente, incluso una falta parcial de oxígeno (hipoxia), observable en enfermedades vasculares isquémicas, representa una causa de muerte por isquemia de extremidades, infarto cardíaco y cerebral. Además, la hipoxia promueve la metástasis neoplásica y ello conlleva ulteriormente la muerte.

En comparación a otras terapias basadas en postulaciones filosóficas o hipótesis no verificables, la característica positiva de la ozonoterapia es que puede comprobarse mediante investigaciones científicas objetivas con métodos bioquímicos, farmacológicos y clínicos estandarizados. Ha sido desafortunado durante varias décadas, pues el empirismo y la falta de estudios básicos han retrasado el entendimiento de los mecanismos de acción. Una buena dosis de prejuicios y el dogma inconsistente de que el “ozono es siempre tóxico” son responsables de la fuerte oposición de la medicina convencional al uso de la ozonoterapia que formaba parte del arsenal terapéutico de la misma hasta los años 40.

Actualmente nuestro deber es tratar de demostrar esquemáticamente que el ozono obedece perfectamente a las nociones físicas, químicas, fisiológicas y farmacológicas, aparte de que las actividades que modulan las funciones celulares son conocidas.

Primeramente, el ozono, como cualquier otro gas, se disuelve inmediatamente en agua tanto en plasma (la parte líquida de la sangre), en fluidos extracelulares así como en la fina capa de agua que cubre la piel y, particularmente, en las mucosas del tracto respiratorio, de la garganta, vagina, etc. A temperatura normal y presión atmosférica, debido a la alta solubilidad y dependiendo de la presión relativa, el ozono se disuelve en el agua del organismo, pero, a diferencia del oxígeno, NO SE EQUILIBRA con el ozono remanente en fase gaseosa. Esto ocurre porque el ozono, con su altísima afinidad por los dobles enlaces carbono-carbono y siendo un oxidante potente, REACCIONA INMEDIATAMENTE con ciertas biomoléculas presentes en fluidos biológicos, preferentemente ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs en inglés), unidos a la albúmina y presentes en la inmensa mayoría de lípidos y fosfolípidos, así como con antioxidantes (Tabla 4.2), proteínas, carbohidratos, etc. De hecho, los fosfolípidos y el colesterol presente en membranas celulares y/o lipoproteínas están protegidos por antioxidantes y moléculas de albúmina ricas en PUFAs (Bocci y Di Paolo, 2009, Travagli et al., 2010b).

La reacción de ozono con tantas moléculas implica varios procesos fundamentales que tienen lugar al mismo tiempo. La mayor parte se consume en una reacción de “adición a los dobles enlaces carbono-carbono de los ácidos grasos insaturados”, conocida como “Reacción de Criegee” y que es de las reacciones químicas moleculares más rápidas de la naturaleza (velocidades de millones de moles/l por segundo), que está muy bien descrita. Esta reacción, cuyo primer producto se denomina “ozónido primario”, en condiciones fisiológicas hidrofílicas, con presencia abundante de agua, produce la ruptura y reordenación inmediata de sus fragmentos, dando como resultado final, en presencia abundante de agua (como es el caso del ambiente fisiológico), básicamente aldehídos y un tipo particular de α -hidroxi-hidroperóxido de diferentes estructuras, en dependencia de los ácidos grasos de partida (Figura 4.1).

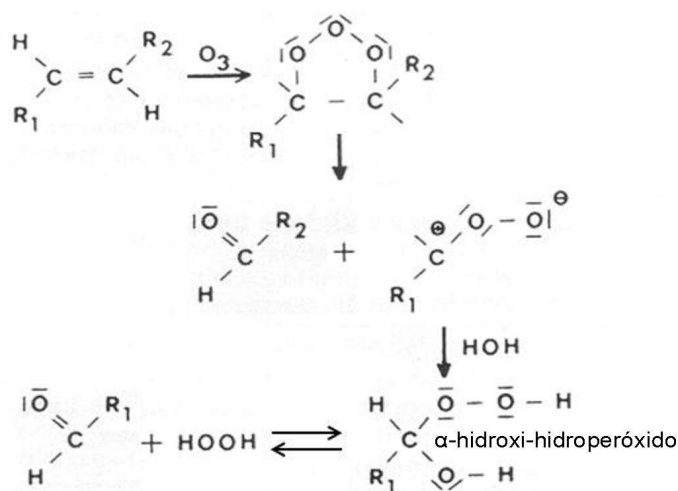


Fig. 4.1.

Es importante destacar que este tipo particular de α -hidroxi-hidroperóxido, situado en

el carbono terminal de la cadena lipídica, y con un grupo OH en el mismo, poseen un carácter oxidante mucho menor que los peróxidos clásicos, y a diferencia de estos últimos, no suelen generar radicales libres. Puede descomponerse en pequeña proporción, en peróxido de hidrógeno y el aldehído correspondiente, con los cuales establece un equilibrio.

Parte de los ozonidos primarios pueden dar lugar también, en menor grado, a una reacción paralela, con la formación directa de aldehídos y peróxido de hidrógeno. (Figura 4.2).

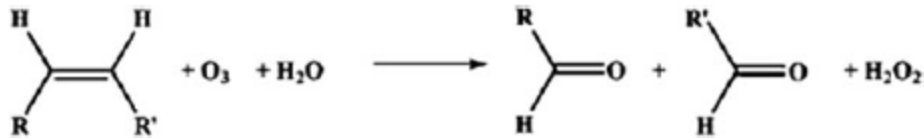


Fig. 4.2.

Estas reacciones, por ser molécula a molécula, se terminan rápidamente, con el agotamiento del ozono suministrado, por lo cual, el estrés oxidativo que produce es bien controlable. Esta es una diferencia crucial con la reacción comúnmente conocida en bioquímica como "PEROXIDACIÓN LIPÍDICA", que es una reacción preferentemente por vía radicalica (más rápida aún), y que una vez iniciada, puede propagarse muy rápida y extensamente y oxidar un enorme número de moléculas lipídicas y de muchos otros tipos incontroladamente.

Estas reacciones del ozono, completadas en segundos, usando una dosis "determinada" de ozono, generan solamente una cantidad "determinada" de α -hidroxi-hidroperóxidos, aldehídos y peróxido de hidrógeno (H_2O_2), similares a los conocidos como PRODUCTOS DE OXIDACIÓN LIPÍDICA (LOPs en inglés).

Bocci (2002) ha medido la producción de ambas sustancias en plasma, LOPs y H_2O_2 , tras la administración de ozono (Figura 4.3). Sin embargo, medir la producción de H_2O_2 en sangre completa tras la administración de ozono es muy complicada, ya que el H_2O_2 es rápidamente capturado por los eritrocitos y tras una mezcla de 1 minuto de ozono y sangre, ningún rastro de H_2O_2 puede ser detectado. Afortunadamente, algunos estudios (Bocci et al, 1993b; Shinriki et al., 1998) han confirmado una disminución del GSH intraeritrocitario de estas muestras de sangre ozonizada, directamente proporcional a la cantidad de ozono, confirmando el hecho de que el H_2O_2 es capturado, principalmente, por los eritrocitos (Figura 4.4). Esta disminución de GSH se recupera completamente tras 20-30 minutos gracias a la síntesis de nueva GSH en el citosol de los eritrocitos.

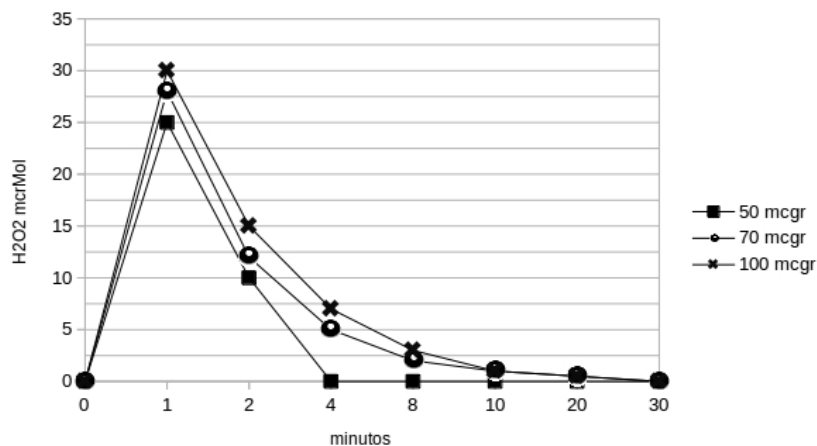


Fig. 4.3. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) producido por distintas cantidades de ozono disuelto en plasma es neutralizado por las sustancias antioxidantes del mismo en pocos minutos (Bocci, 2002).

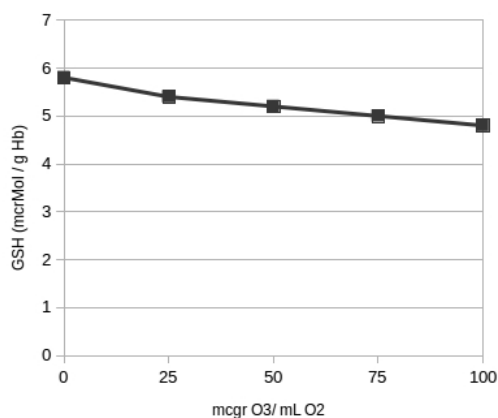


Fig. 4.4. Tras 1 minuto de mezclar ozono con sangre completa, hay una disminución de la GSG intraeritrocitaria, que tiene gran afinidad por el H2O2. A 100 µg/mL la disminución es de sólo un 17%. Este descenso es recuperado en menos de 30 minutos. (Shirinki et al., 1998)

Una pequeña parte de la dosis de ozono también se consume, inevitablemente, en la oxidación de otras sustancias antioxidantes presentes, como el ácido ascórbico y ácidos úricos, grupos sulfidrido (SH-) del GSH, proteínas y glicoproteínas presentes en el agua del plasma, que suelen reciclarse rápidamente a su forma reducida. La cantidad de estas sustancias antioxidantes varía mucho de un tejido a otro, lo que justifica que las concentraciones de ozono que se pueden utilizar sean muy diferentes, dependiendo del tejido con el que reacciona (Tabla 4.1).

Tabla 4.1 Determinación empírica de la dosis de ozono tolerable y la capacidad de antioxidantes de diferentes tejidos y fluidos (modificado de Bocci et al. 2003)

Fluidos y Tejidos	Capacidad antioxidante	Composición	Capacidad total antioxidante	Concentración de ozono (µg/mL)	Volumen de gas (O2-O3) (mL)	Respuesta
Plasma	Alta	Ver tabla 4.2	1,28-1,83 mM	-	-	-
Sangre total	Muy alta	Ver tabla 4.2 Ver tabla 7.1	+++++	15-80	50-250	Terapéutica
FRE*	Muy baja	Ver tabla 7.1	+	Ninguna	-	Tóxica
Piel (local) Piel (sauna)	Baja	Lípidos, proteínas no enzimáticas	++	5-80 0,1-0,9	Flujo continuo Diluido aire	Terapéutico
Subcutáneo	Moderada	Similar al plasma	++	2-20	1-100	Terapéutico
Mucosa y fluidos colorectales	Baja	Moco, glucocálix, Lípidos, Proteínas, Enzimas	++	5-35	50-350	Terapéutico
Dientes	Baja	Bacterias, proteínas	?	4	100 en 10 segundos	Terapéutico
Núcleo pulposo	Moderada	Proteoglicanos y colágeno tipo I, II y IV	++	25-35	2-5	Terapéutico
Fluido intraforaminal	Moderada	Similar al plasma	++	30	15-20	Terapéutico
Espacio epidural	Baja	Similar al plasma	+	10-20	20	Terapéutico
LCR**	Muy baja	Similar al plasma pero muy diluido	+	Ninguna	-	Tóxica
Tejido muscular	Moderada	Similar al plasma	++	10-30	15-30	Terapéutica
Líquido sinovial	Moderada	Similar al plasma	++	10-30	1-20	Terapéutica

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

A diferencia de los efectos que se refieren en los estudios sobre toxicidad del ozono por vía respiratoria y sobre los tejidos pulmonares (Pryor et al., 1995), en los cuales los sistemas antioxidantes naturales están prácticamente ausentes, por cualquiera de las demás vías de administración terapéuticas, la abundancia de estos sistemas antioxidantes naturales neutraliza rápidamente el ligero estrés oxidativo “transitorio” que acompaña a la administración terapéutica del ozono.

El esquema (Figura 4.5) ha sido ilustrado para representar como el ozono disuelto en el agua orgánica reacciona simultáneamente con antioxidantes hidrosolubles y lípidos unidos a la albúmina. También muestra cómo el ozono, a concentraciones terapéuticas, no puede alcanzar la bicapa fosfolipídica que constituye la membrana eritrocitaria protegida por moléculas de albúmina. Parece obvio que los experimentos artificiales ejecutados con eritrocitos lavados con solución salina y muy altas dosis de ozono han demostrado daños en las membranas celulares y ello ha llevado erróneamente a la creencia que el ozono es citotóxico.

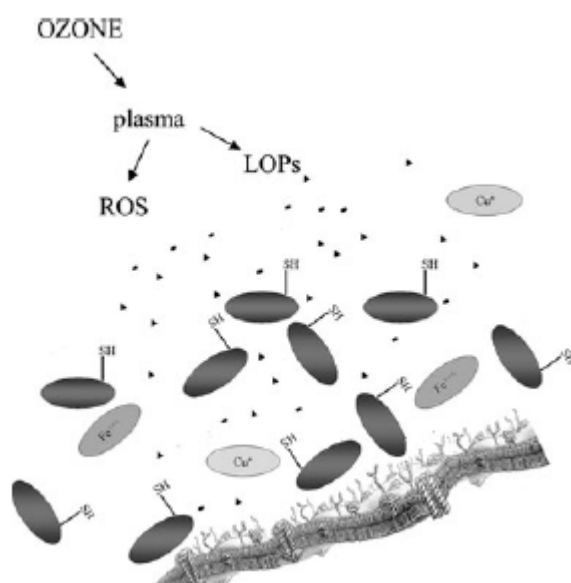


Fig. 4.5. El esquema (Bocci, 2011) ayuda a imaginar la multiplicidad del sustrato reaccionando con el ozono disuelto en agua plasmática. Los pequeños círculos, triángulos y cuadrados simbolizan los antioxidantes hidrosolubles presentes en 100 ml de sangre humana (ácido úrico 4,5 mg/dl, ácido ascórbico 1,5 mg/dl, glucosa 80 mg/dl, etc.). Moléculas grandes de albúmina (4.000 mg/dl) exponiendo grupos -SH forman una nube sobre la membrana celular y lo protegen. Moléculas tales como la transferrina y la ceruloplasmina unidos a Fe³⁺ y Cu⁺ previenen la formación de OH⁻. La adición exógena de 4-8 mg de ozono en 100 ml de sangre es transitoria y controlada por antioxidantes. En contraste, la producción endógena de ERO es continua y solo puede ser controlada por antioxidantes intracelulares enzimáticos.

4.1 Peróxido de hidrógeno y LOPs como mensajeros biológicos del ozono.

Por tanto, debería estar claro que parte de la dosis de ozono es neutralizada por los antioxidantes presentes en plasma y únicamente la reacción con PUFA es responsable de los efectos biológicos y terapéuticos. Esto debería esclarecer por qué una dosis muy baja de ozono puede ser inefectiva o equivalente a un placebo. En la sangre de individuos con una cantidad total de antioxidantes (TAS) estándar (ver tabla 4.1), concentraciones por debajo de 15 µg/mL son totalmente bloqueadas por los antioxidantes plasmáticos y no se generan LOPs ni H₂O₂ (Figura 4.6). Es más, tras la ozonización de la sangre humana, la capacidad antioxidante medida en plasma decrece en no más de un 30% tras aproximadamente 5 minutos, pero vuelve a los valores normales durante los siguientes 15 minutos, gracias a la

rápida reducción de los antioxidantes oxidados, con la intervención de los eritrocitos (Bocci et al., 1998b; Bocci y Aldinucci, 2006). Este resultado enfatiza que incluso una dosis alta de ozono (16.000 µg. para 200 ml. de sangre venosa) nunca sobrepasa la capacidad antioxidante del plasma y no produce daño a las células sanguíneas.

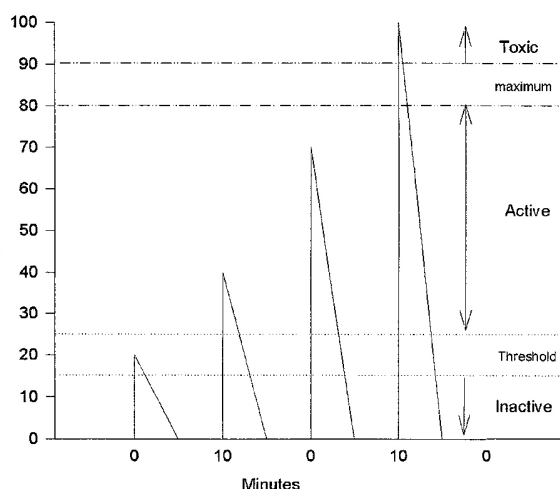


Fig. 4.6. Esquema tomado del libro de Bocci (2002), mostrando el rango terapéutico del ozono para la sangre. Concentraciones entre 15 y 25 µg/mL pueden ser ineficaces según el TAS del individuo. Las concentraciones por debajo de 15 µg/mL no son efectivas incluso en pacientes con TAS muy bajos.

Las ERO incluyen varios radicales como el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), monóxido de nitrógeno (NO^{\bullet}), peroxinitrito ($O=NOC^{\bullet-}$), los ya mencionados radicales hidroxilo y otros componentes tales como el peróxido de hidrógeno y el ácido hipocloroso ($HClO$). Todos los compuestos son potencialmente citotóxicos (Fridovich, 1995; Pullar et al., 2000; Hooper et al., 2000), afortunadamente tienen una vida media muy corta (normalmente un fracción de segundo) y tanto el plasma como células, tienen antioxidantes capaces de neutralizarlos, si sus concentraciones no sobrepasan su capacidad antioxidante. Este concepto enfatiza porqué la dosis de ozono debe ser precisa y bien calibrada contra la capacidad antioxidante de la sangre para, consecuentemente, desencadenar reacciones útiles sin causar daño alguno.

Los LOPs generados tras la ozonización de una gran variedad de PUFAs son heterogéneos y, en resumen, son representados por una variedad de α -hidroxi-hidroperóxidos en el carbono terminal ($R-OOHOH$) y una mezcla compleja de aldehídos de bajo peso molecular, principalmente malon-dialdehído (MDA) y alquenes, entre los cuales el 4-hidroxi-2,3 transnonenal (4-HNE), que es considerado por muchos un elemento clave en la transducción de señales celulares (Awasthi, Y. et al., 2004). La química y bioquímica de estos compuestos está descrita magistralmente por el grupo de Esterbauer (1991). Si uno piensa en la riqueza y heterogeneidad química de los lípidos, glicolípidos y fosfolípidos presentes en plasma, se hace difícil imaginar que muchos compuestos potentes, potencialmente nocivos, puedan ser generados por los lípidos que reaccionan con las pequeñas cantidades de ozono empleadas en la ozonoterapia.

Dado que podemos controlar (usando concentraciones precisas de ozono relacionado con el volumen sanguíneo y la capacidad antioxidante) la cantidad de LOPs, podemos conseguir multitud de efectos biológicos impensables con un único medicamento. Ciertamente, un gran experto en antioxidantes, el Prof. Lester E. Packer de la Universidad de California en Berkeley ha escrito que la hipótesis de que una pequeña dosis de ozono pueda obtener un número de respuestas antioxidantes útiles para el organismo es bastante razonable y en línea con los pensamientos actuales.

El siguiente esquema destaca este punto crucial y la secuencia de eventos que eventualmente crea los efectos terapéuticos: las ERO son producidos únicamente durante un período corto de tiempo, pocos segundos, y estos producen efectos biológicos TEMPRANOS

en sangre, durante la mezcla con el ozono, mientras que los LOPs, que son producidos simultáneamente, tienen una vida media mucho más larga y llegan al sistema vascular, al reinfundir la sangre ozonizada, y a prácticamente todos los órganos donde se producen los efectos TARDÍOS (Figuras 4.7 y 4.8).

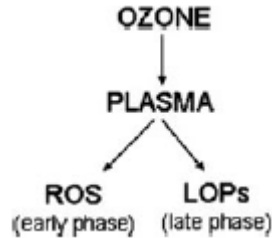


Fig. 4.7. El esquema pretende demostrar que el ozono disuelto en agua plasmática reacciona inmediatamente con ciertas biomoléculas y desaparece. Los compuestos generados durante las reacciones (ROS y LOPs) representan los "mensajeros de ozono" y son responsables de los efectos biológicos y terapéuticos. (Tomado de Bocci, 2002)

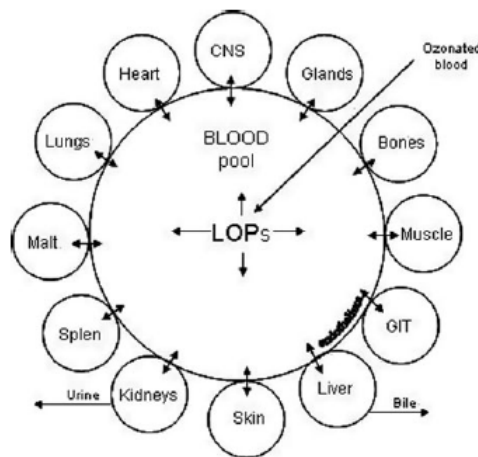


Fig. 4.8 Las múltiples respuestas biológicas en el organismo frente a la sangre ozonizada pueden ser concebidas si consideramos que las células de la sangre ozonizada y los LOPs generados interactúan con ciertos órganos. Algunos de estos representan objetivos reales (hígados con hepatitis crónicas, vasculopatías en el sistema vascular), mientras que otros órganos pueden probablemente estar involucrados en restaurar la homeostasis a la normalidad. CNS: sistema nervioso central, GIT: tracto gastrointestinal, MALT: tejido linfóide asociado a la mucosa. (Tomado de Bocci, 2011)

¿Cómo se pueden reconciliar la producción de compuestos potencialmente tóxicos con la idea que éstos ejercen efectos terapéuticos y biológicos importantes?

Vamos a examinar primero el comportamiento y la farmacodinámica del peróxido de hidrógeno, que en términos prácticos, es la ERO más importante. Tan pronto como el ozono se disuelve en agua plasmática y reacciona con PUFAs, la concentración de peróxido de hidrógeno empieza a incrementar, pero, decrece rápidamente porque la molécula difunde rápidamente en los eritrocitos, leucocitos y plaquetas, lo que activa varias vías bioquímicas.

El aumento de la concentración intracelular de peróxido de hidrógeno no es tóxico para la célula, porque al mismo tiempo, tiene lugar una reducción a agua tanto en el plasma como en el agua intracelular, gracias a la presencia de enzimas antioxidantes potentes tales como la catalasa, la glutatión-peroxidasa (GSH-Px) y el glutatión reducido libre, como ya hemos comentado anteriormente (GSH). Quizás durante unos segundos, el gradiente químico entre el plasma y la concentración intracelular de peróxido de hidrógeno ha sido estimado en un rango que empieza entre 1 y 4-5 μM equivalente a aproximadamente 10% de la concentración plasmática, que impide toxicidad alguna (Antunes y Cadenas, 2000; Stone y Collins, 2002; Stone y Yang, 2006; Forman, 2008). La presencia transitoria de peróxido de

hidrógeno en el citoplasma actúa como uno de los mensajeros químicos del ozono y su nivel es crítico: ha de ser superior a ciertos umbrales para que sea efectivo y no demasiado alto para ser nocivo. En estudios, desarrollados con sangre humana (200 ml) expuesta a concentraciones de ozono entre 20 y 80 µg/ml (correspondiente a dosis totales entre 4.000 y 16.000 µg de O₃ por sesión, o sea de 4 a 16 mg por sesión), el proceso de generación de peróxido de hidrógeno, difusión y reducción fue siempre transitorio (Bocci et al., 1993^a, b, 1998^a, b) además, Halliwell et al. (2000^a, b) considera que la molécula es realmente fisiológica en el organismo.

Corroborando esta idea, el peróxido de hidrógeno es reconocido como una molécula de señalización intracelular que es capaz de activar la tirosina quinasa, que fosforila un factor de transcripción (Factor Nuclear Kappa-B, NFκB), que permite la síntesis de un cierto número de proteínas diferentes (Baeuerle y Henkel, 1994; Barnes y Karin, 1997). Básicamente, el peróxido de hidrógeno funciona oxidando cisteínas (Rhee et al., 2000) y varios autores han determinado que actúa sobre células sanguíneas mononucleares (Bocci y Paulesu, 1990; Bocci et al., 1993b, 1998a; Reth, 2002), plaquetas (Bocci et al., 1999^a), sobre células endoteliales (Valacchi y Bocci, 2000) y sobre eritrocitos (Bocci, 2002).

Las ERO que entran en los eritrocitos son casi inmediatamente reducidos, como ya hemos comentado visto (peróxido de hidrógeno a agua y lipoperóxidos a hidroperóxidos) mediante el GSH. La enorme masa de los eritrocitos puede fácilmente agotar el peróxido de hidrógeno y, en 10-15 min., reciclar los antioxidantes oxidados recuperándolos en su forma reducida (Mendiratta et al., 1998^a, b). Mientras la glutatión reductasa (GSH-Rd) utiliza la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido (NADPH); este coenzima sirve como donante de electrones para varias reacciones bioquímicas) permite reciclar el glutatión oxidado (GSSG) a su nivel original de GSH, el NADP oxidado es reducido tras la activación de la vía de las pentosas fosfato, de la cual la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6PD) es un enzima clave. Por ello, la glicólisis es acelerada con un consecuente incremento de los niveles de ATP. Es más, la reinfusión eritrocitaria, durante un período de tiempo, mejora el reparto de oxígeno a tejidos isquémicos por el desplazamiento a la derecha de la curva de disociación de oxígeno-hemoglobina debido a la ligera disminución del pH intracelular (efecto Bohr) y/o al incremento de los niveles del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) (Figura 4.9).

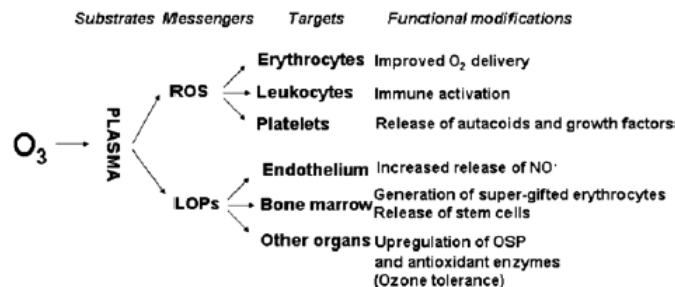


Fig.4.9 Un resumen de los efectos biológicos obtenidos durante la exposición de sangre humana a oxígeno-ozono, ex vivo (ROS) y tras la reinfusión en el donante

Hay una amplia literatura con respecto a la citotoxicidad de los LOPs (Poli et al., 2008). Estos compuestos, cuando son testados en cultivos de tejido o examinados en el contexto del delicado sistema respiratorio, son tóxicos incluso a concentración de 1 µM. Sorprendentemente, a concentraciones submicromolares (0.01-0.5 µM) probados en varios tipos celulares puede estimular la proliferación y actividades bioquímicas útiles. Estos hallazgos nos hacen creer que la toxicidad de los productos lipídicos ozonizados depende de las concentraciones finales y de la localización del tejido, por lo que pueden actuar como señales dañinas o útiles (Dianzani, 1998; Parola et al., 1999; Bosch-Morell et al., 1999; Larini et al., 2004; Aldini et al., 2006, 2008). La sangre, comparado con los pulmones, es un “tejido” mucho más ozono-resistente y nunca hemos observado daño alguno. Se ha medido la cinética de la desaparición de los LOPs de la sangre ozonizada y reinfundida y su vida media en seis pacientes con degeneración macular senil (ARMD) fue de 4.2 ± 1.7 min. Por otro lado, las mismas muestras de sangre ozonizadas fueron incubadas in vitro, y los niveles de LOPs

disminuyeron poco durante las siguientes 2 h, dejando claro su posible toxicidad en cultivos celulares estáticos. En relación al colestiril-éster-hidroperóxido, Yamamoto (2000) ha enfatizado el rol de la degradación enzimática y la absorción hepática. Por tanto, la toxicidad de los LOPs in vivo es irrelevante para los procesos siguientes:

(1) FORMACIÓN DE ADUCTOS DE ALBÚMINA-4-HNE. Asumiendo la ozonización de 200 ml de sangre con una dosis de ozono de 8 mg, la presencia de aproximadamente 5 g de albúmina (Cys 34) es suficiente para formar aductos con 4-HNE. En un contenido corporal total de 320 g de albúmina, la alícuota ozonizada es de menos de un 1% (Aldini et al., 2006).

(2) DILUCIÓN (hasta 150-200 veces) de estos compuestos en sangre y fluidos corporales rápidamente, con lo cual disminuyen sus concentraciones iniciales hasta las farmacológicas, normales no tóxicas. Obviamente la dosis de ozono ha de estar dentro del rango terapéutico.

(3) NEUTRALIZACIÓN de los LOPs debido a la capacidad antioxidante de fluidos corporales y células.

(4) DESTOXIFICACIÓN de los LOPs debido a la interacción de billones de células dotadas de enzimas destoxificantes tales como las peroxidasas, los aldehídos y alcohol-deshidrogenasas, aldosa reductasas y GSH-transferasas (GSH-T) (Siems y Grune, 2003; Awasthi et al., 2005).

(5) EXCRECIÓN de los LOPs en orina y bilis tras la destoxificación hepática y excreción renal (Alary et al., 2003).

(6) BIOACTIVIDAD sin toxicidad. Como se ha mencionado anteriormente, las concentraciones submicromolares de los LOPs pueden actuar como mensajeros fisiológicos capaces de reactivar un sistema biológico alterado.

Desde un punto de vista farmacocinético, trazas de LOPs pueden alcanzar todos los órganos y particularmente la médula ósea y el Sistema Nervioso Central (Fig. 4.9). Los LOPs son extremadamente importantes al informar a las células del estrés oxidativo mínimo y calculado que provoca una respuesta adaptativa. Con respecto a los eritrocitos, los LOPs pueden influir en el linaje eritroblástico, creando así células con características bioquímicas mejoradas. Estos "eritrocitos superdotados", tal como los llaman algunos, debido a una inducción por glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, un contenido superior de 2,3-DPG y de enzimas antioxidantes, durante las próximas semanas, son capaces de transportar más oxígeno a tejidos isquémicos. La consecuencia de tratamientos repetidos, obviamente dependiendo del volumen de sangre ozonizada, la concentración de ozono y la frecuencia del tratamiento es, tras varios tratamientos iniciales, un cohorte (aproximadamente 0,8% del pool) de "eritrocitos superdotados" que entran diariamente a la circulación y, sustituirán inexorablemente a los eritrocitos generados antes de la terapia. Esto quiere decir que, tras una ozonoterapia prolongada, la población eritrocitaria incluirá, no sólo células de diferente edad sino también, eritrocitos con capacidades bioquímicas diferentes y funcionales. Durante el curso de la terapia de ozono, se ha medido un incremento marcado de G-6PD y otras enzimas antioxidantes en eritrocitos jóvenes (Bocci, 2004). El proceso de activación celular es muy dinámico y no dura para siempre porque las células sanguíneas tienen una esperanza de vida definida y memoria bioquímica limitada, por tanto, la ventaja terapéutica HA DE SER MANTENIDA CON TRATAMIENTOS PERIÓDICOS.

La toxicidad en sangre, fluidos biológicos y órganos internos puede ser totalmente evitada cuando la dosis de ozono reduce sólo en parte y transitoriamente la capacidad antioxidante multiforme y potente. El sistema antioxidante ha evolucionado durante los últimos dos billones de años como una defensa esencial contra el oxígeno: está hecho de distintos componentes principalmente albúmina, vitaminas C y E, ácido úrico, bilirrubina, cisteína, ubiquinol, ácido alfa lipoico y antioxidantes intracelulares, tales como el GSH, tioredoxina y enzimas (superóxido dismutasa, SOD, GSH-Px, GSH-Rd, GST-T, catalasa, etc.) y proteínas tales como la transferrina y la ceruloplasmina, capaces de quelar el hierro y cobre que, de otra manera, favorecería la formación de radicales hidroxilo. La riqueza y la variedad de antioxidantes extracelulares e intracelulares, descritos en profundidad por Chow y Kaneko (1979), Halliwell (1994, 1999^a, b, 2001), Frei (1999), Holmgren (1989), Di Mascio et al. (1989), Jang et al. (1997), Packer et al. (1997), Bustamente et al. (1998) y Chae et al. (1999), son capaces de explicar cómo cantidades determinadas de ozono pueden estimular varios sistemas biológicos, sin producir efectos deletéreos. Hasta que se entienda este concepto esencial, el dogma de la toxicidad por ozono continuará, dificultando la posibilidad de extender

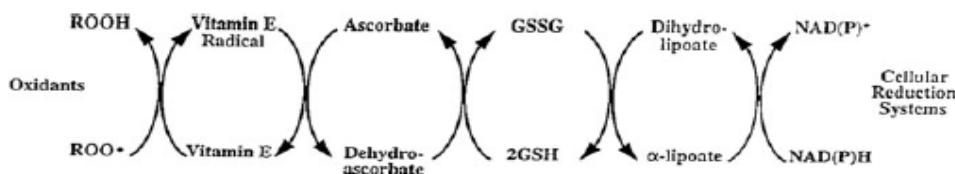
los beneficios de esta excelente terapia.

Tabla 4.2 El sistema de antioxidantes

No enzimáticos			Enzimáticos
Hidrosolubles	Liposolubles	Proteínas quelantes	
Ácido úrico	Vitamina E	Transferrina	Superóxido Dismutasa (SOD)
Ácido ascórbico	Vitamina A	Ferritina	Catalasa
Glucosa cisteína	Carotenoides	Ceruloplasmina	Glutati6n peroxidasa
Cisteamina, taurina	Coenzima Q	Lactoferrina	Sistema redox del glutati6n
Tript6fano	Ácido α -lipoico	Hemopesina	Reductores equivalentes vía
Histidina	Bilirrubina	Albúmina	NADPH y NADH
Metionina	Tioredoxina		
GSH	Bioflavonoides		
Proteínas plasmáticas	Melatonina		
	Licopeno		

La interacci6n entre antioxidantes, enzimas y el sistema metab6lico es muy importante y permite la r6pida regeneraci6n, as6 como el mantenimiento del estado normal antioxidante.

El siguiente esquema, dibujado por el Prof. L. Packer, ilustra la cooperaci6n entre varios sistemas antioxidantes con el fin de neutralizar el radical lipoper6xido ROO• (ilustrado en el extremo izquierdo) convirtiéndolo en un hidrop6xido menos reactivo, el ROOH. La actividad reductora es continuamente generada por metabolismo celular v6a la reducci6n continua de NAD(P)⁺ a NAD(P)H.



Es suficiente decir que, durante la administraci6n de ozono a la sangre, las reservas de los antioxidantes disminuyen no m6s de un 35% en relaci6n a las dosis de ozono entre 20 y 80 $\mu\text{g/ml}$ de gas por ml de sangre (4000 y 16000 μg de dosis total en 200 ml de sangre). Es importante a6adir que, en los casos en que se han medido estos par6metros en muestras de esta sangre mantenidas in vitro, la disminuci6n parcial es corregida entre 15 y 20 minutos gracias al reciclaje del 6cido deshidroasc6rbico, GSSG, radical alfa-tocoferol, etc. a sus compuestos reducidos.

4.2 Algunas consideraciones acerca del estr6s oxidativo natural e inducido por terapias oxidantes. Bases racionales para una dosificaci6n de ozonoterapia eficaz.

La fuente m6s importante de ox6geno reactivo en condiciones normales en organismos aer6bicos es probablemente la p6rdida de ox6geno activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiraci6n oxidativa. El estr6s oxidativo es inherente a la propia vida de los organismos superiores aerobios. Esto es f6cilmente comprensible, teniendo en cuenta que nuestra fisiolog6a se ha desarrollado sumergida en un ambiente gaseoso con nada menos que un 18 % de ox6geno, y que este participa de modo vital en los imprescindibles procesos de producci6n de energ6a, as6 como en muchos otros, no menos

importantes.

Esto ha conllevado el desarrollo de múltiples mecanismos y sustancias involucradas en el aprovechamiento del oxígeno. Del mismo modo que a partir del oxígeno se desarrollan innumerables metabolitos, procesos y sustancias imprescindibles para la vida, también se producen las conocidas Especies Reactivas del Oxígeno “ERO”, que tienen la capacidad de dañar múltiples sustancias y estructuras vitales. Por ello, paralelamente con estos procesos, se han desarrollado también diversas sustancias y procesos que naturalmente cumplen la función de controlar los niveles de ERO y evitar la proliferación de los daños que producen. Algunos de ellos han sido comentados en párrafos anteriores y aquellos enzimáticos más eficaces se representan esquemáticamente en la siguientes Figuras 4.10 y 4.11.

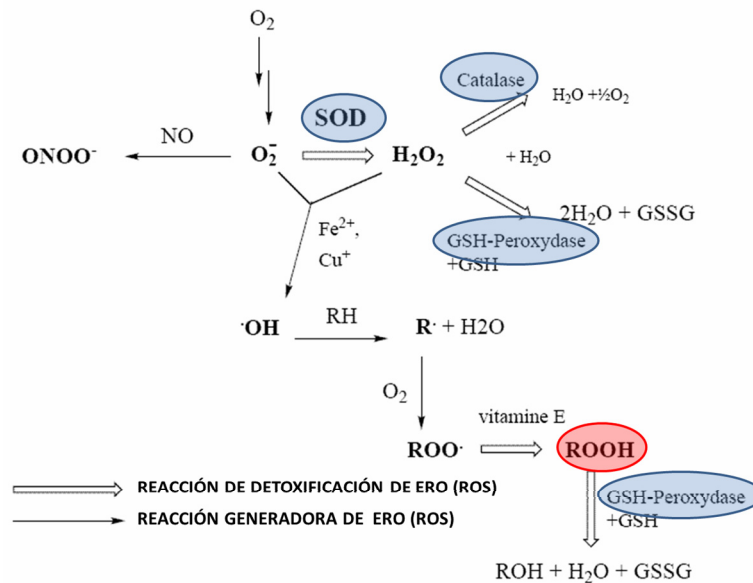


Fig. 4.10. El estrés oxidativo es natural y fisiológico, y aumentos agudos del mismo se producen constantemente durante la vida y las múltiples actividades humanas, al mismo tiempo que los mecanismos y sustancias ANTIOXIDANTES se encargan de neutralizarlo y restablecerlo a sus valores normales de base.

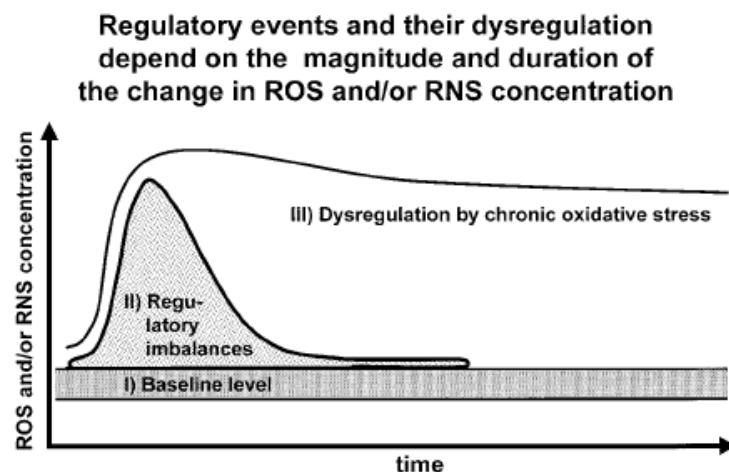


Fig.- 4.11 Solamente cuando por alguna causa, generalmente patológica, no se consigue restablecer este equilibrio, es que puede hablarse de ESTRÉS OXIDATIVO CRÓNICO, y considerarse PATOLÓGICO Y POTENCIALMENTE DAÑINO

Como ejemplos de la cotidianidad de las situaciones de estrés oxidativo transitorio, que se autoregulan por los mecanismos antioxidantes normales, puede decirse que, en principio, TODO AQUELLO QUE NOS CAUSE UN AUMENTO DE NUESTRA DEMANDA DE

OXÍGENO, CREARÁ UN ESTRÉS OXIDATIVO. Si nuestras defensas antioxidantes están en condiciones aceptables, este será transitorio y se autoregulará. Ejemplos: Alimentación, Higiene, Ejercicio físico, Trabajo físico, Situaciones estresantes (térmico, físico, psicológico, etc.), Numerosos medicamentos oxidantes (adriamicina, etc.), algunos procedimientos terapéuticos oxigenantes, etc.

Se ha reportado (Bloomer et al. 2010) el llamado “Estrés Oxidativo Postprandial”, que se muestra en la Figura 4.12, en la cual se aprecian incrementos de estrés oxidativo de alrededor de un 100 % tras la ingesta de 150 g de Glucosa y de hasta 400 % a las 2 horas de la ingesta 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.

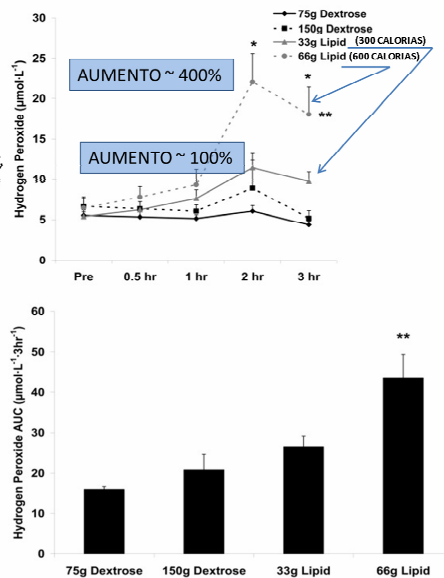


Fig. 4.12

También ha sido reportado (Singh et al., 2004) que el nivel de peróxidos lipídicos en sangre y la actividad de enzimas antioxidantes se comportan según un ritmo circadiano, en sujetos sanos y en pacientes (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

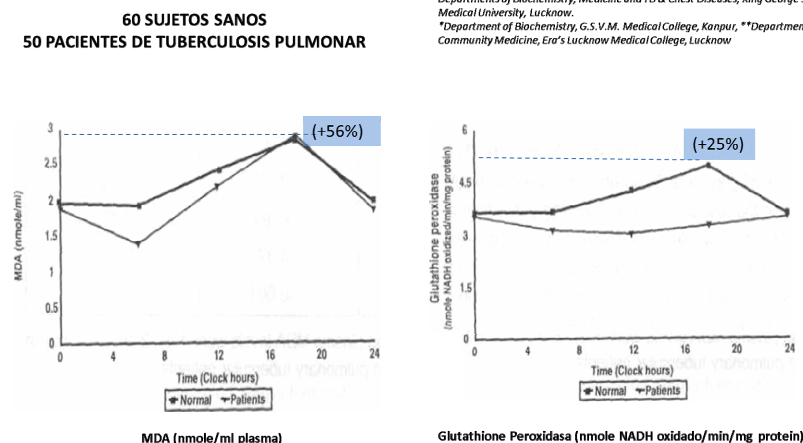


Fig 4.13

Por otra parte, se han llegado a demostrar (Marin et al. 2011) incrementos de estrés oxidativo de hasta 118% en plasma y 152% en eritrocitos, 24 horas después del ejercicio físico fuerte (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,^{1,2} Rita de Cassia Macedo dos Santos,¹ Anaysa Paola Bolin,¹ Beatriz Alves Guerra,¹ Elaine Hatanaka,³ and Rosemarli Otton⁴
¹Postgraduate Program-Health Sciences, Cruzeiro do Sul University, 03342-000, São Paulo, SP, Brazil
²Metodista University of São Paulo, 09640-000 São Bernardo do Campo, SP, Brazil
³Postgraduate Program-Human Movement Sciences, Institute of Physical Activity and Sport Sciences, Cruzeiro do Sul University, 01506-000, São Paulo, SP, Brazil
⁴Laboratório 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 ± SEM. * Indicates significant differences in respect to baseline values (P < 0.05).

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

AUMENTO EN MDA PLASMÁTICO	µmol/ml	%	AUMENTO EN MDA ERITROCIT.	µmol/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

En cuanto a terapias oxigenantes, sirva de ejemplo la Oxigenación Hiperbárica, considerada una terapia “noble”, aceptada por las autoridades sanitarias de todos los países, sobre la cual solo se han reportado efectos secundarios en unas pocas condiciones particulares.

Esta terapia es capaz de generar un estrés oxidativo muy importante durante un tiempo prolongado, al menos durante todo el tiempo que dure el tratamiento, y posiblemente hasta varios días más. En la Figura 4.15 se presenta un ejemplo de un estudio con 20 sujetos, entre voluntarios y pacientes y 15 tratamientos. Según los resultados, el incremento del estrés oxidativo, medido por dos métodos diferentes, aumenta y se mantiene a lo largo del tratamiento, lo cual se comprueba antes de la última sesión, en la cual el MDA en plasma alcanza niveles medios de un 46% por encima de los valores normales iniciales, y después de la misma llega hasta una media de 61%.

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

Clinical Biochemistry 37 (2004) 312–317
 Serena Benedetti,^a Antonio Lamorgese,^b Michele Piersantelli,^a Silvia Pagliarini,^a Francesca Benvenuti,^a and Franco Canestrari,^a
^aInstitute of Biological Chemistry “G. Fornalini”, University of Urbino “Carlo Bo”, 2-61029 Urbino (PU), Italy
^bHyperbaric 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 períodos de 30-min con un intervalo de 3-min, durante los cuales respiraron aire.

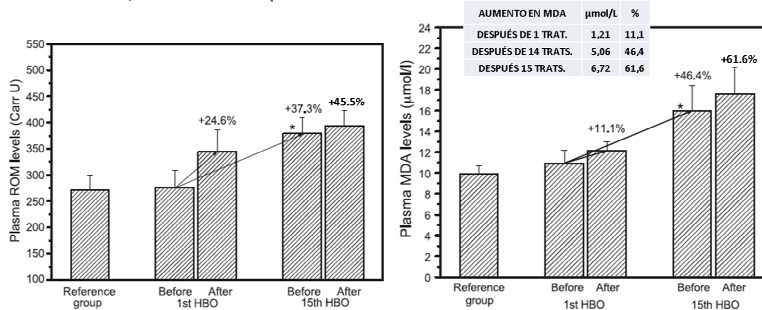


Fig. 1. Effect of HBO on plasmatic ROM levels (CARR U) *P < 0.05 vs. 1st HBO, t test for paired data

Fig. 2. Effect of HBO on plasma MDA *P < 0.05 vs. 1st HBO, t test for paired data

Fig. 4.15

En cambio, en el caso de la Ozonoterapia, el estrés oxidativo causado por la administración de un ciclo de tratamientos por autohemoterapia mayor ozonizada (MO-AHT), en comparación con el producido por otras causas, es mucho menor y se autoregula

intrínsecamente durante el tratamiento, gracias a su capacidad de estimular los sistemas enzimáticos antioxidantes naturales.

Este fenómeno se demuestra en diversos estudios clínicos (Bocci, 2002), en los cuales se han medido los peróxidos lipídicos en sangre y la actividad de algunas enzimas antioxidantes durante el ciclo de tratamiento. En la Figura 4.16 se observa como a lo largo de 9 tratamientos realizados en un período de un mes, inicialmente los peróxidos lipídicos aumentan ligeramente (sin sobrepasar los niveles de referencia considerados normales), y a partir del 5° tratamiento comienza a activarse sensiblemente la SOD, y consecuentemente los peróxidos lipídicos comienzan a disminuir de nuevo. De este modo, al final del tratamiento, las defensas antioxidantes de los pacientes están a un nivel de actividad más alto que antes del mismo.

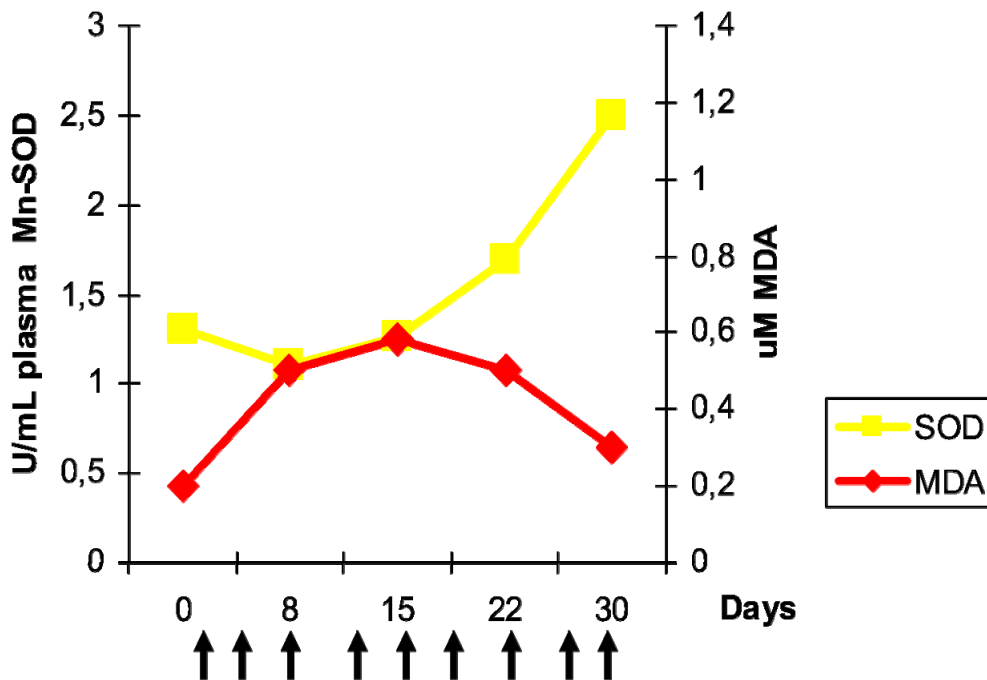


Fig. 4.16 Comportamiento de la SOD y los LOPs (MDA) en la degeneración macular asociada a la edad en paciente tratados con MO-AHT (Bocci, 2002). Las flechas indican la sesiones de MO-AHT.

Existen otros estudios clínicos que ilustran cómo, dentro de los límites establecidos por los estudios básicos realizados y la experiencia, un ciclo de tratamientos de MO-AHT más intenso y energético y con mayor dosis de ozono diaria, puede lograr mejores resultados.

Uno de estos ejemplos es la comparación entre los resultados obtenidos en 2 estudios (Hernandez F. et al. 1989 y 1995) independientes, pero realizados con un protocolo comparable (15 sesiones diarias, durante 3 semanas), que se diferenciaron en aplicar dosis diarias de 5.000 µg de ozono, en un caso, y de 10.000 µg. en el otro. En la Figura 4.17 se muestra el comportamiento de los LOP y de la Actividad de la Glutación Peroxidasa (GPX) durante el ciclo de tratamiento en ambos estudios, observándose que en el caso en que se empleó la dosis mayor de ozono, el efecto antioxidante fue mayor durante todo el tratamiento.

EFFECTO DE LA OZONOTERAPIA INTRAVASCULAR SOBRE EL SISTEMA DE LA GLUTATIÓN PEROXIDASA
 Rev. C. Nac. Inv. Científicas, Vol. 20, No. 1-2-3, pp. 37, 1989, Cuba
 Hernández, F., Menéndez, S., Gómez, M.
 Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Habana, Cuba

DECREASE OF BLOOD CHOLESTEROL AND STIMULATION OF ANTIOXIDATIVE RESPONSE IN CARDIOPATHY PATIENTS TREATED WITH ENDOVENOUS OZONE THERAPY
 Free Radical Biology & Medicine, Vol 19, No. 1, pp. 115-119, 1995
 Elsevier Science Ltd.
 Frank Hernández, Silvia Menéndez and Rolando Wong
 Ozone Research Center, Medical & Surgical Research Center, Havana, Cuba

20 Sujetos, 5.000 µg.O3/sesión-día

22 Sujetos, 10.000 µg.O3/sesión-día

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

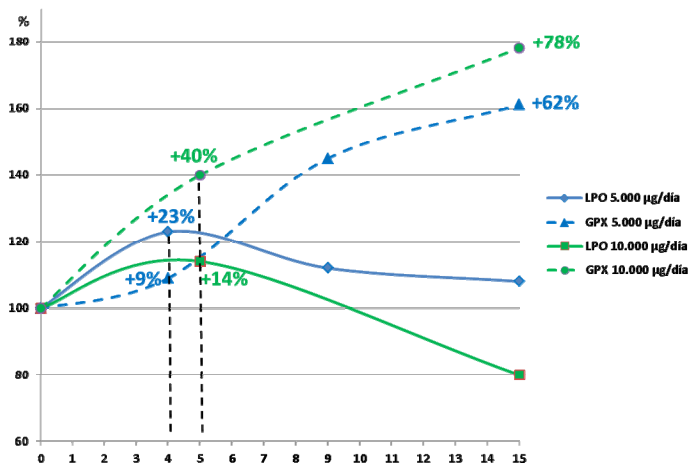


Fig. 4.17

Puede observarse que entre el 4º y 5º tratamientos se había obtenido activaciones enzimáticas del 9% (dosis menor) y 40% (dosis mayor) y consecuentemente el aumento de los LOP era de 23% (dosis menor) y de sólo 14% con la dosis mayor. La activación de la GPX con la dosis mayor se produjo hasta un nivel de actividad final mayor (78%) que en el caso de la dosis menor (62%). El nivel final de LOP fue también mucho más bajo que el inicial en el caso del tratamiento realizado con la dosis mayor de ozono

Esto puede comprenderse gracias a la capacidad muy particular de los metabolitos del ozono producidos en su interacción con la sangre de activar de manera muy marcada los sistemas de defensa enzimáticos naturales.

Si tenemos en cuenta que los niveles máximos de estrés oxidativo obtenidos en estos estudios clínicos con MO-AHT están por muy por debajo de los niveles que se han documentado en plasma durante muchas de las actividades humanas normales (ingesta de lípidos: de +100 a +400%) (ejercicio físico +152%), de las variaciones circadianas (+56%), así como del producido por terapias consideradas nobles por las autoridades sanitarias (Oxigenación Hiperbárica: +61%), debemos concluir que la Ozonoterapia Sistémica, por la vía de MO-AHT, sólo produce un ligero estrés oxidativo de muy corta duración, y es muy segura y prácticamente libre de efectos secundarios adversos.

4.3 Conclusiones.

Cuando la sangre humana es expuesta a las dosis terapéuticas de oxígeno-ozono, ambos gases se disuelven en el plasma dependiendo de su solubilidad, presión parcial y temperatura. Mientras que el oxígeno se equilibra entre la fase gaseosa y el plasma, el ozono, diez veces más soluble, no puede equilibrarse porque REACCIONA INMEDIATAMENTE con biomoléculas (PUFA, antioxidantes) presentes en el plasma y se agota totalmente. La reacción genera productos de oxidación lipídica (LOPs) y peróxido de hidrógeno (entre otras posibles ERO), que podríamos denominar "metabolitos del ozono". El incremento repentino de la concentración de peróxido de hidrógeno genera un gradiente, que causa su transferencia

rápida hacia las células sanguíneas donde, en pocos segundos, activa varios procesos bioquímicos y simultáneamente el peróxido de hidrógeno se reduce a agua mediante un sistema antioxidante intracelular muy eficiente (GSH, catalasa, GSH-Px). Esta etapa crítica corresponde a un estrés oxidativo leve, controlado, agudo y transitorio, necesario para la activación biológica, sin concentración concomitante tóxica, siempre que la dosis de ozono sea compatible con la capacidad antioxidante sanguínea, que comparativamente es muy alta.

Mientras que las ERO son responsables de los efectos biológicos inmediatos, los LOPs son importantes efectores tardíos, cuando la sangre, ozonizada *ex vivo*, vuelve a la circulación por reinfusión. Cuando el ozono se administra localmente, ERO y LOPs ejercen sus efectos directamente sobre el tejido.

Los LOPs pueden alcanzar cada órgano, particularmente la médula ósea donde, tras inducir la estimulación del núcleo celular (NFKB y Nrf2) mediante la variación intracelular del peróxido de hidrógeno y glutatión, inducen la adaptación al estrés oxidativo agudo repetido. Debido a la terapia prolongada, la actividad de los LOPs culminará con la sobrerregulación de enzimas antioxidantes, la aparición de proteínas de estrés oxidativo (hemo-oxigenasa I como marcador típico) y la probable liberación de células madre, que representan factores cruciales explicando algunos de los efectos extraordinarios de la ozonoterapia (Capítulo 8). Una reciente publicación del equipo de Bocci (Pecorelli, A. Et al., 2013), confirmada por Re (Re L. Et al., 2014), ha demostrado la modulación del Nrf2 en pacientes tratados con ozono. El Nrf2 es una proteína nuclear clave para la detoxificación (cura) o muerte celular (enfermedad) (Zucker et al., 2014), demostrando de nuevo la necesidad de establecer la dosis adecuada que induzca la curación.

Se ha de enfatizar que la SANGRE EXPUESTA AL OZONO ATRAVIESA UN ESTRÉS OXIDATIVO LEVE Y TRANSITORIO absolutamente necesario para activar funciones biológicas, sin efectos perjudiciales. El estrés debe ser adecuado (no subliminal) a los mecanismos activos fisiológicos, pero no excesivo como para superar al sistema antioxidante intracelular y causar daño, aunque este límite es muy alto. Se estima que las dosis de ozono que podrían considerarse excesivas para un sujeto medio serían del orden de >30.000 µg de O₃ por sesión (Bocci, 2011). Concentraciones superiores a 80 µg/mL pueden exceder las capacidades antioxidantes de algunos tejidos (Greenberg 1993), y su inocuidad no ha sido demostrada en suficientes estudios experimentales. Por otro lado, una dosis muy baja de ozono (por debajo del umbral de 15 µg/mL), es totalmente neutralizada por la riqueza en antioxidantes y ácidos grasos insaturados plasmáticos y podría solamente producir un efecto placebo. Igualmente, cantidades de ozono en MO-AHT de 1 mg por sesión han demostrado ser ineficaces para corregir el estrés oxidativo en distintas patologías, frente a 5 mg por sesión que si fueron efectivos (Borrelli, 2014). También hemos comprobado (Hernandez, 2005) que en la EPOC, 4 mg son capaces de estimular los enzimas antioxidantes pero no mejoran los parámetros clínicos, siendo necesarios 8 mg para lograr un efecto terapéutico. Por todo ello, es necesario establecer científicamente la dosis mínima eficaz en cada patología mediante los estudios adecuados.

La RESPUESTA TERAPÉUTICA alcanzada tras un estrés oxidativo repetido puede ser concebida como un EFECTO PRECONDICIONANTE, capaz de re-equilibrar y potenciar el sistema redox alterado por causas patológicas.

Capítulo 5

Vías de administración del ozono.

Excepto por la vía inhalatoria (prohibida por la toxicidad traqueo-bronquio-pulmonar), se han utilizado muchas vías parenterales y tópicas para administrar el ozono, sin efectos tóxicos y con mínima incomodidad (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Vías de administración de ozono

<u>Parenteral</u>	<u>Tópico o locoregional</u>
Intravenosa (Autohemoterapia ozonizada)	Nasal ^a
Intra-arterial (IA) ^b	Tubal ^a
Intramuscular (IM)	Auricular
Subcutánea (SC)	Oral ^a
Intraperitoneal (IPE)	Vaginal
Intrapleural (IPL)	Uretral e intravesical
Intra-articular (IAT)	Rectal
(A) Periarticular	Cutánea
(B) Miofascial	Dental
Intradiscal (ID)	
Intraforaminal (IF)	
Intralesional (IL) ^c	

^a A realizar durante 30 segundos en apnea.

^b Ya no es utilizada para isquemia de extremidades. En metástasis hepática puede ser embolizada vía la arteria hepática.

^c Intratumoral o vía fístula intraabsceso.

La mezcla de gas, compuesta por no menos de 95% de oxígeno y menos de 5% de ozono, que produce el generador de ozono médico tiene una ligera presión positiva y puede ser recogida con una jeringuilla calibrada (idealmente de vidrio pero poco práctico y ha sido sustituida por polipropileno revestido de silicona). Si se requiere un flujo continuo de gas, se puede insertar una conexión adecuada a la válvula de salida del generador de ozono. NO SE PUEDEN UTILIZAR TUBOS DE GOMA o LATEX dado que absorben rápidamente el ozono y se desintegran; por ello los tubos de silicona, pvc, polietileno, etc. inertes al ozono son ideales.

Aunque el ozono es un desinfectante potente, el ozono, como gas seco, se extrae de una válvula que esta expuesta al ambiente, por lo cual debe ser filtrado para las aplicaciones médicas, para evitar posible contaminación. Actualmente se emplean filtros de jeringa estériles, antibacterianos, ozono-resistentes e hidrofóbicos, de teflón y con una porosidad de 0.2 µm.

Desde 1984, debido a algún caso de muerte producida por embolismo pulmonar, LAS VÍAS DE ADMINISTRACIÓN INTRAVENOSAS DIRECTAS E INTRAARTERIALES, conteniendo cantidades variables de ozono SE HAN DESACONSEJADO por las sociedades científicas. En el caso de la INTRAVENOSA DIRECTA, aunque el gas se inyecte lentamente, produce la formación de una corriente de burbujas gaseosas, donde el ozono (más soluble que el oxígeno) se disuelve y reacciona con la sangre, mientras que el oxígeno, cuya disolución es muy lenta en el torrente sanguíneo, puede llegar al ventrículo derecho y después pasar a la circulación pulmonar. Se ha de tener presente que la solubilidad de oxígeno a 37°C es sólo de 0,23 ml por 100 ml de líquido plasmático y por tanto el plasma venoso puede no disolver el oxígeno de manera suficientemente rápida si el ritmo de infusión es inadecuado, provocando la formación de émbolos gaseosos. Además, la falta de estudios preclínicos sobre la citotoxicidad sobre el endotelio vascular y el adecuado ritmo de infusión, sumado a la ausencia absoluta de reportes que no sean meramente anecdóticos, hacen que esta vía no sea en absoluto recomendable en la actualidad.

En el caso de la vía INTRAARTERIAL DIRECTA, debido al volumen de gas pequeño y a la fragmentación gaseosa en el lecho capilar de las extremidades, la administración IA no involucra riesgo de embolismo, pero se ha comprobado que no hay ventajas comparado con la clásica MO-AHT o incluso a la insuflación gaseosa rectal. Por tanto, no se usa más debido a que las repetidas perforaciones arteriales pueden ser evitadas y también porque las inyecciones intraarteriales inducen contracciones precapilares. Por otro lado, la práctica de embolia terapéutica (con alcohol y compuestos citotóxicos) para metástasis hepáticas está en uso actualmente y parece relativamente útil. Bajo estas premisas es posible postular la administración lenta intraarterial (vía la arteria hepática) de 20-40 ml de gas con una concentración de ozono de hasta 80 µg/ml. El riesgo de producir embolismo por oxígeno es

mínimo porque el gas se dispersará al sinusoide y capilares tumorales, posiblemente, con citotoxicidad directa por ozono en células neoplásicas sin efectos secundarios, como puede ocurrir con compuestos quimioterapéuticos. Hasta ahora se ha ensayado este procedimiento con un paciente con metástasis hepática difusa, sin efectos secundarios.

Las VÍAS INTRAPERITONEAL e INTRAPLEURAL son, hasta donde conocemos, usadas por médicos rusos utilizando primero agua ozonizada para lavar el material purulento y luego insuflando en las cavidades 100-300 ml de gas de ozono de concentraciones desde 5 hasta 50 $\mu\text{g/ml}$ dependiendo de la gravedad de la infección. El ozono se disuelve rápidamente y reacciona con exudados, por lo que puede reducir las infecciones. Es más, estimulando la vasodilatación y la proliferación celular, puede traer consigo una rápida curación. Este tratamiento no daña el peritoneo, como pudimos observar tras probar la insuflación de hasta 300 ml de gas en cavidad peritoneal en conejos con concentración de ozono de 20 $\mu\text{g/ml}$. No hubo molestias en los animales, ni en el forro peritoneal hubo daños en autopsia tras 24 y 48 h. En nuestra opinión, estas vías merecen ser evaluadas en carcinomatosis peritoneal y mesotelioma pleural: insuflaciones diarias de 2-3 L de gas fueron posibles actualizando las concentraciones de ozono desde 5 hasta 10-15 $\mu\text{g/ml}$ en base a la reactividad del paciente. El ozono, durante los primeros 5-10 min., puede ser directamente citotóxico en células neoplásicas, como hacen los compuestos quimioterapéuticos, con las ventajas de evitar la quimioresistencia, sin causar efectos tóxicos, depresión en médula ósea, mucositis y con un coste mínimo. El riesgo de embolismo es prácticamente nulo y la ventaja de una hiperoxia local y transitoria no puede ser pasada por alto. Una cánula permanente de silicona puede ser insertada fácilmente permanentemente en las cavidades para una administración diaria. La diálisis peritoneal nos ha enseñado todo sobre el gran potencial que tiene la cavidad peritoneal donde normalmente 1-2 L de solución es intercambiada cada 4-6 h para eliminar los catabolitos. El ozono mata directamente las células neoplásicas, activa los macrófagos residentes y los neutrófilos, mientras que la absorción por la vía del sistema linfático de los mensajeros de ozono pueden inducir citoquinas tales como el TNF-alfa, IFN-gamma e IL-2, que pueden activar el sistema inmunitario para completar la destrucción de células cancerosas. También el preconditionamiento de ratas que han sufrido un aloinjerto cardíaco agudo con ozono intraperitoneal prolonga la supervivencia del injerto (Stadlbauer et al., 2008).

La administración intraarticular, intradiscal e intraforaminal será abordada en el contexto de enfermedades ortopédicas.

Las APLICACIONES TÓPICAS pueden llevarse a cabo, aislando las lesiones con bolsas o campanas inertes al ozono, e insuflando el gas, o mediante agua y/o aceite ozonizados.

Las afecciones nasales, tubales y orales (gingivales, mucosales y de las amígdalas) pueden ser tratadas con catéteres de silicona o metal adecuado. Si se usa el gas, un volumen de aproximadamente 20 ml (concentraciones de ozono desde 5 hasta 20 $\mu\text{g/ml}$) pueden ser suficientes, pero el paciente, tras inspirar profundamente, ha de permanecer en apnea durante 40-60 segundos y posteriormente espirar para expulsar los residuos de ozono. Las aftas en la cavidad oral pueden ser tratadas con mini inyecciones intralesionales de ozono (concentración: 5-10 $\mu\text{g/ml}$) seguido de una aplicación tópica diaria de aceite ozonizado. Hasta ahora está de moda usar una campana de silicona que contenga y exponga una lesión por herpes a ozono durante 20-30 segundos. La aplicación de aceite ozonizado en la lesión es mucho más práctico y económico.

El tratamiento con ozono de infecciones crónicas rectales y vaginales (bacteriana, viral, fúngica y protozoaria), resistente a tratamientos convencionales, responden muy bien a la ozonoterapia. Tras insertar aproximadamente 10-20 cm de catéter de silicona (lubricado con gel de silicona), se puede comenzar a limpiar las cavidades con abundante agua ozonizada para eliminar las secreciones purulentas. Entonces, podemos insuflar 50-300 ml de gas (para cavidades vaginales o rectales, respectivamente) durante unos minutos, teniendo cuidado de bajar la concentración de ozono a medida que la infección disminuye. Los pesarios y supositorios vaginales y rectales de aceites ozonizados, se pueden aplicar antes del descanso nocturno. Una estrategia similar puede ser utilizada para tratar infecciones uretrales o de la vejiga, teniendo en cuenta la reducción de las concentraciones de ozono entre 3 y 10-15 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente.

Las aplicaciones cutáneas se contemplan para todo tipo de infecciones (desde dolor hasta úlceras diabéticas, quemaduras, picaduras de insectos y medusas), accidentes y traumatismos. El gas puede usarse pero la lesión ha de ser sellada herméticamente mediante materiales ozono resistentes para prevenir la fuga de ozono. Para extremidades suelen usarse bolsas flexibles y para otras zonas se usan campanas con dos conexiones para aplicar vacío y ozono. Con las cápsulas a vacío se puede, según Wekmeister (1995), favorecer la hiperemia, lo cual es también conveniente. En estos casos, el médico necesita un generador de ozono equipado con una bomba de succión con un destructor de ozono catalítico. Si una exposición dinámica no es factible, el sistema estático se puede conseguir mediante una bolsa de polietileno sellada con cinta adhesiva ancha, sin ser demasiado ajustado para prevenir la estasis venosa. También se puede aplicar dos veces al día una compresa mojada con agua ozonizada durante aproximadamente 20 min y aplicar el aceite ozonizado durante la noche.

Nadie pone en duda la potente actividad desinfectante del ozono (probablemente ligeramente inferior al yodo, que es de hecho demasiado agresivo en los tejidos) con respecto a bacterias Gram negativos y positivos, virus, protozoos y hongos. El tratamiento simple y económico con agua y aceite ozonizados es bien tolerado, no tienen efectos nocivos y el tiempo de curación es mucho más corto que cualquier tratamiento convencional. La última ventaja es debida al número concomitante de factores tales como la desinfección, la vasodilatación y la oxigenación con la normalización de tejido con acidosis y reabsorción del edema (Bertolotti y Izzo, 2006; Borrelli et al., 2008; Faus Vitoria, 2008). La secuencia teórica de la curación de heridas ha sido esquemáticamente representada para que tenga lugar en tres etapas (Martin, 1997).

El esquema presentado en la Fig. 5.1 muestra las tres fases: la Fase I muestra la inflamación, que normalmente tiene una duración de 2-3 días. La infección bacteriana sucesiva tras un trauma, diabetes, isquemia local y posible resistencia antibiótica, puede volverse crónica a menos que intervengamos con la ozonoterapia. La Fase II corresponde a la etapa intermedia y dura normalmente 2 semanas. Estimula la síntesis de matriz extracelular (fibronectina, colágeno III/I, ácido hialurónico y condroitín sulfato), y está acompañada por la proliferación activa de fibroblastos y queratinocitos. El uso de aceite ozonizado no solo previene la infección, sino que estimula la reconstrucción inicial de tejido. La restitución ad integrum, esto es, la Fase III, incluye la curación final y la remodelación del tejido cicatrizado. Puede requerir un tiempo largo para los ancianos y/o pacientes diabéticos.

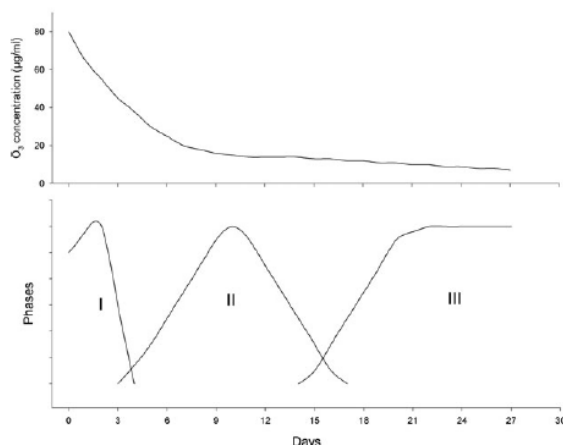


Fig. 5.1 Las tres fases de la curación de heridas (Bocci, 2011). En la primera (I) fase, la inflamación prevalece, con la presencia de neutrófilos, macrófagos, mastocitos, plaquetas, bacterias y toxinas. La aplicación de ozono inhibe la infección y promueve la segunda (II) fase, que dura aproximadamente 2 semanas. Durante esta fase, la aplicación constante de ozono con concentraciones más bajas progresivamente no sólo previene la infección pero estimula la proliferación celular, la síntesis de fibroblastos y queratinocitos. La restitución ad integrum, esto es, la completa reconstrucción de la herida, ocurre durante la última fase (III).

Por la experiencia, la curación exitosa y relativamente rápida de úlceras necróticas en pacientes arteriopáticos, diabéticos e inmunodeprimidos se puede conseguir mediante tratamiento parenteral (autohemoterapia), y con la aplicación apropiada de una disminución progresiva de concentración de agua y aceite ozonizados. El control estricto de la glucemia y la

combinación de estas terapias parece que actúa sinérgicamente. El uso tópico de antibióticos y factores de crecimiento son muy caros y, a menudo, inefectivos.

5.1 Conclusiones.

Se han señalado la variedad de vías de administración de ozono. A pesar de la toxicidad intrínseca por vía respiratoria (que está totalmente excluida), si se usa con dosis juiciosas, el ozono es un agente versátil, que puede ser sorprendentemente útil en varias enfermedades. Incluso en infecciones locales o neoplasias y en ubicaciones oral-nasal-faríngea puede ser tratada, siempre que el paciente pueda permanecer en apnea durante unos 40 s o haya sido intubado. Debido a las falsas afirmaciones de los curanderos, de que la administración directa IV de gas puede curar las infecciones por HIV, esta vía, como hemos comentado, se ha de proscribir, pues hay muchos otros métodos más seguros para la administración de ozono.

Con respecto a la administración subcutánea (SC), los médicos que tratan lipodistrofias deben inyectar pequeños volúmenes (1-2 ml) de gas (concentración de ozono: 2-3 µg/ml) en múltiples sitios hasta un total de 80-100 ml por sesión. Durante el descanso sucesivo de aproximadamente 30 min, se puede masajear con aceite ozonizado en las zonas inyectadas. Con este procedimiento nunca se ha presentado ningún efecto secundario negativo, aún tras la inyección distribuida de 300-400 ml de gas. Las administraciones intraperitoneales e intrapleurales han sido aplicadas escasamente, pero son de gran interés para tratar peritonitis que amenazan la vida, empiema, carcinomatosis peritoneal y pleural y hepatitis crónica viral en pacientes bajo tratamiento de diálisis peritoneal.

Accidentes y traumas, quemaduras y todo tipo de infecciones cutáneas crónicas pueden ser tratados correctamente con agua y aceite ozonizados que, comparado con las cremas convencionales, merecen gran atención. El uso tópico en úlceras crónicas presentes en pacientes diabéticos y ancianos permite una rápida curación.

Capítulo 6

Las tres modalidades terapéuticas sistémicas.

La administración parenteral de ozono puede representar la clave para resolver algunos problemas médicos cuando la medicina alopática ha fallado, ya que permite administrar dosis lo suficientemente "altas", como para lograr los efectos beneficiosos deseados.

6.1 Autohemoterapia mayor ozonizada (MO-AHT).

Este término indica el clásico procedimiento por el cual un volumen concreto de sangre se extrae de una vena periférica, luego es expuesto a oxígeno-ozono durante cerca de un minuto (según el dispositivo empleado) y reintroducido por la misma vía, (MO-AHT) o bien por vía IM (autohemoterapia menor) en el donante. "Mayor" y "menor" sólo se distinguen por el volumen diferente de sangre: 50-225 ml para el primero y 5-10 ml para el segundo. La idea original de exponer sangre ex vivo a una mezcla gaseosa fue propuesta por Wehrli y Steinbart (1954), quienes publicaron el método de sangre irradiada con luz UV en presencia de oxígeno puro. Este procedimiento, denominado HOT (Terapia de Oxidaciones Hematógenas), ya no se usa debido a la incertidumbre con respecto a la concentración real de ozono durante la

irradiación UV del oxígeno a la vez que era engorroso y arriesgado, porque la ampolla de cuarzo tenía que ser limpiada y esterilizada tras cada tratamiento. Ciertamente es que algunos casos por infección cruzada con HCV, debido a la esterilización imperfecta, tuvieron una amplia difusión y denigraron la ozonoterapia moderna (Gabriel et al., 1996). Este tipo de infecciones cruzadas graves han ocurrido en el pasado debido a la negligencia de los médicos y enfermeras y ha comprometido el progreso de la ozonoterapia. En los años 60, los generadores médicos fiables estaban ya disponibles y HANS WOLFF PROPUSO LA EXPOSICIÓN DE SANGRE DIRECTAMENTE A OXÍGENO-OZONO, con la ventaja de saber su concentración exacta. En 1974, se reportó que él utilizó este método en muchos pacientes, sin problema alguno.

Para la introducción del ozono en la sangre extraída del paciente se han utilizado históricamente diversos sistemas, algunos de los cuales presentan ciertos riesgos y/o excesiva manipulación. Ejemplo de ello han sido los sistemas que utilizan bolsas blandas, como las empleadas para la conservación de sangre de banco, y que conllevan la gran desventaja de contener gran cantidad de plastificante, principalmente alrededor de 43% de ftalatos (Valeri et al., 1973; Lewis et al., 1977; Lawrence, 1978; Thomas et al., 1978; Callahan et al., 1982; Labow et al., 1986; Whysner et al., 1996). Se ha demostrado que la interacción del ozono con el plástico de estas bolsas provoca que se desprendan partículas de las mismas y acelera la disolución parcial de los ftalatos en la sangre, que luego se reinfundirán al paciente, y cuyas consecuencias, en ambos casos pueden ser preocupantes. De hecho, en Italia, donde se generalizó en cierta medida el empleo de estas bolsas en los años 90, llegó a reportarse en algunos casos una mal llamada "alergia al ozono" (lo cual es difícil, debido a la simplicidad e inestabilidad de la molécula), cuando probablemente los causantes de algunas reacciones de febrícula y malestar fueran debidas realmente por los factores anteriormente mencionados. Además, el uso de bolsas blandas alarga sensiblemente el proceso de extracción de la sangre, dado que en la práctica las palomillas que se emplean para ello deben ser de un grosor no mayor de G21 ó G19 (1,1 mm) como máximo.

Por fortuna, hacia el año 2000, se habían desarrollado nuevos contenedores de plástico, sin plastificantes, inertes al ozono y más sólidos y seguros, contando con la certificación CE para su uso exclusivo en la MO-AHT. Con ellos, la reacción de "alergia" ha desaparecido, debido a la ausencia de ftalatos y la ausencia de liberación de micropartículas de plástico.

En la actualidad coexisten principalmente 3 sistemas, que son circuitos cerrados, mono uso y desechables:

1- Un sistema estéril y desechable consistente en una bolsa de plástico libre de ftalatos que viene junto a un sistema de transfusión convencional para la extracción-infusión de la sangre previamente anticoagulado con citrato sódico y las agujas necesarias para realizar el procedimiento. (Fig. 6.1). Existen varios modelos, todos ellos homologados para su uso en MO-AHT por diferentes organismos notificados.

2- Un recipiente plástico rígido en envase estéril, diseñado especialmente para ello, con 2 vías diferenciadas, una para la sangre, con su correspondiente filtro anti-coágulos, y otra para aplicar vacío y ozono alternativamente, directamente desde la máquina de ozonoterapia. El vacío puede aplicarse controladamente y medirse con las máquinas modernas, lo cual facilita grandemente la extracción de la sangre y permite que el tiempo total para la realización de un tratamiento completo sea menor de 15 minutos. Igualmente, el ozono que se introduce posteriormente es medido en tiempo real (Fig. 6.2). El dispositivo también está específicamente homologado para MO-AHT.

3- La tradicional botella de vidrio con vacío pre-aplicado en fábrica, y en la cual se conectan equipos de transfusión convencionales para la extracción-infundirse de la sangre, y jeringas con agujas para la introducción del ozono (Fig. 6.3). Como anticoagulante en este sistema suele utilizarse disolución estéril i.v. de citrato de sodio al 3,13 %, en ampollas mono dosis de 10 ml., cuyo efecto anticoagulante es efectivo sólo in vitro, y desaparece al infundirse y diluirse en el torrente sanguíneo. Es seguro para prácticamente todos los pacientes, incluso los que ya están bajo tratamiento con anticoagulantes (Warfarina, heparina, hirudina), fármacos antiagregantes (aspirina, dipiridamol, ticlopidina, clopidogrel) o agentes trombolíticos

(estreptoquinasa, activador del plasminógeno tisular) o pacientes con enfermedades hepáticas y un nivel de protrombina bajo. También puede emplearse como anticoagulante la heparina, pero el uso de la misma repetidamente podría agravar la discoagulación y causar hemorragias severas. Sin embargo, teniendo en cuenta las restricciones anteriormente mencionadas, únicamente tras un análisis minucioso del paciente, el médico puede elegir el anticoagulante más idóneo.

Se han intentado diversas modificaciones para la administración de ozono en la sangre que deberían ser mencionadas brevemente: la primera modificación (patentado en USA) utiliza fibras capilares huecas, (como los filtros para hemodialisis) y es cara e innecesariamente compleja, por lo cual ha fracasado. El segundo sistema fragmenta el gas en pequeñas burbujas a través de la sangre, aduciendo que esto aumenta la velocidad de absorción del ozono en la sangre. Pero hay que respetar la velocidad de infusión del ozono en el frasco indicada por el fabricante porque un exceso de burbujeo produce un cierto grado de hemólisis y mucha espuma.

El volumen de sangre a extraer para la ozonización ha de ser flexible y tener relación con la masa corporal del paciente así como con su estadio y tipo de enfermedad. El consenso internacional (Klein, Anstee, 2014) sobre la cantidad máxima de sangre que se puede extraer con mínimo riesgo de desmayo o complicaciones hipovolémicas es un 13% del total teórico de la volemia, según la fórmula:

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

Debemos ajustar la cantidad en función de la hemoglobina y del estadio cardiovascular del paciente. Buscando un margen amplio de seguridad que evite complicaciones por la hipovolemia transitoria, no más de 225 ml de sangre (para un individuo de 75 kg supone un 30% de la cantidad máxima segura para una extracción) deberían ser extraídos a un recipiente estéril, inerte al ozono, de al menos el doble de capacidad del volumen de sangre extraído, o un kit homologado para MO-AHT. En Europa, muchos consideran que como máximo 100 ml de sangre es óptimo, aunque considerando la tendencia a relacionar la dosis con el peso corporal, pensamos que 100-150 ml son volúmenes adecuados para una persona de 75 kg. Para un individuo de 100 kg, la cantidad aconsejada sería 130-200 ml, mientras que para una persona de 50 kg, serían 70-100 ml, dependiendo siempre de la enfermedad a tratar y las condiciones generales. Es evidente que el ozono administrado en cualquiera de estos volúmenes de sangre genera mensajeros cruciales, como las ERO, LOPs, metabolitos intermedios y autacoides que se diluyen, degradan y excretan pero que, tras interactuar con células, expresan importantes efectos farmacológicos siempre que superemos los 4 mg de ozono, como mencionamos en el capítulo 4..

La aproximación estándar consiste en realizar 2 o 3 tratamientos semanales, durante 10-15 sesiones. Este programa es práctico, evidentemente muy efectivo en la inmensa mayoría de los pacientes, pero puede modificarse para satisfacer necesidades individuales.

La reinfusión correcta de 100 - 225 ml de sangre más el 10% en ml de la solución de citrato suele durar entre 5 y 15 min, según la cantidad y el paciente, sin ningún problema ni complicación, porque es sangre autóloga recién extraída. No obstante, debemos chequear con cuidado la hemostasis y evitar la extravasación hemática, que podría comprometer la continuación de la terapia.

Una cuestión importante a destacar es que, en los últimos 15 años, durante la realización de decenas de miles de tratamientos que se han reportado en trabajos presentados en múltiples congresos del sector, y que se han publicado internacionalmente, tanto en España, como en muchos otros países de Europa, tales como en Alemania, Italia, Austria, Suiza, Portugal, etc., nunca se han referido efectos secundarios de importancia. Raramente podría producirse, en el primer tratamiento a un paciente, una especie de mareo leve transitorio, similar al de una hiperventilación brusca. Esto podría estar relacionado con el aumento transitorio de la cantidad de oxígeno transportado a los tejidos que produce la MO-AHT.

6.2 Autohemoterapia ozonizada menor.

En los años 50 se usaban inyecciones intramusculares tanto de sangre recién extraída autóloga como de leche estéril como inmunomoduladores inespecíficos. Esta práctica es muy vieja y se utiliza aún sin ozono (Olwin et al., 1997). Wolff pudo tener la buena idea de ozonizar la sangre, con la esperanza de activar sus componentes.

El procedimiento técnico es empírico y simple: primeramente, se extrae sangre periférica (5 ml) en una jeringa de 10 ml y acto seguido, mediante una llave de paso de dos sentidos, se añade un volumen igual de oxígeno-ozono filtrado a una concentración de ozono entre 40 y 80 µg/ml dependiendo del alcance del tratamiento y la enfermedad. Uno puede también extraer primero 5 ml de gas del generador de ozono y después sacarle al paciente 5 ml de sangre con la misma jeringuilla. En ambos casos, la sangre, mezclada con el gas, absorbe y reacciona inmediatamente con el ozono. Tras desinfectar la piel de las nalgas y chequear que no se ha penetrado un vaso sanguíneo, se inyecta la sangre ozonizada en los músculos de las nalgas, lentamente, sin causar dolor. Podemos realizar múltiples inyecciones y/o repetirlos 2-3 veces por semana.

La lógica de este tipo inespecífico de proteinoterapia enriquecida con ozono, es hipotética y sería importante una investigación científica adecuada. Por el momento sólo se puede especular que la sangre, sin anticoagulantes, puede infiltrarse en tejido muscular o en el tejido celular subcutáneo y puede llegar a coagularse debido a la activación plaquetaria y de la protrombina. Si retrasamos demasiado la inyección, la sangre podría coagular en la jeringa.

Procesos diversos, como la fibrinólisis, la reabsorción vía vasos linfáticos y una reacción inflamatoria pueden tener lugar ocasionalmente por una ligera hinchazón en el punto de inyección, como lo indican varios pacientes durante los días subsiguientes. Compuestos quimiotácticos liberados en el lugar de inyección pueden estimular la infiltración local de monocitos y neutrófilos, que absorben los eritrocitos hemolizados y las proteínas desnaturalizadas. Los monocitos activados y los linfocitos pueden liberar interferones e interleucinas, regulando la respuesta fisiológica de la citoquina (Bocci, 1981c, 1988a). Por tanto, es muy interesante evaluar los parámetros inmunológicos y determinar si hay una inducción simultánea de la hemo-oxigenasa I (HO-1) y otras proteínas de choque térmico (Tamura et al., 1997), que pueden mejorar la reactividad inmunológica y explicar los efectos beneficiosos.

La autohemoterapia menor es fácil de llevar a cabo, atóxico, económico y, si pudiéramos realizar un ensayo clínico controlado, podría convertirse en una herramienta útil para alguna afección. Hasta ahora sólo tenemos datos anecdóticos de pacientes con herpes I y II, herpes zoster agudo y neuralgia post-herpética (Konrad, 2001).

El problema de las nuevas vacunas está convirtiéndose en urgente y se ha propuesto ya el uso de ozono como un agente capaz de eliminar la infectividad, mientras se mejora la inmunogenicidad frente a un patógeno (Bocci et al., 2009b).

No se han registrado efectos secundarios con la autohemoterapia menor, a pesar de una amplia experiencia.

6.3 Insuflación rectal con Oxígeno-Ozono (IR).

Payr y Aubourg, en 1936, fueron los primeros en emplear la insuflación de esta mezcla gaseosa en el colon-recto y hoy en día esta aproximación está siendo adoptada en Cuba, porque es fácil de realizar con muy pocos medios, muy barato y prácticamente sin riesgos. En varios estados de los E.E.U.U., muchos pacientes con SIDA solían realizarse su propia autoinsuflación utilizando un generador de ozono portátil impreciso. En California,

Carpendale et al. (1993) fueron capaces de realizar un estudio en pacientes con SIDA con diarrea profusa debido a infecciones oportunistas de *Cryptosporidium*; y como se esperaba, reportaron una mejoría temporal en algunos de los pacientes. Carpendale era un científico clínico y recurrió al ozono como última alternativa en pacientes desesperados. La diarrea disminuyó, pero no era curada, como éticamente indicó el propio autor..

El campo principal de aplicación es representada por los abscesos anales y rectales con fístulas, proctitis, colitis bacteriana y ulcerativas, enfermedad de Crohn y hepatitis viral crónica B y C. Incluso enfermedades isquémicas y demenciales han sido tratadas con IR, ya que fue postulado para tener un efecto sistémico. De hecho un efecto sistémico parece ser apoyado por estudios en ratas (León et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez et al., 2004), en los cuales se demostró que con la IR durante 2 semanas se alcanza la homeostasis redox celular.

Aunque cada año se realizan cientos de miles de tratamientos, no está claro cómo afectan los gases administrados por vía intestinal y si podrían afectar algunos parámetros fisiológicos, bioquímicos e inmunológicos. Aunque la corriente principal de aplicación del ozono sistémico sea la MO-AHT, y que la medicina oficial, como es frecuente, menosprecia este tratamiento empírico, hemos considerado que era importante analizar, respecto a la IR, las cuestiones siguientes:

¿Cómo son absorbidos el oxígeno y el ozono por la mucosa intestinal?

¿Tiene la IR sólo efectos locales o sistémicos también?

Teniendo en cuenta los efectos tóxicos del ozono en el tracto respiratorio, es incierto si el ozono afecta negativamente a la mucosa intestinal.

Knoch et al. (1987) examinaron modificaciones de PvO₂ tras la insuflación rectal en conejos. Encontraron un aumento del contenido de oxígeno de un 230, 121 y 127% en la vena mesocolónica, vena porta y en el parénquima hepático respectivamente, entre 8-20 min tras la insuflación rectal de 150 ml de la mezcla de oxígeno-ozono. Los valores volvieron a la normalidad tras 50 min. Este resultado no es nuevo, porque sabemos que varios gases, tales como el dióxido de carbono, el metano, hidrógeno, oxígeno y el sulfuro de hidrógeno, tanto ingeridos como producidos por la flora bacteriana son parcialmente absorbidos, excretados o incluso exhalados con el aire expirado. Obviamente estamos interesados en el destino del ozono introducido en la IR. En el Capítulo 4, ha sido esclarecido que el ozono primeramente se disuelve en el agua pero, al contrario que el oxígeno que se difumina libremente a otros compartimentos, reacciona inmediatamente con cualquier biomolécula, particularmente PUFA produciendo ERO y LOPs. Por ello podemos determinar el destino del ozono mediante la medición de LOPs en el sistema portal intestinal y la circulación periférica. Mientras que la mucosa respiratoria está revestida por una película fina y resistente de fluidos, la mucosa intestinal está cubierta abundantemente por el glicocalix y una capa gruesa de agua que contiene mucoproteínas y otros productos secretados con una capacidad antioxidante potente (Halliwell et al., 2000). Aparte de esta capa gel-mucosa, un contenido fecal variable está presente y puede absorber la totalidad de la actividad oxidante del ozono. Está claro que este parámetro impredecible representa el punto débil de la IR, porque no podemos estar seguros qué dosis de ozono esté realmente disponible. No obstante, se pensó que valía la pena mientras se investigaba sobre conejos, si el ozono tiene, a través de los LOPs, actividad local y/o sistémica. Los resultados han sido esclarecedores y han sido reportados extensamente por Bocci et al. (2000) y Bocci (2002).

Los siguientes datos son interesantes en estos estudios:

Tras la insuflación rectal, se midió el posible incremento en el contenido de oxígeno en la vena porta (20-35 min después) y en la vena yugular (35-40 min después). No hubo variaciones significativas de PvCO₂ y de pH.

Concomitantemente, hubo un incremento de los valores de los LOPs hasta 60 min tras la insuflación gaseosa, que es cuando empezaban a declinar. Los valores eran marcadamente superiores en la sangre portal que en la sangre yugular, debido en parte a la dilución en la circulación general. En cambio, los valores obtenidos de medir la oxidación de los

grupos tiol han mostrado una tendencia opuesta, alcanzando el mínimo tras 90 min. Ambos parámetros volvieron al nivel basal, 24 h después.

Por tanto, al parecer la IR ejerce un rápido efecto local y sistémico debido a la absorción de ERO y LOPs generados por la interacción de ozono con las biomoléculas presentes en el contenido de la luz intestinal. La cantidad de ERO y LOPs absorbida es sin embargo impredecible, debido a la variabilidad en el contenido de la luz, principalmente, material fecal.

Podría pensarse que el ozono se disuelve rápidamente en el agua luminal, pero, en comparación con el oxígeno, no es absorbido porque parte de él reacciona con la capa de mucoproteínas de la mucosa o con material fecal y otra parte es reducida por antioxidantes. Los LOPs, como el oxígeno, pasan a través de la mucosa muscularis (MM) y entran en la circulación vía el sistema linfático y los capilares venosos. La conclusión es relevante y podría apoyar la tesis que el efecto beneficioso de la IR en isquemia crónica de las extremidades puede ser similar o equivalente a la MO-AHT. Si este resultado puede ser confirmado en un ensayo clínico controlado y aleatorizado, será útil para los pacientes con accesos venosos muy difíciles. Es más, explicaría el por qué la IR prolongada (hasta 13 semanas) en sujetos ancianos causa un incremento modesto en ambos ATP y 2,3-DPG en eritrocitos (Viebahn-Hänsler, 1999a, b). Estos resultados son aún más sorprendentes porque, en comparación con los volúmenes precisos y las concentraciones de ozono controladas en la MO-AHT, conocemos muy bien cómo de impreciso puede ser la aplicación IR de ozono y particularmente el volumen de gas retenido y el que actúa efectivamente en la luz.

Esto lleva a la discusión de algunos detalles técnicos en términos de volumen de gas, la concentración de ozono y el horario de administración. La IR debería realizarse tras la defecación o tras un enema, cuando la ampolla rectal está vacía. El paciente debe estar acostado de lado e intentar relajarse; la sonda (30-40 cm de largo), de polietileno inerte al ozono (la goma o el latex no deberían usarse nunca), lubricado con silicona debe introducirse lentamente unos 10-15 cm. La inserción es fácil y no debería estimular la peristalsis. En este extremo, el gas ha de ser introducido lentamente y en pasos de 50-100 ml cada 1-2 min. Si se hace muy rápidamente, el gas puede causar molestias y expulsarse rápidamente. El gas puede ser introducido vía: (a) una bomba de silicona de doble sentido conectado al gas a recoger en una bolsa de polietileno, o (b) una jeringa recubierta de silicona de 50 o 100 ml, cerrando el catéter con una pinza Klemmer tras cada insuflación. Podemos obtener un buen cumplimiento si empezamos con 100-150 ml y escalamos lentamente hasta aproximadamente 400-500 ml dependiendo de la tolerancia del paciente. Este volumen puede ser retenido fácilmente durante al menos 20-30 min. Koch et al. (1987) insuflaron hasta 800 ml en 1 min. Carpendale et al. insuflaron de 700 hasta 1300 ml de gas (hasta 30 mg de ozono diario) en pacientes con SIDA, con la esperanza que el gas pudiera difundirse a lo largo de todo el colon. El paciente debe reposar durante al menos 15 min tras la IR, para evitar la expulsión gaseosa y permitir la reacción del ozono con el contenido de la luz.

La concentración de ozono es importante para inducir efectos locales y generalizados, pero hay un consenso general que no debería exceder de 50 µg/ml., excepto en las patologías tratadas en fase de sangrado activo, donde se recomienda una mayor concentración (hasta 70 µg/ml.), que tiende a favorecer el efecto hemostático, y bajo volumen, para no distender las mucosas.

El Sistema Sanitario Público Cubano ha elegido administrar a pacientes diabéticos 200 ml de gas con una concentración de ozono de 50 µg/ml (dosis de 10 mg), en ciclos de 20 tratamientos, aplicados diariamente.

Tras millones de aplicaciones, podemos decir que la IR, si se realiza correctamente, no parece inducir efectos locales adversos. Parece razonable pensar que una dosificación sensata de ozono, la capa mucosa, el sistema antioxidante y la respuesta adaptativa de los enterocitos son responsables de la ausencia de toxicidad.

En el Capítulo 9, examinaremos brevemente la patogénesis donde la IR tiene mejor aplicación, aunque aquí es útil hipotetizar sobre los posibles efectos locales del ozono. Estos serían los siguientes:

Efectos bioquímicos. Los estudios ya citados (León et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez et al., 2004), han demostrado que la IR en ratas mejoraron la respuesta antioxidante enzimática en el hígado y riñón.

Efectos bactericidas. El colon-recto humano contiene hasta 600 g de aproximadamente 400 especies diferentes de bacterias anaeróbicas – el ozono puede parcialmente cambiar el ambiente durante un corto período de tiempo. Excepto en condiciones particulares, como en enterocolitis asociada a clindamicina (Schulz, 1986), la actividad bactericida per se es probablemente insignificante, aunque puede causar la liberación de lipopolisacáridos (LPSs) y péptidos de muramilo. Estos compuestos se encuentran entre los inductores de citoquinas más potentes y en grandes cantidades son responsables de un síndrome de shock tóxico y probablemente, la muerte. A pesar de ello, en condiciones fisiológicas, la absorción diaria de trazas de LPSs ligados a proteínas específicas y a lipoproteínas es considerada esencial para mantener la respuesta citoquina básica y un sistema inmunológico en alerta (Bocci, 1981b, 1988c, 1992c). En el último artículo en concreto, se postuló que, de alguna manera, la flora intestinal minusvalorada tiene un rol crucial inmunostimulatorio. Esta idea sigue siendo válida actualmente y es posible que la IR favorezca un ligero incremento de absorción de los LPS con la consecuencia de una activación de los linfocitos intrahepáticos, células de Ito y células de Kupffer (O-Farrelly and Crispe, 1999), que pueden cambiar la evolución de una hepatitis crónica.

Modificación del equilibrio de la flora bacteriana. Debido a la variedad de especies bacterianas esta área es compleja. La flora normal contiene *Lactobacillus* (Lb) *acidophilus*, *Lb. Bifidus*, *Lb. Fermentum*, *Lb. Casei*, *Streptococcus faecalis*, *S. Thermophilus*, *S. Bulgaricus*, *Escherichia coli*, *Proteus* y una variedad de enterococi. Las bacterias y sus productos interactúan entre ellas y con los enterocitos, células caliciformes, células enteroendocrinas (produciendo infinidad de hormonas) y tejido linfoide asociado al intestino (GALT) (Hooper y Gordon, 2001). Por otro lado, es bien sabido que los alimentos contaminados, el agua y los antibióticos pueden subvertir esta simbiosis dinámica permitiendo el asentamiento de bacterias y hongos patológicos tales como la *Candida albicans*, *C. Tropicalis*, *Torulopsis glabrata*, etc. La disbiosis sucesiva, normalmente de gran alcance, tiene consecuencias deletéreas, que van desde una enterocolitis transitoria hasta la crónica y reacciones autoinmunes que, por tanto, debemos intentar corregir con el fin de restaurar la homeostasis normal. Si la IR con una aplicación diaria de oxígeno-ozono puede reequilibrar la flora bacteriana y conducir a una inmunorreactividad normal se tendría aún que demostrar y explicar, aunque los resultados empíricos sugieren un efecto beneficioso.

Efectos sobre el GALT. El compartimiento gastrointestinal representa casi el 40% de todo el sistema inmunológico. Aparte de las famosas placas descritas por Johann Konrad Peyer (1653–1712), sobre una superficie intestinal total de unos 300 m², hay aproximadamente 1011 inmunocitos por m² y uno por cada 6-7 enterocitos.

Los inmunocitos intraepiteliales son principalmente linfocitos T, tanto α - β de origen tímico o γ - δ de origen local. Estos últimos inducen una respuesta del tipo Th-2 que es antiinflamatoria e inmunosupresiva, muy importante para prevenir la excesiva estimulación debido a antígenos alimentarios, bacterianos, virales y tóxicos. Perdue (1999) ha enfatizado que un intercambio continuo entre inmunocitos y enterocitos puede mantener una homeostasis sana y prevenir la descomposición de la mucosa e inflamación. A pesar de hipótesis interesantes (Fiocchi, 1998, 1999; van Parijs y Abbas, 1998; Okabe, 2001; Shanahan, 2002; Ardizzone y Bianchi Porro, 2002), la etiología y patogénesis tanto de la colitis ulcerosa como de la enfermedad de Crohn permanece incierto y es complicado identificar los responsables que, paso a paso, causan la enfermedad.

Durante los últimos 20 años, la medicina oficial ha hecho un gran esfuerzo en solucionar este problema complejo. Aún hoy en día, la enfermedad de Crohn sigue siendo una seria afección. D'Ambrosio (2002^a, b), en un estudio abierto, ha demostrado que la IR de oxígeno-ozono pueden llevar a una mejoría notable en estas afecciones. Si sus resultados son confirmados, ningún paciente debería perder la oportunidad, y con una base racional, de utilizar la ozonoterapia.

Finalmente, recordando que el intestino es el órgano endocrino más grande en el

cuerpo y como nuestro segundo cerebro, contiene billones de neurocitos secretores (Ahlmán y Nilsson, 2001), es posible especular que podríamos utilizar ambos IR y MO-AHT para influenciar o normalizar la neurosecreción de neuromoduladores relevantes, que pueden ser responsables de un colón irritable. El colón espástico es una enfermedad crónica difícil, con un gran coste social, que afecta la calidad de vida de mucha gente estresada en su vida diaria.

Capítulo 7

Potenciales efectos adversos y contraindicaciones de la ozonoterapia.

Una razón de la impopularidad de la ozonoterapia en el campo médico es porque la toxicidad del ozono es considerada igual a la de las ERO. De hecho, hay diferencias sustanciales porque la ozonoterapia es ocasional y puede ser controlada, mientras que la formación endógena de ERO prácticamente no sufre alteraciones a lo largo de la vida (Farber et al., 1990; Ames et al., 1993).

La topografía de la formación de ERO es asimismo diferente: las mitocondrias, que convierten el 95% del oxígeno inhalado en agua inofensiva, son la principal fuente de ERO dado que al menos el 3% del oxígeno es convertido en superóxido $O_2^{\bullet-}$ (Richter et al., 1988, 1995; Halliwell, 1994). La dismutación del superóxido por SODs (Fridovich, 1995; Carlsson et al., 1995) es la fuente de H_2O_2 , que en presencia de Fe^{2+} , puede generar los temidos radicales hidroxilos no específicos, OH^{\bullet} . Halliwell (1994) estima que un humano de 70 kg produce no menos de 0,147 mol o 5 g/día de superóxido, mientras que una MO-AHT usando el máximo de 18 mg de ozono, produciría una cantidad de superóxido equivalente a menos del 0,4% de la producción diaria mínima habitual.

Otras pequeñas cantidades de peróxido de hidrógeno son directamente generadas por oxidoreductasas conocidas como NADPH oxidasas (NOXs). Existe actualmente un consenso de que la producción normal de peróxido de hidrógeno es esencial para la vida celular y el concepto revisado es que las "especies reactivas no son meros instrumentos de sufrimiento celular, sino de una fisiología celular normal" (Forman et al., 2008).

La formación de ERO endógeno en las mitocondrias, explica el daño al ADN mitocondrial (Wiseman y Halliwell, 1996; Kowaltowski et al., 2009), que es oxidado aproximadamente 10 veces más que el ADN nuclear (Richter et al., 1988) y permanece persistentemente dañado (Yakes y Van_Houten, 1997). Por otra parte, el ozono actúa desde el exterior del plasma, que tiene una gran reserva de antioxidantes. No obstante, la dosis de ozono añadida debe alcanzar un umbral con el fin de generar H_2O_2 suficiente, del cual únicamente el 10% pasa del plasma hacia el citoplasma eritrocitario donde se activan varios efectos biológicos. Para que el ozono actúe, hemos de inducir un pequeño estrés oxidativo, calculado, transitorio y agudo que es rápidamente corregido por el sistema antioxidante. Por tanto, no hay dudas con respecto a la formación de radicales peróxido e hidroxialdehídos, mientras que las trazas de OH^{\bullet} y $HOCl$, si estuvieran presentes, son neutralizados rápidamente por una variedad de antioxidantes en el plasma. Lo que es importante destacar es que todos los componentes vitales celulares, tales como las enzimas, las proteínas, el ARN y el ADN (Van der Zee et al., 1987; Stadtman y Oliver, 1991; Ames et al., 1993), están a salvo gracias a la descomposición extracelular del ozono.

Conociendo la importancia de las lesiones oxidativas de ADN en el envejecimiento y el cáncer, no es sorprendente que se pregunte frecuentemente: ¿es el ozono mutagénico? ¿Acelera la ozonoterapia el proceso de envejecimiento?

Se ha tratado en detalle este asunto en varios artículos sobre estas cuestiones (Bocci, 1996b, 2002, 2004). Los resultados han sido normalmente controvertidos, porque algunos autores (Goldstein y Balchum, 1967; Freeman et al., 1979), trabajando con eritrocitos lavados con solución salina o cultivos tisulares sin antioxidantes, han observado daños o cambios

mutagénicos en células expuestas al ozono durante cierto período de tiempo. Una vez las células se lavan en una solución salina libre de proteínas, eliminando así los antioxidantes, ambos oxígeno y ozono se vuelven citotóxicos, como Halliwell (2003) y Bocci (Larini et al., 2003; 2004) han enfatizado. Recientemente, Galleano y Puntarulo (1995), Leist et al. (1996), Matos et al. (2000) y Dumaswala et al. (2000) han demostrado también que el daño celular y la genotoxicidad inducida por saturación de peróxido de hidrógeno o hierro o almacenamiento prolongado se evitan, si el cultivo tisular o el plasma contienen las cantidades fisiológicas adecuadas de antioxidantes.

Victorin (1992), quien ha revisado este tema, declaró que “ningún efecto citogenético ha sido reportado para las células de la médula ósea o espermatozoides, y los pocos estudios experimentales y epidemiológicos con sujetos humanos no permiten llegar a una conclusión con respecto a los efectos citogenéticos del ozono en linfocitos humanos”. El último estudio por Diaz et al. (1995) es interesante, pues se llevó a cabo en linfocitos de ocho pacientes con Retinitis pigmentosa, antes y después de 15 tratamientos con MO-AHT. Los resultados mostraron diferencias no significativas en intercambios de cromátidas hermanas (ICH), frecuencia de micronúcleos y valores de índices de proliferación entre los linfocitos control y los tratados con ozono. Por otro lado, Diaz-Llera et al. (2002) demostraron que 1 hora de exposición de SANGRE DILUIDA CON SOLUCIÓN SALINA a 5 mM de ozono induce efectos genotóxicos en leucocitos humanos. Sin embargo, durante la MO-AHT, TODA LA SANGRE ENTERA (200 ml.) se expone durante sólo unos minutos a una dosis de ozono de entre 0,08 y 0.33 mM y por esta muy inferior concentración se puede explicar porque el ozono no es mutagénico en la práctica. Un estudio cuidadoso por Shinriki et al. (1998) ha demostrado que no hay daño celular ni hemólisis de la sangre humana expuesta con esta técnica terapéutica, a concentraciones de ozono de hasta 100 µg/ml por ml de sangre (0,42 mM totales). Greenberg (1993) publicó el daño en leucocitos con concentraciones de 90 µg/ml y superiores. Este es el motivo por el que no aconsejamos concentraciones superiores a 80 µg/ml en MO-AHT.

En relación a la inducción de tumores por vía inhalatoria, se generaron adenomas pulmonares en la línea sensible A/J, pero no en ratones macho Swiss-Webster, tras 4,5 meses de exposición inhalatoria a 0,8 ppm de ozono (Last et al., 1987). Witschi et al. (1999) concluyen que los estudios en animales no apoyan la idea que el ozono sea un agente carcinogénico pulmonar.

En resumen, al parecer la ausencia de antioxidantes naturales es crítica y es la que permite cambios mutagénicos en células expuestas al ozono *in vitro* durante un período de tiempo. Tras retirar el plasma, una limpieza y una resuspensión en medio fisiológico sin o con una pequeña cantidad de antioxidantes, los eritrocitos y otras células (Larini y Bocci, 2004) se vuelven muy sensibles a incluso concentraciones muy bajas de ozono, como se ha demostrado por la hemólisis intensa o la apoptosis. En lugar de estigmatizar la ozonoterapia como tóxica, muchos de los artículos publicados (Goldstein y Balchum, 1967; Gooch et al., 1976; Freeman et al., 1979; Sato et al., 1999; Fukunaga et al., 1999), que han sido realizados bajo condiciones artificiales, que nada tienen que ver con la ozonoterapia, deberían haber resaltado la importancia de los abundantes antioxidantes fisiológicos para prevenir posibles daños.

Otro error que cometen muchos es basar sus afirmaciones sobre la ozonoterapia en experimentos realizados por biólogos celulares, (con frecuencia orientados a la toxicidad del ozono ambiental, y/o en la gran industria de potabilización de aguas con ozono) que consisten en mantener cultivos celulares bajo una exposición constante al ozono (Merz et al., 1975; Tarkington et al., 1994) a niveles muy bajos, pero durante varias horas o días. La conclusión de que el ozono es tóxico por vías terapéuticas, incluso a niveles mínimos es errónea por el nivel de antioxidantes en cultivos tisulares es mucho más bajo que en plasma y tejidos y, más importante aún, por la dosis de ozono acumulada por el largo tiempo. Aunque lo hemos mencionado en este punto, es apropiado recordar que la solubilidad del ozono es muy alta: según la ley de Henry, cada segundo el ozono se solubiliza en el agua, reacciona y desaparece, para que más ozono se solubilice y reaccione, y este proceso ocurre en algunos de esos experimentos durante días. Aunque pequeño, este suministro continuo de ozono al cultivo lleva a un incremento en la concentración de H₂O₂, OH•, 4-HNE, etc., que se mantiene y no se extingue, debido a la escasez y al agotamiento de los pocos antioxidantes, y por ello se vuelve tóxico. Por tanto, con mucho tiempo de exposición, incluso las concentraciones más bajas de ozono, es razonable que pueden resultar tóxicas.

En cambio, en las técnicas usuales de aplicación, la exposición de la sangre a oxígeno-ozono es realizada con concentraciones de ozono dentro de la ventana terapéutica y se termina tras unos pocos minutos. En esta afirmación no incluimos el uso de la solución salina ozonizada (técnica aplicada en algunos países de la antigua Unión Soviética), lo cual es un error, por la formación inmediata de hipoclorito de sodio y ácido hipocloroso HOCl, a partir del ion cloruro. Un ejemplo típico es representado por la infusión IV lenta de la solución salina ozonizada: Foksinski et al. (1999) administró en pacientes con enfermedad arterial oclusiva periférica (EAOP) 500 ml de solución salina ozonizada durante 1 h sin tener en cuenta la gran cantidad formada de HOCl; se observó un aumento de un 450% de 8-hidroxi2desoxiguanosina (8-OHdG) en el ADN aislado linfocitario de algunos de estos pacientes. El 8-OHdG es un marcador de la oxidación del ADN. Por tanto, los resultados de Foksinski deberían descartar (como se clarifica en el Capítulo 6) el uso de soluciones salinas ozonizadas. Paralelamente, los resultados terapéuticos del tratamiento fueron mínimos, en comparación con los habituales de la técnica habitual de MO-AHT, lo cual no es de extrañar, debido a que las dosis de ozono que pueden administrarse con la solución salina son extremadamente bajas. Recordemos que la capacidad antioxidante normal del plasma presente en variabilidad individual es de aproximadamente 1,3 hasta 1,8 mM (Miller et al., 1993), sumada al alto contenido de ácidos grasos insaturados en diversas formas, tanto en la sangre, como en prácticamente todos los tejidos, que protegen sobradamente a las células sanguíneas y de otros tejidos durante la ozonización realizada dentro del rango terapéutico.

Un hecho reafirmante es que, tras millones de sesiones de MO-AHT realizados en Alemania, Austria, Suiza, Cuba, Italia y la propia España, no se ha informado nunca de efectos secundarios ni agudos ni crónicos, y mucho menos ningún efecto sobre la incidencia de cáncer.

En conclusión, aunque el ozono es potencialmente tóxico y mutagénico hasta ahora, nuestros datos experimentales y la evidencia clínica no han mostrado riesgo alguno. Un estudio de tesis doctoral de Jacobs (Alemania, 1982) examinó con detenimiento todos los efectos negativos posibles de la ozonoterapia en una muestra de millones de tratamientos. A pesar de la famosa "toxicidad" del ozono, al parecer la incidencia de únicamente 0,0007% es de las más bajas en medicina. Cuatro fallecimientos por la inyección directa IV del gas (actualmente proscrita) fueron incluidos en los datos, por ello desde 1982, todas las Sociedades de Ozonoterapia han desaconsejado o prohibido esta vía. Después de esto, sólo ocurrieron 3 casos en Italia debidos a esta mala práctica en los primeros años 90, por la inyección directa IV del gas, realizadas en cabinas de estética, aplicadas por personal no profesionalmente cualificado, que condujeron a una prohibición temporal en este país, hasta que se aclaró la causa real de los fallecimientos.

En Cuba, la MO-AHT comenzó a aplicarse en 1986 en un Hospital Público (Instituto de Angiología y Cirugía Vasculor), y se extendió en pocos años a 15 Hospitales más, hasta 1993, en que la profundización de su crisis económica provocó la carencia del material necesario, y la sustitución progresiva de esta vía por la IR. Durante todos los años en que se realizaban cientos de tratamientos diarios, nunca se produjo ningún accidente, ni se reportó ningún efecto secundario relevante. También debe tenerse en cuenta la experiencia Italiana: en el Congreso de Verona (1999), el Dr. Giuseppe Amato, quien ha trabajado siempre en el Hospital in Conegliano (Veneto) y es un médico escrupuloso, informó de únicamente efectos secundarios menores y sin secuelas en miles de pacientes tratados con ciclos de MO-AHT durante varios años. La experiencia del Prof. Bocci en el Hospital de la Universidad de Siena es también significativa: entre 1995 y 2000, realizaron unas 8.000 MO-AHT en pacientes con ARMD (Degeneración Macular asociada a la edad) y aproximadamente 100 pacientes con fibromiositis, así como incontables aplicaciones tópicas en úlceras crónicas de los miembros, aplicaciones directas intradiscales, e indirectas (infiltraciones con oxígeno-ozono en los músculos paravertebrales) en aproximadamente 80 pacientes con dolor de espalda, etc.

En primer lugar, sobre los efectos secundarios que pueden producirse durante y tras las MO-AHT, en muy pocos casos se pueden manifestar, casi exclusivamente sólo en el primer tratamiento, efectos transitorios leves de algo similar a una hiperventilación (que puede producir hormigueo, rampas, mareos, sensaciones de frío o calor, tensión muscular, piernas débiles, dificultades de visión, palpitaciones, temblores, etc.), lo cual tiene sentido, principalmente, en pacientes que inician el tratamiento en condiciones en que su organismo se ha venido adaptando a una condición crónica de oxigenación deficiente. Es conocido que la

aplicación de la MO-AHT conlleva un aumento sensible, aunque transitorio al inicio, de la pO₂ arterial, y esta podría ser la causa más probable de una aparente hiperventilación, con los mencionados efectos transitorios iniciales. También, en algún caso, podría atribuirse a un efecto similar a la lipotimia, posiblemente relacionada con la ansiedad que puede producir el procedimiento en algunos pacientes, sobre todo cuando la extracción y/o retransfusión se demoran demasiado, ya sea debida a poca permeabilidad de la vena, o a que se extraiga un volumen demasiado grande de sangre, causando cierto efecto de hipovolemia.

Durante los años 80 y principios de los 90 se extendió en Italia y en algún otro país, el empleo de bolsas blandas de conservación de sangre para la MO-AHT. Durante esa época se reportaron con mayor frecuencia ciertos efectos secundarios. Como ejemplo, el grupo muy activo del Prof. Bocci, de la Universidad de Siena, reportó cierta incidencia de efectos como: sensación de hormigueo en los labios y en la lengua, náuseas, sentimiento de distensión abdominal y sabor metálico extraño en la boca, sensación de cansancio, etc. Ocurrieron inclusive algunos episodios de rash cutáneo eritematoso, con picor, náuseas, sofocos y ligera hipotensión.

En el año 2000 este mismo grupo reportó, por primera vez, que las bolsas blandas de PVC para conservación de sangre, bajo la acción del ozono, podían liberar partículas y aditivos tales como estearato de zinc, etil hexanoato-2-Zn, presentes en aditivos de bolsas de PVC, plastificantes como los ftalatos, unidos a lipoproteínas y otros componentes aditivos de este tipo de PVC, y que éstos podrían ser los causantes de la mayor parte de los efectos secundarios observados. Además, estas bolsas contenían un exceso de CPD (citrato-fosfato-dextrosa) como anticoagulante, que, por ser excesivo, podía causar efectos de hipocalcemia ligera transitoria, con efectos secundarios indeseables. A partir de entonces, adoptaron exclusivamente el uso de materiales homologados resistentes al ozono, y posteriormente reportaron que:

“TODOS LOS EFECTOS ADVERSOS MENCIONADOS ANTERIORMENTE HAN DESAPARECIDO Y NO HAN APARECIDO DE NUEVO. ES MÁS, LA INTOLERANCIA-PSEUDOALÉRGICA NO SE HA OBSERVADO DE NUEVO”.

POCO DESPUÉS, EL USO DE BOLSAS DE PVC NO HOMOLOGADAS PARA MO-AHT FUÉ PROHIBIDA POR EL MINISTERIO DE SANIDAD EN ITALIA.

Por el contrario, el efecto más común entre los pacientes que reciben MO-AHT es una sensación de bienestar, que suele aumentar con el progreso del tratamiento.

Hoy en día el ozono se usa ampliamente en patologías ortopédicas, particularmente en caso de dolores de la zona lumbar, para lo cual se suele inyectar una mezcla gaseosa de oxígeno-ozono en puntos estratégicos detectables en los músculos paravertebrales de los pacientes. Bocci define el término “acupuntura química” (Bocci, 1998a) y aporta una explicación razonable de que el ozono actúa en nociceptores locales y evoca una respuesta antinociceptiva rápida y efectiva (en aproximadamente 2/3 de los pacientes) a través de mediadores químicos. Mientras que la inyección directa de oxígeno-ozono intradiscal (para degradar los proteoglicanos en discos herniados) debe permanecer en manos de ortopédicos y neurocirujanos, muchos otros médicos emplean el método indirecto, o de infiltraciones paravertebrales para el tratamiento del dolor.

Inmediatamente tras la inyección IM, el ozono se disuelve localmente en el agua del intersticio y genera varios ERO: si, en la primera administración, la concentración de ozono es de 20-25 µg/ml, el volumen gaseoso excede los 10 ml y se infiltra rápidamente, un dolor muy agudo puede ocasionar un hipertono vagal (efectos inotrópicos y cronotrópicos negativos) y el paciente podrá sufrir lipotimia transitoria (bradicardia, hipotensión, perspiración profusa, pérdida de conciencia transitoria, etc.). Por tanto, es aconsejable practicar la “acupuntura química” con la precaución usual e inyectando el gas muy lentamente. Es aconsejable recordar al paciente que el dolor será soportable y únicamente durará unos minutos. En general, la mejora del dolor de espalda supera a la del dolor terapéutico transitorio, por lo que el cumplimiento es satisfactorio. Con una inyección adecuada, el riesgo de embolismo por oxígeno es nulo y sólo se ha reportado un caso de hematoma subcutáneo (Fabris et al., 2001). La inyección directa intradiscal puede presentar varios efectos adversos leves y, raramente, una cefalea transitoria.

Si la ozonoterapia se realiza correctamente, no tiende a causar problemas, pero el médico debe ser capaz de superar cualquier emergencia con Soporte Vital Básico y tener a mano los medios que usualmente deben estar presentes en los consultorios (Cummins, 1994).

Por otro lado, la ozonoterapia obtiene también efectos secundarios positivos generales: aproximadamente 3/4 de los pacientes, particularmente aquellos que se sienten depresivos y asténicos, informan de una sensación de bienestar y euforia tras unos tratamientos, así como refieren un sueño más reparador; también se observa, generalmente a partir de cierta edad, aumento de la capacidad física, disminución del stress, mejora del apetito, etc.

7.1 Ozonoterapia y Tratamientos Convencionales.

Antes de comprometerse con la ozonoterapia, el médico ha de conocer todo el historial médico del paciente y los medicamentos en uso actualmente. Mattassi et al. (sin publicar), ha observado una hipotensión aguda repentina en los pacientes tratados con IECA (inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina) y que han sido sometidos a una reinfusión de sangre ozonizada rápida. Este efecto puede ser debido a la activación de la cascada calicreína-kininogeno, como informa Shiba et al. (1997) y Abe et al. (1998). Sin embargo, la bradiquinina del plasma se degrada en minutos y una reinfusión muy lenta reduce su efecto adverso. Bocci confirmó las observaciones de Mattassi en dos pacientes, por lo cual se puede sugerir lo siguiente en estos casos: primeramente, avisar al paciente de omitir la toma de los IECA el día del tratamiento de MO-AHT; en segundo lugar, enlentecer la infusión de sangre y tercero, tener preparado un medicamento vasopresivo.

7.2 Contraindicaciones para la Ozonoterapia.

Esto es especialmente importante para la terapia sistémica en casos muy específicos, en los que el riesgo de la ozonoterapia debe ser contrapesado con la condición clínica del paciente. Además, las siguientes situaciones desaconsejan o limitan su uso:

Pacientes con déficit importante de G-6PD. El Favismo es una enfermedad hemolítica observada en algunas personas que tienen carencia de esta enzima. Esta enzima suministra equivalentes reductores cruciales capaces de eliminar la oxidación excesiva y la hemólisis intensa (Capítulo 4). Por otra parte, Miller et al. (1993) tras medir el estado antioxidante total en un gran número de Europeos han encontrado valores estables, que excluyen una depleción significativa durante la ozonoterapia. Esta es la razón de porque la ozonoterapia sistémica es muy bien tolerada por la inmensa mayoría de pacientes (Bocci, 2007a).

Embarazo, especialmente en la fase temprana, para excluir el riesgo mutagénico, aunque según los numerosos estudios preclínicos en animales es muy improbable.

Situaciones anormales de hipertiroidismo, trombocitopenia, trastornos de la coagulación no controlados y seria inestabilidad cardiovascular.

Por último, pero no menos importante, hace algunos años, ante la necesidad de clarificar la controversia sobre la toxicidad del ozono, el Prof. Bocci publicó un artículo cuyo nombre era claro: “¿Es cierto que el ozono es siempre tóxico? El fin del dogma” (Bocci, 2006b). La dudosa reactividad fuerte del ozono y su toxicidad para el sistema respiratorio durante una exposición prolongada a aire contaminado había contribuido a establecer el dogma de que el ozono es siempre tóxico y consecuentemente su uso había sido evitado en la medicina. Sin embargo, durante los últimos 20 años, un claro entendimiento de la acción del ozono en la biología y medicina ha aclarado que el dogma no es del todo cierto. Ha parecido esencial comparar la topografía, la anatomía y las características bioquímicas de los órganos expuestos

al ozono frente a la potente capacidad antioxidante de la sangre expuesta a una dosis pequeña y precisa de ozono durante unos segundos. Es suficiente recordar que la superficie total de los pulmones humanos es de aproximadamente 70 m² y que la superficie del fluido de revestimiento epitelial (FRE) es únicamente una película líquida de un espesor de hasta 0,1 µm, por ello el volumen total es solamente de entre 17 y 20 ml, absolutamente insuficiente para proteger los alvéolos de la presencia continua de aire contaminado con ozono.

Tabla 7.1 Una comparación entre la composición de FRE y sangre en una persona normal de 70 kg mostrando diferencias importantes en la capacidad antioxidante de estos dos fluidos.

	<u>FRE</u>	<u>Sangre</u>
Volumen:	17-20 ml	Volumen plasmático: 2,7 L Eritrocitos: 2,3 kg
Proteínas totales:	7 mg/ml (total: 130 mg)	Proteínas plasmáticas totales: 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	En plasma: 3 µM En eritrocitos: 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
Glucosa:	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 refiere a “valor desconocido”

Este gas no penetra en las células, pero se disuelve fácilmente y reacciona con la fina capa de agua generando moléculas tóxicas y causando inflamación, estableciendo así un círculo vicioso con daños locales y generalizados. Sin duda el FRE, conteniendo únicamente una cantidad pequeña de antioxidantes protectores, es incapaz de neutralizar el ozono. (Tabla 7.1). Por el contrario, tanto la sangre como los fluidos extravasculares están constituidos por grandes volúmenes de líquidos y contienen una fuente abundante de antioxidantes y ácidos grasos insaturados suficientes para neutralizar una pequeña dosis de ozono. Es también instructivo examinar la Fig. 7.1, que muestra cómo el sistema respiratorio sujeto a la inhalación crónica de ozono constantemente libera una gran cantidad de compuestos tóxicos del organismo y esto puede explicar por qué la morbilidad y la mortalidad se han incrementado en ciudades americanas contaminadas (Bell et al., 2005; Ruidavets et al., 2005; Jerrett et al., 2009). Este artículo publicado en Toxicology and Applied Pharmacology ha recibido muchos comentarios positivos y se espera que la cuestión de la toxicidad del ozono esté definitivamente aclarada.

Capítulo 8

¿Es el Ozono Realmente una “Droga Milagrosa”?

La ozonoterapia tiene un enorme potencial terapéutico que, hasta ahora, ha pasado desapercibido a, e incluso ha sido obstruido por las autoridades médicas del mundo. Entre las razones que han influido en la subvaloración de su utilidad y en los prejuicios y la prevención subjetiva contra la misma se pueden mencionar, por una parte, la ignorancia acerca de sus características específicas, así como probablemente grandes intereses comerciales farmacéuticos contra una terapia que puede sustituir a muchos fármacos de gran consumo. Por otra parte, también es cierto que durante muchos años se vino desarrollando empíricamente,

mayormente por médicos privados, carentes de recursos y financiación para organizar estudios básicos. Afortunadamente, en las décadas de los años 80 y 90, algunas instituciones públicas, como el Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba y la Universidad de Siena en Italia, comenzaron a realizar este tipo de estudios que han sido básicos para llevar la ozonoterapia a un nivel más científico. También ha sido muy importante la labor creciente de varias asociaciones médicas europeas de ozonoterapia, que han promovido congresos, cursos y publicaciones, además de numerosos trabajos de investigación científica, y han logrado interesar también a muchas otras instituciones públicas en Europa.

Antes de examinar la utilidad del ozono en diversas enfermedades (Capítulo 9), deberíamos resumir la cantidad de efectos biológicos inducidos por este gas en el cuerpo tras la estimulación de la sangre, piel, tejido celular subcutáneo, músculos y luz intestinal. La sangre es obviamente el vehículo mejor para transmitir mensajes generados por el ozono, pero otros tejidos tienen una relevancia cooperativa.

La ozonoterapia no excluye la medicina ortodoxa, sino que, en muchos casos, se integra con ella. Existen también enfermedades vasculares, tales como úlceras crónicas y heridas que no terminan de sanar, y donde la ozonoterapia es esencial, mientras que en otras enfermedades no sólo tiene un rol útil, sino también complementario.

La vasodilatación causada por el incremento en la liberación de NO, nitrosotioles (Joyner y Dietz, 1997; Kashiba et al., 1999) y autacoides pueden salvar áreas isquémicas en las extremidades, el corazón, el cerebro, los riñones y los pulmones. Un incremento en el suministro y liberación de oxígeno y nutrientes es crucial para la recuperación de las células gravemente lesionadas, por lo que una intervención a tiempo con ozonoterapia puede evitar daños irreversibles y una posible muerte.

La liberación de un conjunto de factores de crecimiento desde las plaquetas y las células endoteliales, pueden ser responsables de la extraordinaria rapidez con que la ozonoterapia produce la curación de úlceras necróticas, particularmente mejorada por la aplicación tópica de agua y aceite ozonizados.

Se conocen bien las propiedades desinfectantes del ozono sobre la mayoría de los patógenos pero, en los países occidentales, los conocimientos sobre la utilidad terapéutica del ozono, especialmente en infecciones crónicas (abscesos importantes, peritonitis, osteomielitis, etc.) es aún mínima. ¿Cuántos miles de pacientes con shock séptico y tóxico se podrían haber salvado si los médicos hubieran aceptado tratarlos vigorosamente con terapia de ozono?

A pesar de que desde 1990 se reportaron los primeros efectos del ozono sobre la secreción de citocinas tales como el TNF- alfa (Bocci y Paulesu, 1990), queda mucho trabajo por hacer para comprender totalmente la capacidad de activación y/o el efecto modulador del ozono en el sistema inmunológico, tras varios meses de terapia. No obstante, se ha adquirido cierta evidencia de que la ozonoterapia puede ser un poderoso adyuvante para pacientes con hepatitis C, infecciones de SIDA, múltiples neoplasias, etc.

En palabras del Prof. Bocci y de otros investigadores destacados en el campo de la ozonoterapia, existen buenas razones para afirmar que la ozonoterapia prolongada puede provocar cuatro fenómenos importantes:

- (A) la inducción de proteínas de choque oxidativo (PCO)
- (B) el aumento de la presencia y actividad de muchas enzimas antioxidantes
- (C) por tanto, la reducción, si no normalización, del estrés oxidativo, y
- (D) la probable liberación de células estaminales de la médula ósea (CEMO)

Con los conocimientos biológicos actuales no son ideas descabelladas.

Con respecto a los puntos (A) y (B), la importancia teleológica de las PCO parece bien demostrada en bacterias, hongos, plantas y mamíferos. Estos resultados son realmente fascinantes (Jolly y Morimoto, 2000).

Cualquier cambio en el ambiente externo o en nuestro medio interno afecta a la homeostasis celular, pero si el estrés es tolerable o graduado en intensidad, la célula se puede

adaptar y sobrevivir. Si es demasiado violento, la célula programa su propia muerte o apoptosis (Jacobson, 1996). El gran número de tipos de estrés diferente incluye la hipertermia, hiperoxia, hipoxia, isquemia, producción excesiva de ERO y LOPs, metales pesados, etanol, hipoglucemia, modificaciones de pH, infecciones virales, bacterianas y parasitarias, antibióticos, malignidad, radiación, inhibidores metabólicos, análogos de aminoácidos y muy probablemente, estrés mental y desorden hormonal. Obviamente el OZONO HA DE SER INCLUIDO: las proteínas de estrés térmico (HSP70) se manifiestan tras la inhalación de ozono (Su y Gordon, 1997) y una atenuación de la inflamación inducida por ozono ha sido documentado tras una exposición diaria repetida (Christian et al., 1998). En relación a la variedad de estrés, la célula aumenta o sintetiza probablemente cientos o más proteínas nuevas como los HSPs (Proteínas de choque térmico), las proteínas reguladas por glucosa (GRPs) y PCO, que permiten a la célula resistir contra tipos de estrés nuevos y más intensos. Se ha observado que en el campo de las citocinas, hay una aparente redundancia, con el objetivo final de establecer una “tolerancia al estrés” y asegurar la supervivencia celular. Ya Paracelso (1493-1541) tenía esta intuición y en “Naturaleza de la Enfermedad” escribió que “el cuerpo posee el arte de destruir, pero también de recuperar la salud”. El enfoque farmacológico moderno, aunque útil, puede ser demasiado restringido.

El futuro de la ozonoterapia se apoya, en parte, en las PCO, pero será necesario demostrar lo mejor que se pueda, su relevancia y su amplitud. El concepto es antiguo y se ha nombrado de diferentes maneras, sólo porque se ha observado en diferentes condiciones patológicas: Murry et al. (1986) fueron los pioneros en el concepto de “precondicionamiento isquémico” para el corazón, que tras sufrir un período breve y no letal de isquemia se ha vuelto más resistente al infarto frente a un subsiguiente insulto isquémico. Goldman (1996) introdujo el término “hormesis” para explicar el “efecto beneficioso de una exposición a bajo nivel de un agente que es dañino en niveles altos”, por ej.: dosis bajas de radiación inducen una respuesta adaptativa a dosis altas en linfocitos humanos (Olivieri et al., 1984; Wolff, 1996). Calabrese y Baldwin (2001) y Calabrese (2002, 2009) han presentado ejemplos numerosos de respuestas estimulantes debidos a estímulos por debajo de un umbral tóxico. Este concepto es el reflejo del pensamiento de Aristóteles (384-322 A.C.): “Principium quantitate minimum, potestate autem maximum”, o lo que es lo mismo: una cantidad mínima de droga (en nuestro caso el ozono) muestra efectos potentes.

Una especie de “precondicionamiento oxidativo” se ha conseguido mediante la isquemia caliente o hipertermia (Kume et al., 1996; Yamamoto et al., 2000), isquemia transitoria de la extremidad (Sun et al., 1999), MO-AHT (Bocci, 1996a, c). Numerosos estudios controlados con ozono por vía IR e IP (intraperitoneal) en animales, las cuales son mucho más simples y atraumáticas (León et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Gonzalez, 2004; Madej et al., 2007) han logrado demostrar este precondicionamiento oxidativo inducido por el ozono, en una magnitud mucho mayor, protegiendo diversos órganos, frente a daños de diversa índole. Nos enfrentamos a una paradoja real, pues el ozono, el “gas tóxico”, puede convertirse en una terapia útil, capaz de evitar y/o reajustar un estado crónico de estrés oxidativo, que de otra manera podría ser irreversible y fatal.

Existen varias patologías, tales como la arteriosclerosis, la diabetes, la isquemia, la hiperhomocisteinemia, la neurodegeneración, las nefropatías, las infecciones crónicas virales, las enfermedades autoinmunes y el cáncer donde hay un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes, que está firmemente establecido, derivando a una muerte más o menos rápida. Actualmente también estamos preocupados sobre la epidemia que es la obesidad como factor de riesgo sanitario real.

¿Cómo intenta la medicina moderna corregir esto?

Vamos considerar en primer lugar las estrategias de nuestra medicina para reducir el estrés oxidativo en estas enfermedades (Bocci et al., 2009). Debido a una gran variedad de trastornos metabólicos, buscamos:

Inhibir la xantina oxidasa para reducir la formación de superóxidos y peróxido de hidrógeno usando alopurinol (Farquharson et al., 2002).

Inhibir la NAD(P)H oxidasa (Lambeth, 2004). Una acción directa sigue siendo un problema farmacológico pendiente de resolver y es más, existe un riesgo de infección bacteriana aumentada.

Inhibir el sistema renina-angiotensina. Los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y los antagonistas del receptor Angiotensina-II son medicamentos usados ampliamente para reducir la presión sanguínea y resulta interesante que puedan reducir también el estrés oxidativo mediante la inhibición de la NAD(P)H oxidasa. Por otro lado, los inhibidores de canales de Ca²⁺, los inhibidores beta y los inhibidores de los receptores alfa adrenérgicos son antihipertensivos, pero no mejoran el estado antioxidante de los pacientes (Baykal et al., 2003). La administración de diuréticos puede ser coadyuvante, pero es transitorio.

Inhibir la 3-hidroxi-3-metilglutaril (HMG-CoA) reductasa, que es la enzima clave para la biosíntesis del colesterol. Hay en el mercado actual estatinas lipofílicas e hidrofílicas capaces de disminuir los niveles de colesterol en suero, incrementar el número de receptores LDL y modular los procesos psicopatológicos en pacientes con síndromes agudos coronarios (Spencer et al., 2004). Las estatinas han demostrado ser mucho más que agentes para disminuir los lípidos (Liao, 2002) porque, mediante el bloqueo de la síntesis de isoprenoides críticos intermediarios, expresan varios efectos tales como: la inhibición de la NAD(P)H oxidasa, incrementando la expresión de NO sintetasa endotelial y el activador del plasminógeno presente en tejidos, mientras que la expresión del inhibidor del activador plasminógeno y la endotelina-1 son inhibidos. Por tanto, la multiplicidad de efectos hepáticos y extrahepáticos, reduciendo la inflamación, la progresión tumoral (Katano et al., 2004) y una reactividad inmune excesiva (Vollmer et al., 2004) han promocionado el nivel de las estatinas a “drogas milagrosas”, comparables a la penicilina (Roberts, 1996). Las estatinas parecen también capaces de movilizar las células progenitoras de la médula ósea (Lleivadot et al., 2001) y prácticamente cada mes un nuevo efecto beneficioso es descubierto. Sin embargo, incluso con las estatinas, hay dos problemas: uno es el coste, que limita su uso a una minoría de pacientes (Topol, 2004) y el segundo es el peligro de rhabdomiólisis. El riesgo es muy bajo, pero la administración de altas dosis de estatinas puede causar este problema que obligó a las autoridades sanitarias una variante de esta familia, la cerivastatina. Con el fin de reducir el riesgo y mantener la ventaja de los niveles bajos de colesterol LDL, se ha sugerido que se asocie la Ezetimiba oral con únicamente 20-40 mg de estatinas diarias. La Ezetimiba inhibe la absorción intestinal de colesterol, pero incluso esta combinación no parece totalmente segura, porque puede ser un estímulo procanceroso y por tanto la última sugerencia es la de usar la Niacina en lugar de Ezetimiba.

Inhibir el exceso de producción de oxidantes mediante la administración de vitaminas antioxidantes o una “dieta sana” enriquecido con polifenoles y flavonoides (vino tinto, aceite de oliva, etc.). Se conoce que la administración de compuestos que contienen grupos tioles (NAC y el ácido alfa-lipoico) puede inhibir la oxidación de LDL. Esto parece una solución simple, ¿pero realmente funciona la ADMINISTRACIÓN DE ANTIOXIDANTES? Este es un tema recurrente y de moda, tratado frecuentemente por vitaminólogos y curanderos, que pueden intoxicar pacientes con megadosis de selenio, zinc, hierro y vitaminas A y E. Científicos de referencia se han cuestionado si la suplementación de antioxidantes (Terapia antioxidante, TA) reduce el daño oxidativo en humanos. La conclusión es que una dosis equilibrada puede ser esencial durante el crecimiento y es útil en condiciones de aumento del estrés oxidativo, pero hay poca evidencia que pueda ser un remedio definitivo (Hennekens et al., 1994; Packer et al., 1997; Zino et al., 1997; Clinton, 1998; Halliwell, 1999a, b; McCall and 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). Una cantidad excesiva puede modular la síntesis de HSPs y de hecho reducir la síntesis de HO-1 (Peng et al., 2000). Si tratamos el problema realísticamente, hemos de considerar:

- La incertidumbre de la absorción intestinal;
- La variabilidad individual del metabolismo y excreción;
- La absorción variable y normalmente reducida de antioxidantes por las células;

- La posible síntesis reducida de GSH (observada en la infección por VIH);
- La toxicidad potencial de dosis excesivas;
- La incapacidad de los antioxidantes de estimular la síntesis de enzimas antioxidantes;
- La incapacidad de los antioxidantes de inhibir este proceso.

Por ello el problema de la suplementación antioxidante debe ser seriamente considerada y, mientras que podría ser útil, si se administra la cantidad correcta y equilibrada, no hace milagros.

Inhibir la producción de superóxidos por administración a largo plazo de L-arginina (Enwonwu, 1989; Morris et al., 2000), que es el sustrato para la síntesis de NO.

Inhibir la producción excesiva del superóxido mediante miméticos del SOD (Fontana et al., 1999), porque la administración de un enzima exógeno, incapaz de entrar en una célula, ha demostrado ser infructuoso. La inducción del SOD mediante transferencia genética es aún una posibilidad difícil de materializar.

Inhibir el incremento de niveles de homocisteína en plasma porque la autooxidación de su grupo sulfhidrilo genera superóxidos y peróxido de hidrógeno, que pueden volverse citotóxicos para el endotelio. La hiperhomocisteinemia puede ser controlada mediante una administración de ácido fólico más vitaminas B6 y B12 (Das, 2003) y mediante el incremento del nivel de plasma de adenosina (Rixsen et al., 2003).

Inhibir la agregación plaquetaria con aspirina, clopidogrel, ticlopidina o parecidos.

Inhibir la síntesis de autacoides pro-inflamatorios mediante una administración diaria (2 g) de AGS n-3 presentes en aceite de pescado, que promueven la generación de PGs de la serie 3 y de LTs de la serie 5, que son antiinflamatorios (Belluzi et al., 1996; Mori et al., 2003).

Inhibir la hiperglicemia mediante la regulación cuidadosa de la ingesta calórica con abundancia de vegetales frescos y adoptando un estilo de vida correcto sin fumar, así como sacando tiempo para, al menos, 30 min de ejercicio físico moderado (Fontana et al., 2004).

Inhibir la inflamación usando corticosteroides y antiinflamatorios no esteroideos (AINEs). Ambos tipos de fármacos pueden usarse durante un tiempo limitado, debido a sus efectos adversos usuales.

Inhibir la formación de productos finales de glicación avanzada (AGE en sus siglas en inglés). Estos componentes tóxicos, depositados en paredes arteriales, pueden inducir un estrés oxidativo y acelerar la progresión de la diabetes tipo 2, aterosclerosis, daños renales y retinales. La hiperglicemia, la obesidad y un estilo de vida incorrecto han de ser controlados intensamente.

Hemos resumido las estrategias terapéuticas más relevantes que nuestra medicina ofrece para reducir el estrés oxidativo: con la excepción de la estatina y los agentes antihipertensivos, el uso de ambos por separado tiene poco sentido y no puede solventar el problema. Incluso si implica la toma de seis o más comprimidos, esta terapia tipo cocktail a largo plazo está recomendada a pesar de su coste. Si el paciente sigue el tratamiento, la evidencia actual es que la morbilidad y la mortalidad de pacientes realmente enfermos se ve disminuida significativamente, sugiriendo que este tratamiento multiforme puede enlentecer la involución.

¿Tiene sentido alguno recomendar la ozonoterapia? El ozono quizás no puede eliminar las causas primarias de estas enfermedades, pero si es muy capaz de revertir el estrés oxidativo crónico.

¿Puede el ozono a solas hacer tanto como todos los tratamientos mencionados

anteriormente? Hasta el presente ha sido capaz de reducir el estrés oxidativo en todos los estudios realizados en muy diferentes patologías y, al menos inicialmente, parece sabio considerar la ozonoterapia como un apoyo integrativo.

Un tratamiento de ozono transitorio, con su estrés oxidativo calculado, resulta en una especie de “ligero shock terapéutico” para el organismo en crisis. El ozono realiza este shock porque genera un número de mensajeros que pueden alcanzar todas las células del organismo. ¿Cómo puede ocurrir esto? Primeramente, es necesario distinguir entre los tratamientos locales y los parenterales. En éstos últimos, la MO-AHT, es razonablemente precisa, y tanto el peróxido de hidrógeno, como especialmente los LOPs que genera, con una vida media más larga, son los agentes más importantes de los efectos del ozono. Por ello, durante e inmediatamente tras uno de estos tratamientos, las células a través de todo el cuerpo recibirán un nuevo pulso de LOPs y autacoides generados. Como se mencionó en el Capítulo 4, estos compuestos son heterogéneos y sufren una dilución y metabolismo (Vasiliou et al., 2000). Sobre un cierto nivel podrían ser citotóxicos, mientras que bajo niveles micro- o nanomolares (que son los que proporciona la ozonoterapia) pueden reaccionar como mensajeros fisiológicos mediante interacción con varios enzimas celulares (Forman et al., 2008) y es una muy buena razón para empezar la ozonoterapia en la parte baja de la “ventana terapéutica”, y aumentando progresivamente. Una manera posible de interrumpir la “anergia” celular debido al estrés crónico oxidativo, puede ser la estimulación adecuada atóxica de la célula mediante unas moléculas LOPs, generadas por la ozonoterapia, que logren la recuperación funcional, como se ha visto en estudios publicados sobre enfermedades degenerativas del SNC así como en la recuperación de las zonas de “sombra” tras accidentes vasculares. Si la célula es capaz de transducir el mensaje al núcleo, vía la fosforilación de quinasas y similares, puede representar la señal de alarma capaz de reactivar la expresión génica, provocando así la síntesis de OSPs y enzimas antioxidantes. Mientras que una concentración alta de LOPs o una enfermedad muy avanzada terminará con la muerte celular, una estimulación baja y gradual como ésta, puede favorecer el reequilibrio del balance oxidante-antioxidante. Si la idea es correcta, la ozonoterapia debería comenzar con concentraciones justo por encima del umbral terapéutico. Los experimentos en laboratorio con animales (León et al., 1998; Barber et al., 1999; Peralta et al., 1999, 2000; Borrego et al., 2004; Stadlbauer et al., 2008) tratados diariamente con IR o insuflación intraperitoneal, con un tratamiento controlado de ozono han demostrado una adaptación sorprendente al estrés oxidativo crónico con la consecuente resistencia a la isquemia prolongada y a compuestos tóxicos, o un menor rechazo a aloinjertos. En la Fig. 8.2 se observa la respuesta de un paciente con DMAE (degeneración macular asociada a la edad) a una sola MO-AHT, y al consiguiente ciclo de tratamiento.

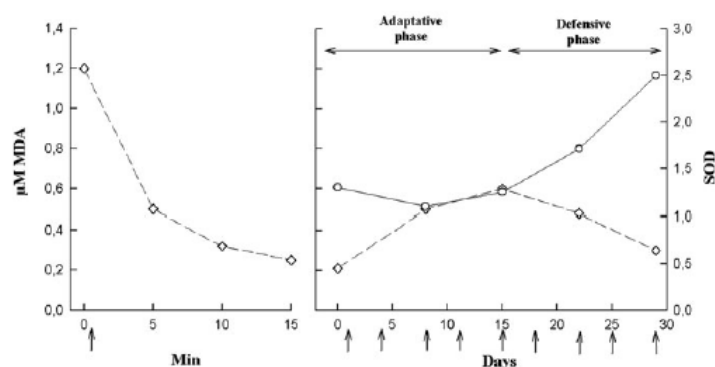


Fig. 8.2 La respuesta de un paciente con DMAE (degeneración macular asociada a la edad) a una sola infusión (gráfica izquierda) o a infusiones intermitentes (gráfica derecha) de MO-AHT (300 g de sangre tratados con una dosis de ozono de 21 mg/sesión). MDA, malondialdehído (♦) y Mn-SOD (U/ml plasma) son presentados en las ordenadas. Las flechas indican el momento del tratamiento. Tomado de Bocci, 2002.

¿Qué proteínas y enzimas son importantes en la corrección del estrés oxidativo crónico? El problema ha sido extensamente investigado en los últimos 15 años y se ha demostrado que la hiperoxia y los ERO pueden inducir niveles altos de SODs, GSH-Pxs, GSSGR y catalasa (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 estos datos han sido alentadores en demostrar los efectos de la ozonoterapia.

Se continúa con la investigación de los niveles de enzimas antioxidantes, el G-6PD (Puskas et al., 2000) y algunas proteínas de shock oxidativo inducibles por peróxido de hidrógeno y ozono (Jornot et al., 1991; Cardile et al., 1995; Kiang y Tsokos, 1998), antes, durante y tras la ozonoterapia.

Es interesante analizar el patrón de HO-1 (o HSP-32) porque incluso una exposición sutil de la sangre al ozono (40 µg/ml) parece que libera trazas de grupos hemo. Esta descomposición genera moléculas beneficiosas, tales como trazas de CO actuando sinérgicamente con el NO como vasodilatador, la bilirrubina actuando como un antioxidante lipofílico (Abraham et al., 1996), así como el Fe²⁺ libre que, si no es quelado rápidamente, puede actuar como un pro-oxidante (Dong et al., 2000; Nath et al., 2000; Ryter y Tyrrell, 2000; Snyder y Baranano, 2001). En resumen, el HO-1 se está convirtiendo en el enzima más interesante (Galbraith, 1999; Zuckerbraun and Billiar, 2003; Bocci et al., 2007), involucrado en la protección cutánea (Reeve y Tyrrell, 1999), en la prevención de toxicidad hemática y sobreesaturación de hierro (Nath et al., 2000), en la supresión de la apoptosis celular endotelial (Brouard et al., 2000), en el bloqueo del crecimiento vascular de las células musculares lisas (Durante, 2003), en el rechazo por trasplante cardíaco en ratones (Sato et al., 2001) y en la protección del corazón, hígado, riñones y pulmones contra la isquemia/reperfusión y daño por hiperoxia (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).

Un régimen de suplementación antioxidante con NAC puede ser mantenido durante la ozonoterapia, pero es muy probable que, a menos que seamos capaces de ACTIVAMENTE incrementar la capacidad antioxidante enzimática intracelular, incluso si los fluidos corporales están saturados de antioxidantes exógenos, no hay esperanza en rehabilitar la célula y alcanzar un resultado terapéutico.

El ozono puede ser una buena alternativa o mejor incluso que los tratamientos previamente mencionados y lo que sería imprescindible es comparar los diferentes tratamientos en un ensayo clínico aleatorio. Esta tarea es ciertamente imposible con nuestros medios y la medicina convencional no se va a entretener en esto pues con las estatinas hay un "negocio" colosal. Por el momento y por el bien del paciente, al menos podemos sugerir que se acepte la terapia usual asociada con la terapia con ozono menos invasiva, para obtener el máximo efecto con el malestar mínimo.

El punto final trata de la excitante posibilidad de mejorar la oxigenación de tejidos isquémicos, mediante el fomento de la angiogénesis. Se ha demostrado que las células madre mononucleares autólogas de la médula ósea (CMNMO) y/o las células progenitoras endoteliales (CPE) pueden tener un papel en la aceleración de la angiogénesis del miocardio humano, por tanto mejorando la perfusión de la zona de infarto, y llevando esto a la regeneración de esta zona (Strauer et al., 2001; Orlic et al., 2001; Schwartz y Curfman, 2002; Aicher et al., 2003).

Primeramente hemos de considerar cómo la medicina convencional ha intentado resolver este problema. Dos enfoques han sido usados: El primero consiste en extraer CMNMO autólogas y transplantarlas vía intracoronaria o rutas transendocárdicas. La invasividad del método puede limitar su aplicación clínica. El segundo método recurre a la liberación de las CM en la circulación tras la administración del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). Tras la extracción de células madre hemopoyéticas enriquecidas (usando CD34 como marcador para las CM) de la circulación, éstas se infunden vía la ruta intracoronaria. Este método es relativamente práctico, pero existe el riesgo de re-estenosis (Kang et al., 2004). Por tanto, aunque ambas vías mejoran la perfusión miocárdica, no parecen los procedimientos ideales.

La terapia de ozono puede ser ventajosa porque rápidamente mejora la oxigenación y el metabolismo de tejidos isquémicos, pudiendo movilizar CM endógenas, evitando así la extracción y la transfusión celular. La hipótesis que la ozonoterapia puede mejorar la liberación de CM de la médula ósea se propuso hace un tiempo (Bocci, 2002) para explicar la sorprendente remisión de larga duración en dos de los siete pacientes cardiopáticos, tras el tratamiento con ozono, cuando el efecto terapéutico normal dura únicamente unos meses. Era obvio imaginar que algún tipo de curación o reparación miocárdica pudo ocurrir si las CMNMO

llegaron a la zona de infarto y regeneraron, al menos parcialmente, el miocardio necrótico, pero, lamentablemente, no se pudo llevar a cabo una evaluación apropiada.

Incluso si la localización de las CM permanece elusiva, parece que cada órgano (hígado, cerebro, músculo esquelético, piel, endotelio y el cáncer también) se ha dotado de estas células, pero el verdadero tesoro al parecer es que la médula ósea contiene aproximadamente un 1% de células hematopoyéticas y aproximadamente un 0,05% de células madre mesenquimatosas (CMM). Se ha demostrado (Barakat et al., 2004) que en ratas, tras una inyección de ozono intraperitoneal de concentraciones variables (4,0, 40,0 y 75,0 µg/ml), se puede conseguir una inducción de la neoangiogénesis, tanto en los músculos esqueléticos como en el cardíaco, con una concentración de ozono media. Si esto ocurre durante terapias de ozono prolongadas aún no se ha determinado, pero es una de las posibilidades más excitantes para investigar. Después de todo, casi a diario, nos percatamos de una curación más rápida de úlceras cutáneas en pacientes con isquemia crónica de las extremidades que se someten a la ozonoterapia, por lo que podría reflejar la mejora cardíaca.

La idea de que la ozonoterapia pueda movilizar las CMNMO está apoyada por algunos datos bioquímicos: hace varios años, se demostró que los LOPs presentes en el plasma humano ozonizado inducen la NO sintetasa (NOs) en las células humanas endoteliales y se midió una liberación significativa de NO y nitrosotioles (Valacchi y Bocci, 2000). Estos compuestos tienen una importancia fundamental en la fisiología del lecho vascular porque mejora la vasodilatación e inhibe la agregación y adhesión plaquetaria-leucocitaria y la proliferación celular muscular (Joyner and Dietz, 1997; Kashiba et al., 1999; Stamler, 2004). Aicher et al. (2003) han añadido el descubrimiento crucial que la inducción de la NOs endotelial es esencial para la neovascularización, porque el NO activa la matriz metaloproteinasas-9 (MMP-9) indispensable para la movilización de las CM.

En conclusión, este proceso puede ser diferenciado en cuatro fases:

MOVILIZACIÓN o LIBERACIÓN de CMNMO, CMM y CPE (significado o lista de abreviaturas al principio). La reinfusión de la sangre ozonizada representa un estrés agudo y precisamente calculado capaz de estimular la médula ósea mediante los LOPs y posibles autacoides, factores de crecimiento y citocinas. El cambio repentino homeostático en el microambiente de la médula ósea causado por estos mensajeros (particularmente NO) puede ser una manera efectiva de mejorar la producción de células madre.

EL VIAJE AL OBJETIVO: CMNMO, CMM y CPE circulantes no se pierden en el vasto lecho vascular y se asientan en una zona dañada que es probablemente una zona isquémica y/o que ha sufrido un infarto.

EL ASENTAMIENTO puede estar determinado por mecanismos quimioattractivos, pues los tejidos dañados pueden liberar factores quimioattractivos o expresar nuevos receptores, donde las CM pueden acoplarse.

INCORPORACIÓN y REPARACIÓN TISULAR, tras cierto tiempo, la proliferación y diferenciación apropiada de las CM puede ocurrir, gracias a la oxigenación mejorada y a la presencia de factores de crecimiento en el microambiente. Si esto es correcto, incluso un número pequeño de CM puede ser eventualmente suficiente para reconstruir una zona de infarto.

Aunque los humanos no tengamos el poder de regenerar los órganos, excepto el hígado, la actual técnica de vanguardia es alentadora para el corazón y puede ahorrar la amputación de miembros en algunos pacientes. Un resultado sorprendente observado en un paciente con un estadio 4 de arteriopatía periférica obliterante tras la ozonoterapia, nos ha llevado a pensar que únicamente la nueva formación de una red circulatoria eficiente ha permitido la recuperación de un daño aparentemente irreversible. No obstante, pacientes en serio peligro con síndrome avanzado dismetabólico parecen incapaces de recuperarse. Hay pocas dudas de que, además de una sincronización correcta y la eficacia de la terapia, factores genéticos, metabólicos y neuroendocrinos juegan un papel importante en el resultado final, porque sólo una minoría de los pacientes en estadio 4 tienen una respuesta positiva. Los resultados obtenidos con la infusión de prostanoides son inferiores a los de la ozonoterapia (Di

Paolo et al., 2005), sugiriendo que el ozono se merece ser examinado en profundidad. No será fácil, pero valdría la pena investigar con análisis instrumental refinado, si el proceso de reparación realmente tiene lugar en pacientes vasculopáticos tratados con ozonoterapia. Si la ozonoterapia ofrece realmente una ventaja sobre la más elaborada administración de células madre vía rutas especiales (Strauer y Kornowski, 2003), conviene que sea seriamente investigada, porque podríamos ayudar más fácilmente y económicamente a un número mayor de pacientes críticos.

Una última observación es con respecto a la duración del tratamiento con ozono y si permite “curar” una enfermedad. Hacia el año 80 d.C, Tácito escribió “nature infirmitatis humanae tardiora sunt remedia quam mala” o, “en base a la naturaleza de la fragilidad humana, los remedios son más lentos que las enfermedades”. Esto es aún cierto hoy en día para ambas la medicina tradicional y la ozonoterapia. Con esta aproximación complementaria se necesita cierto tiempo para percibir la mejoría real y ello depende mucho del estado del paciente, de su edad, tipo de enfermedad, calidad del tratamiento y también la capacidad del médico. Es más, la ozonoterapia se aplica mayormente a enfermedades que son en sí mismas consideradas incurables, y es precisamente por ello, por las frustraciones que han sufrido durante largo tiempo con la medicina convencional, que muchos pacientes acuden a ella. En muchos casos la ozonoterapia puede, al menos, corregir o bloquear su progresión, y en muchos casos, este beneficio puede conservarse largo tiempo mediante una terapia de mantenimiento.

Capítulo 9

Las aplicaciones clínicas de la ozonoterapia.

Los resultados clínicos disponibles hasta ahora han demostrando que la ozonoterapia es a menudo tan útil o más que los tratamientos usuales en una PRIMERA categoría de enfermedades tales como:

- (1) Osteomielitis, empiema pleural, abscesos con fistulas, heridas infectadas, úlceras por presión, úlceras crónicas, pie diabético y quemaduras (Payr, 1935; Aubourg, 1940; Rokitansky, 1982; Miroshin and Kontorshikova, 1995; Werkmeister, 1995; Shaschova et al., 1995; Filippi and 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) Enfermedades isquémicas avanzadas (isquemia de las extremidades inferiores y del corazón, secuelas de accidentes vasculares encefálicos y cardiacos, posiblemente también ataque cardíaco, cuando los pacientes llegan demasiado tarde para la trombólisis) (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) Degeneración macular senil (forma atrófica), porque la oftalmología aún no tiene un tratamiento significativo (Riva Sanseverino et al., 1990; Bocci, 2002; Borrelli and Bocci, 2013).
- (4) Enfermedades neuro-degenerativas, tales como: disfunciones del nervio óptico, retinitis pigmentosa, glaucoma primario de ángulo abierto, demencias seniles, incluyendo Alzheimer, enfermedad isquémica cerebrovascular, síndrome cócleo-vestibular, etc. (Rodríguez, García, et al. 1998; Rodríguez, Menéndez, Devesa, et al. 1998; Rodríguez, Menéndez, García, et al. 1998; Copello et al., 2003; Copello et al., 2013).
- (5) Enfermedades ortopédicas degenerativas e inflamatorias (osteoartrosis, etc) (Riva Sanseverino, 1989; Verga, 1989; Siemsen, 1995; Bocci et al., 2000; Jucopilla et al., 2000; Alexandre et al., 2000, 2002; Bonetti et al., 2001; Fabris et al., 2001; Petralia et al., 2001; Tabaracci, 2001; Andreula et al., 2003).
- (6) Síndrome de fatiga crónica y fibromialgia (Cosentino et al., 2000; Loconte, 2000; Borrelli and Bocci, 2002; Hidalgo-Tallón et al., 2012).

- (7) Lesiones de las raíces dentales por caries, especialmente en niños (Baysan et al., 2000).
- (8) Estomatología: infecciones crónicas y recurrentes en la cavidad oral (Lynch, 2004).

También en una SEGUNDA categoría de enfermedades que incluyen:

- (1) Enfermedades agudas y crónicas infecciosas, especialmente las que implican bacterias, virus y hongos, quimio y antibióticorresistentes (hepatitis, VIH-SIDA, infecciones herpéticas y herpes zoster, infecciones por papillomavirus, onicomicosis, candidiasis, giardiasis y criptosporidiosis) – la ozonoterapia parece un apoyo útil (Mattassi et al., 1985; Bocci and Paulesu, 1990; Konrad, 1995, 2001; Bocci et al., 1998c; Amato et al., 2000; Mawsouf et al., 2004; Bocci et al., 2009b).
- (2) En la fatiga por cáncer y la tolerancia a los quimioterápicos, la ozonoterapia, asociada con tratamientos habituales ha demostrado (Clavo, 2004b) su utilidad al mejorar la calidad de vida y disminuir los efectos adversos asociados a la quimio y la radioterapia.

Finalmente hay una TERCERA categoría de enfermedades serias tales como:

- (1) Enfermedades autoinmunes (enfermedades reumáticas, psoriasis, Crohn, etc) (Menéndez et al., 1989; D'Ambrosi, 2002b; Esperanza, S., Ortellado, M., 2011; Molinari et al., 2014).
- (2) Demencia senil (Rodríguez et al., 1998).
- (3) Enfermedades pulmonares (enfisema, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis pulmonar idiopática y síndrome agudo de dificultad respiratoria) (Hernandez et al., 2005; Bocci, 2007b).
- (4) Enfermedades cutáneas (psoriasis, síndrome de Stevens-Johnson y dermatitis atópica) (Abeck and Plötz, 2008; Borrelli et al., 2008; Izzo, 2008; Menendez et al., 2010; Sirito, 2006; Travagli et al., 2009a, b, 2010c; Zamora et al., 2008, Re et al., 2015).
- (5) Cáncer metastásico (Akbarov et al., 2010).
- (6) Sepsis severa y disfunción múltiple de órganos (Bocci and Brito, 2006).

en las que la combinación de tratamientos ortodoxos y la ozonoterapia es, al menos teóricamente, útil, aunque faltarían más pruebas clínicas oficiales, que se podrían realizar, promoviendo la colaboración entre Sociedades Científicas de Ozonoterapia e Instituciones Sanitarias Públicas y Privadas sin ánimo de lucro. Si la ozonoterapia con las ventajas del coste bajo y sin efectos adversos puede igualar la eficacia de los tratamientos convencionales actuales merece ser investigado con mayor profundidad. Debemos tener en cuenta que todos los resultados, evidencias clínicas y preclínicas, razonamientos y argumentos expuestos han sido desarrollados con encomiables esfuerzos, a pesar de la falta de patrocinadores específicos. Irónicamente, países en vía de desarrollo, como Cuba y China, con presupuestos sanitarios menores, han venido y continúan realizando numerosos estudios clínicos que aportan información preciosa con respecto a la utilidad de la ozonoterapia.

Las Autoridades Sanitarias Nacionales, que continuamente deben afrontar el aumento de los costes de la asistencia médica, y las limitaciones de sus presupuestos, podrían obtener una ventaja asistencial y económica muy importante, si la ozonoterapia fuera extendida y organizada de manera sistemática en todos los hospitales públicos. Aunque no dispongamos de datos suficientes para poder cuantificarlo, estamos convencidos de que los beneficios de la ozonoterapia, con su bajo coste añadido, pueden aportar una reducción muy importante en el consumo de medicamentos, en evitar procedimientos muy costosos, como los quirúrgicos y otros, en la reducción de los períodos de recuperación y de bajas por enfermedad, en la calidad de vida, etc., en todas las categorías de enfermedades mencionadas anteriormente.

Referencias

- 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 O₂ –O₃ 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 O₂ –O₃ 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 O₂ –O₃ to treat lumbar disc herniations: results at five years, *Riv. Ital. Di Ossigeno Ozonoterapia* 1:165–169.

Alexandre, A., Pentimalli, L., Rigobello, L., and Corò, N., 1999, Amaurosi fugax in un caso di discolisi cervicale mediante O₂ –O₃ . in *L'Ozonoterapia 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'ozonoterapia mediante 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'ozonoterapia mediante grande autoemotrasfusione nel trattamento delle epatiti croniche post-epatite virale (II parte), in *Proceedings: I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2–4 novembre 2000*, p. 11.

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., Busuttil, 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 stressed 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- κ B activity through induction of I κ 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 stress, *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- κ 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-EI 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 stress, *J. Hypertens.* 21:1207–1211.
- Baynes, J. W., 1991, Role of oxidative stress 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., Salanito, 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 Ozonoterapia* 5:129–134.

Bevers, 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., Niewegłowski, 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 stress in response to dextrose and lipid meals of differing. *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-ozono 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'ozono nel trattamento del conflitto discoradicolare, in *Lombalgie e lombosciatalgie. Criteri di diagnosi e cura* (F. Ceccherelli, and A. Ricciardi, Eds.), Edizioni Libreria Cortina, Torino, pp. 331–340.

Bocci, V., 1998b, Is 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-ozono 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-Ozonoterapia migliorare la prognosi della bronco-pneumopatia 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 Ozonoterapia* 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 Ozonoterapia* 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 Ozonoterapia* 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- β 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 stress: 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 stress: a hypothesis paper based on the possible usefulness of ozonotherapy. *Diabetes Metab.Syndr. 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 stress 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 O₂ –O₃ 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 stress 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 Ozonoterapia* 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., Marin, 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-ozono 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., Arsalane, 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, Stress-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 ozonization, 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, a-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 stress, *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 stress, 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., Collett, 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 Ozonoterapia* 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 stress 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-ozono 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., Rodriguez, 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’ozonoterapia 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 stress 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-ozonoterapia, *Riv. Ital. Ossigeno Ozonoterapia* 1:155–158.

D'Ambrosio, C. M., 2002b, Terapia delle IBD mediante ozonoterapia per via rettale, *Riv. Ital. Ossigeno Ozonoterapia* 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 stress-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., Faggioli, 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 ozono 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 stress, *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. Ozonoterapia 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 stress and

stress-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 laiza, F., 2001, L'ossigeno-ozono terapia intra-foraminale, *Riv. Neuroradiol.* 14:61–66.

Falk, S. J., Ward, R., and Bleeher, N. M., 1992, The influence of carbogen breathing on tumour tissue oxygenation in man evaluated by computerised pO₂ 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 ozono y los factores de crecimiento en la curacion de las ulceras. *Riv. It Ossigeno Ozonoterapia* 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 Sakaguchi, S., 2005, CD4+ regulatory cells as a potential immunotherapy, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 360:1647–1661.

Fehervari, Z., Sakaguchi, 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 ozonotreated 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 Chowienzyk, 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., Anneti, C. et al., 2005, Oxidative stress 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., Vyhnaek, 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-ozono 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 11th 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 (pO₂) 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., Breikreutz, 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 stress 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 stress 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, Vitamin C antagonizes 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 stress. *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 Bleehen, N. M., 1995, Pentoxifylline increases RIF-1 tumour pO₂ 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 stress (ozone therapy) in the former Soviet Union countries, *Riv. Ital. Ossigeno Ozonoterapia* 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 stress-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 distress 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 stress 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 O₂ –O₃ 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 S-nitrosoglutathione 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 Klug, W., 1990, Ozon-Sauerstoff-Therapie der Proktitis, *Med. Welt.* 41: 371–374.

Knoch, H.-G., Roschke, W., and Klug, 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, Hemodialysisrelated 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 stress 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-Herttuala, 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., Hillebrand, 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'ozono sul nucleo polposo: reperti

anatomo-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- β , 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., Piantaudi, A. M., Calabrese, A., Maggio, A., Freisleben, H. J., D'Arpa, D., D'Anna, R., and Bongiorno, A., 1996, Oxidative stress and antioxidant status in beta-thalassemia major: iron overload and depletion of lipid-soluble antioxidants, *Blood* 88:3608–3614.

Llavadot, 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 stress, *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-ozonoterapia nel trattamento della malattia varicosa e sue complicanze, in *L'Ozonoterapia nel 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 stress 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 stress status following a handball game in elite male players, *Oxid Med Cell Longev.* 2011:804873.

Markesbery, W. R., 1997, Oxidative stress 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 O₂ 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 ozono 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 stress 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 stress 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 (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage, *N. Engl. J. Med.* 332: 1198–1203.
- Morsy, M. D., Niazy, W. H., and Zalat, S. I., 2010, Improvement of renal oxidative stress 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 (O6 & O9), *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- α 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- α) 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, Stress proteins as biomarkers of oxidative stress: 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'ozonoterapia, *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- β 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 stress 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- γ 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-acetylcysteine, *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 ozonoterapia en la aterosclerosis obliterante, *CENIC Ciencias Biológicas* 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 stress 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 stress and neurodegeneration, *IUBMB Life* 50:309–314.

Rousseau, Y., Haeffner-Cavaillon, N., Poinet, 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-Lopetegui, 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 stress, *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., McLaughlin, 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 ozono, *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 stress 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- β s and TGF- β 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 stress 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 H₂O₂ 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% CO₂: 95% O₂) 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 stress 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 Ozonoterapia* 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 stress 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 pO₂ 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.
- Stiller, 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'ozonoterapia 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 stress, *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 BocciSilvietti, A. V., 2007, A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood, *Intern. J. Biolog. Macromol.* 41:504–511.
- Travagli, V., Zanardi, I., Gabbriellini, 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.15251594.2009.00767.x.

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 stress 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 stress 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 stress 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 Kremsner, 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 Poesz, 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 stress 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 stress 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, Sick 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 stress, *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 stress: 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 characterization 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 hypoxiainducible factor 1alpha 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 Stress 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.