

# L'OZONOTERAPIA NELLA CURA DELLA FIBROMIALGIA

## *Revisione Sistemática*

**Dott. Michel MALLARD** *medico-chirurgo, ozonoterapeuta, socio della Nuova F.I.O. specializzato in Medicina Psicosomatica.*

Fermo (FM) tel. 340 5023405

e-mail: m.mallard@virgilio.it

Rispondendo a tutti i requisiti di qualità, efficacia e sicurezza (Di Mauro R. et al., Zanardi I. et al.), l'ozonoterapia ha dimostrato la sua pertinenza nella cura della Fibromialgia.

## **COS'É LA FIBROMIALGIA ?**

La fibromialgia non è una nuova patologia; era descritta già da Ippocrate e pensiamo che il Profeta Job, ne soffrisse quattro secoli a.c. (Bibbia, Job 7:3-4 e 30:16-17).

I Francesi e gli Inglesi la chiamavano "Fibrosite" nella metà del 19<sup>th</sup> secolo (Goldenberg D.L.).

È stata nominata "Fibromyalgia" nel 1976 dall'ARA (American Rheumatism Association), e subito identificata come sindrome (Hench, 1977) piuttosto che malattia.

È caratterizzata da **dolore muscolo scheletrico cronico (più di 3 mesi) e diffuso:**

tendini muscolari (tender-points), legamenti e tessuti molli e, **spesso associato** (Goldenberg D.L., Clauw D.J.) ad **astenia** (90% dei casi), **problemi neuro-psichici** (sindrome ansio-depressiva, attacchi di panico, Alessitimia), disturbi del sonno (mancanza di sonno profondo: anomalia "alfa-delta" e risvegli notturni), problemi cognitivi (es. di attenzione e di concentrazione "fibro-fog", di memoria), e ad un **ampio insieme di sintomi somatici e neurovegetativi:** emicrania (Cho S.J. et al., Whealy M. et al.), cefalea, fotofobia, dolore facciale, sensazione di intorpidimento, estrema sensibilità al tatto, formicolio, lombalgia, rigidità muscolare, spasmofilia, crampi alle gambe, fascicolazioni benigne, dolori articolari, dolori precordiali, dolori spastici addominali, nausea, colon irritabile IBS (Yang T.Y. et al.), alterazioni dell'equilibrio, sindrome da tachicardia posturale ortostatica, ipotensione ortostatica (Staud R.), apnea del sonno, fenomeno di Raynaud-like, sindrome delle gambe senza riposo, dismenorrea primaria, sensibilità chimica multipla, cistite interstiziale...

La grande variabilità dei sintomi e l'assenza di test diagnostici biologici o radiologici non facilita la diagnosi clinica che per questo motivo si fa molto tardi: di media due anni dopo l'insorgenza dei primi sintomi.

**Principali patologie rispetto le quali effettuare la diagnosi differenziale** (Arnold L.M.):

L'ipotiroidismo presenta delle anomalie nei valori di funzionalità tiroidea e l'iperparatiroidismo riscontra un'ipercalcemia.

La fibromialgia non è una patologia reumatica come la polimialgia reumatica, l'artrite reumatoide, la spondiloartrite ( con VES e PCR elevati), la polimiosite (con CPK elevato) o il lupus eritematoso disseminato (C3/C4 abbassato, rash al volto, ANA positivo in più del 90% dei casi) ma è associata ad un stato infiammatorio cronico di basso livello: i pazienti fibromialgici presentano un livello di proteina C-reattiva più elevato, rispetto al gruppo controllo (Rus Martínez A. et al. 2015).

**La prevalenza mondiale della fibromialgia** interessa il 2,7% della popolazione (4.2 % delle femmine e 1.4 % dei maschi) secondo gli ultimi criteri di diagnosi dell'American College of Rheumatology.

Nella Regione Marche (Italia) la prevalenza è del 2% della popolazione.

La fibromialgia non è una singola entità clinica ma è una **sindrome da sensibilizzazione del sistema nervoso centrale** (Pomares F.B. et al., Wolfe F. et al.) caratterizzata da iperalgesia e allodinia dovute ad un squilibrio dei neurotrasmettitori che agiscono nei meccanismi della nocicezione (serotonina e noradrenalina come inibitori; sostanza P, glutammato e amminoacidi come eccitatori).

L'ipoattività degli inibitori e l'iperattività degli eccitatori provoca un'amplificazione del segnale doloroso e la sua distribuzione che caratterizza la fibromialgia. La maggior parte di questi neurotrasmettitori sono anche coinvolti in numerosi altre funzioni del sistema nervoso centrale e neuro-vegetativo, spiegando così il meccanismo di genesi di diversi altri sintomi della sindrome fibromialgica come per esempio l'insonnia e la sindrome depressiva.

Questo meccanismo permette di capire facilmente l'impatto di maggior squilibrio provocato da fattori ambientali e stressante facilmente compensati da un soggetto sano. Invece qui, basta una piccola spinta acuta in più, e la bilancia cade nello scompenso.

Ad esempio le classiche meteoropatie, il freddo e l'aria condizionata, gli odori forti, gli eccessi a tavola, i traumi stradali, le difficoltà psicologiche, lo stress psicoemotivo e le aggressioni, la mancanza di sonno, le intossicazioni acute alimentari, chimiche, energetiche e sonore, l'affaticamento fisico, ecc. sono fattori aggravanti piuttosto che causa propria della fibromialgia (a meno che non siano cronici) che è di natura infiammatoria cronica di basso grado, non compensata al livello del SNC.

La sindrome fibromialgica raggruppa quattro tipi diversi (Merskey H., Müller W. et al.):

**Tipo I : elevata sensibilità al dolore con infiammazione cronica leggera sistemica (chronic low-grade inflammation) e neuroinfiammazione senza condizione psichiatrica associata** (70% delle sindrome fibromialgiche).

Nel tipo I sono indicate le **terapie anti-infiammatorie, anti-ossidante e antalgiche**; come l'**ossigeno-ozono terapia** che raggruppa queste tre proprietà terapeutiche.

**Tipo II** : associazione di sindrome fibromialgica Tipo I a **depressione nervosa** essenziale o reattiva (Veltri A. et al.).

Nel tipo II sono indicate la terapia antidepressiva e la psicoterapia, oltre le terapie anti-ossidante e anti-infiammatorie.

**Tipo III** : associazione di sindrome fibromialgica Tipo I a **disturbi bipolari** (Alciati A. et al.).

Nel tipo III è indicato il seguito psichiatrico, oltre le terapie anti-ossidante e anti-infiammatorie.

**Tipo IV : Somatizzazione di tipo fibromialgica riscontrato in alcuni gravi problemi psicologici** preesistenti o esistenti, senza neuroinfiammazione ( Häuser W. et al.).

Nel tipo IV è indicata la valutazione in medicina psicosomatica per definire il programma psicoterapeutico il più adatto.

I **tipi misti** richiedono una combinazione di misure terapeutiche.

## **LA FIBROMIALGIA È UNA PATOLOGIA INFIAMMATORIA DEL SISTEMA NERVOSO**

**L'infiammazione** è la risposta a lesioni, intossicazioni, infezioni e stress mentale (Slavich G.M., Irwin M.R.) che coinvolge una complessa risposta biologica dei sistemi somatosensoriali, nervosi centrali e autonomi, immunitari, endocrini e vascolari.

Il dolore è una delle caratteristiche cardinali dell'infiammazione.

Lo stress ossidativo prolungato può portare ad un'infiammazione cronica (Reuter S et al.).

**La neuroinfiammazione** è caratterizzata dall'attivazione delle cellule gliali (cellule di Schwann nel nervo, cellule gliali satelliti nei gangli, microglia e astrociti nel SNC ) da neurotrasmettitori (ATP, glutamate), chemochine proinfiammatorie, proteasi, molecole di segnalazione Wnt (Ellis A., Bennett D.L.), e dall'invasione dei cellule immunitarie (linfociti T, macrofagi e neutrofili) nel SNC dovuta ad un aumento della permeabilità della barriera ematoencefalica. Queste cellule attivate producono mediatori dell'infiammazione, come bradichinina, prostaglandine, ATP, NGF(fattori di crescita nervosa), citochine pro-infiammatorie (TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL6) e chemochine pro-infiammatorie(CCL2, CXCL1, CXCL5).

Uno studio pilota condotto da Garcia J.J. et al., su 6 donne con fibromialgia e 6 donne sane, si è interessato al rilascio delle chemochine pro-infiammatorie da neutrofili e monociti isolati. I pazienti fibromialgici (diversamente del gruppo controllo) hanno una particolarità della risposta infiammatoria cellulare innata: i **monociti**, sia al riposo che attivati sono all'origine di un rilascio di chemochine pro-infiammatorie (eotassina : CCL11, GRO- $\alpha$ , CXCL1). Invece questo fatto non si verifica nei neutrofili delle donne con fibromialgia.

La neuroinfiammazione sembra essere permanente nei pazienti con dolore cronico.

**Questa neuroinfiammazione è neurogena quando i mediatori infiammatori sono rilasciati dai neuroni afferenti primari**, come per esempio i neurotrasmettitori come il glutamato o i neuromodulatori come la sostanza P responsabile di dolori e emicrania o i fattori neurotrofici responsabili della plasticità e della sensibilizzazione centrale e dell'ipersensibilità al dolore.

Evidenze crescenti suggeriscono che la neuroinfiammazione è una causa alla base di diverse malattie del SNC tra cui il morbo di Alzheimer, il morbo di Parkinson, la Sclerosi Multipla e i disturbi psichiatrici (Rivest S.).

**Nel 2017, Bäckryd E. et al. hanno evidenziato con un pannello multiplex dell'analisi di 92 proteine dell'infiammazione che i pazienti fibromialgici presentano uno stato infiammatorio cronico di basso grado associato ad una neuroinfiammazione.**

Nella fibromialgia, gioca un ruolo fondamentale l'**infiammazione neurogena** (Littlejohn G.) legata al rilascio di mediatori infiammatori da parte di neuroni afferenti nel Sistema Nervoso Centrale stimolati dai **radicali liberi** (Glass C. et al.) come per esempio: ossido nitrico (Ozgoemen S. et al.) e lipopolisaccaridi (LPS) e dalle **citochine infiammatorie** liberate da varie cause (Vasquez A.): IL2, IL6, IL8, TNF $\alpha$ , HMGB1 (Oktayoglu P. et al.) e **chemochine** (citochine che regolano il traffico cellulare : TARC, CCL17, MIG, CXCL9, MDC, CCL22, i-TAC, CXCL11, CCL11, CCL18, CCL11) (Garcia J.J. Et al.) e dalla cicloossigenasi 2 (COX-2) che troviamo aumentati nella sindrome fibromialgica.

Queste due vie dannose sono legate nel senso che le citochine infiammatorie aumentano la produzione di iNOS (inducibile nitric oxide synthase) provocando un aumento di ossido nitrico e un'alterazione della fisiologia mitocondriale (aumento del MDA : MalonDiAldehyde).(Cordero M.D. Et al., Ladiwala U. et al.).

Inoltre, le stesse cellule gliali che hanno prodotto delle citochine pro-infiammatorie sono anche capace con altri stimoli di produrre delle citochine anti-infiammatorie (IL10, IL4, TGF- $\beta$  e IFN- $\alpha$ ).

**I pazienti fibromialgici presentano una carenza di enzimi antiossidanti:** catalasi, glutatione perossidasi, SuperOssidoDismutasi (Iqbal R. et al.).

In Spagna, su un gruppo di 45 pazienti fibromialgici di sesso femminile contro gruppo controllo di 25 pazienti sani.

La Rubia et al. (2013) hanno confermato lo squilibrio tra ossidanti e antiossidanti nei pazienti fibromialgici: aumento del danno ossidativo del DNA (aumento di 8-oxo-dG), della perossidazione proteica (aumento di Protein Carbonyl), della perossidazione lipidica (aumento del livello di TBARS), diminuzione del zinco, aumento del rame e della ceruloplasmina, diminuzione dell'attività antiossidante totale (TAC), diminuzione dei enzimi antiossidanti (SuperOxideDismutase, GlutathionePeroxidase, catalase).

Questo studio apporta la prova che **lo stress ossidativo è al meno in parte responsabile della sindrome fibromialgica**, giustificando le strategie terapeutiche antiossidante, già proposte da Meeus M. et al.

Alla luce di tutti i lavori collegando la fibromialgia allo stress ossidativo e le sue conseguenze infiammatori, Zhang H. et al. l'hanno inserita nel gruppo delle patologie che hanno in comune dolore e aumento dell'interleuchina-1 con una piattaforma di segnalazioni multi-proteiche di grandi dimensioni, chiamata **infiammasoma** che coordina la risposta allo stress ossidativo attraverso la scissione della caspasi-1, che successivamente induce l'inizio a valle di diversi potenti cascate proinfiammatorie (IL1 $\beta$  e IL18).

Cordero M.D. et al. hanno dimostrato che nella fibromialgia, la carenza di coenzima Q10 associata alla disfunzione mitocondriale ( diminuzione del 76% della produzione di ATP, causa dell'astenia nella fibromialgia e nella sindrome di stanchezza cronica) attiva l'infiammasoma NLRP3 con marcata algesia.

Zhang H. et al., Mamik M.K. et Power C. ritengono che l'attivazione degli infiammasomi coinvolge numerosi patologie del SNC e quindi apre delle possibilità terapeutiche mirate sulla loro innattivazione.

Questa infiammazione neurogenica provoca numerosi **alterazioni della fisiologia dei neurotrasmettitori** (Wallace D.J. et al. 2001), per esempio:

- L'IL6 e l'IL8 aumentano la sostanza P contribuendo all'eziologia dello stato ansio-depressivo,
- l'aumento dell'IL-6 o dell'IL1 (da antagoniste del recettore IL1 presente nella fibromialgia) provoca disfunzioni della gestione del dolore al livello centrale (per es. blocco dei recettori mu per le endorfine), mialgia, fatica e disturbo del sonno,
- Le citochine possono inoltre influenzare l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene : IL-1, IL-6 e TNF-alfa lo attivano, mentre IL-2 e IFN-alfa lo inibiscono,
- L'IL2 provoca disfunzioni cognitive,
- L'IL8 provoca simpaticotonia e dolore di tipo neurovegetativo simpaticotonico ,
- Il TNF-alfa provoca fatica e anoressia.

La risonanza magnetica funzionale e la PET hanno evidenziato una **connettività alterata tra l'insula e la Default Mode Network** (DMN = rete neurale distribuita in diverse regioni corticali e sottocorticali) provocata da un alterazione della fisiologia dei neurotrasmettitori. I pazienti fibromialgici hanno una riduzione del ratio N-acetylaspartate su creatine (NAA/Cr) testimoniando delle anomalie metaboliche del funzionamento dell'ippocampo, contribuendo ai disturbi di memoria e di gestione dello spazio spesso presenti da loro. E anche stato osservato una alterazione del microcircolo a livello del talamo e del nucleo caudato, deputati alla modulazione del dolore.

Molte evidenze suggeriscono che il Sistema Nervoso Centrale è molto sensibile allo stress ossidativo, perché contiene un tasso elevato di fosfolipidi insaturi, un metabolismo iperattivo e un basso tasso di enzimi anti-ossidanti, come la catalase. (Uttara B. et al., Zimatkin S.M. et al., Halliwell B.)

In più, una grande parte della sintomatologia delle patologie neuro-degenerative e da neuro-infiammazione interessano la fisiopatologia dell'**ippocampo, della sostanza grigia e dello striatum che sono proprio le zone cerebrali le più sensibili allo stress ossidativo**. (Avila-Costa M.R. et al., Pereyra-Muñoz N. et al., Rivas – Arancibia S. et al., Rodriguez-Martinez E. et al.).

**Nel 2018, Albrecht D.S.** pubblica i lavori condotti al Massachusetts General Hospital e al Karolinska Institutet (Svezia) con il MR/PET TSPO-binding che **ha evidenziato su 20 pazienti fibromialgici** (con gruppo controllo di 14 volontari) **la neuroinfiammazione cerebrale** con un radiofarmaco PET che si lega alle **cellule gliali** attivate.

*Ad oggi tutte le evidenze scientifiche dimostrano che la sindrome fibromialgica è provocata dallo stress ossidativo con stato infiammatorio cronico di basso grado; all'origine della neuro-infiammazione del sistema nervoso centrale e della sua conseguente infiammazione neurogenica, che squilibra le numerosi azioni dei neurotrasmettitori.*

*Questo meccanismo spiega il fatto che la sindrome fibromialgica è spesso associato ad altre patologie del SNC: degenerative, auto-immune e psichiatriche, che hanno in comune la neuro-infiammazione.*

Nel 2013, Uçeyler et al. hanno dimostrato che i pazienti fibromialgici presentano anche una neuropatia del Sistema Nervoso Periferico. Le piccole fibre nervose C non mielinizzate sono meno numerosi e di diametro ridotto, probabilmente più esposte alla neuroinfiammazione che le fibre mielinizzate.

## **COME AGISCE L'OZONO NELLA CURA DELLA FIBROMIALGIA ?**

**Sappiamo da diversi anni che il meccanismo principale coinvolto nell'ozonoterapia è la riduzione dei livelli di citochine pro-infiammatorie e dello stress ossidativo, in reazione ad un stress ossidativo moderato provocato da basse concentrazioni di ozono** (Ajamieh H.H. et al., Bocci V. et al., Chang J.D. et al., Chen H. et al., Díaz-Soto M.T. et al., Di Filippo C. et al., Elvis A.M. e Ekta J.S., Gonzalez Alvarez R. et al., Gough N.R., Guancho D. et al., Guaragna M.A. et al., Güçlü A. et al., Guven A. et al., Hernandez F. et al., Inal M. et al., León Fernández O.S. et al., Madej P. et al., Martinez-Sánchez G. et al., Mmalebuso L. et al., Re L. et al., Rodriguez Z.Z. et al., Sagai M., Salem N.A. et al., Stone J.R. et al., Yang S., Tsuzuki N. et al., Viebahn-Hänsler R., Zamora Z.B. et al.).

Nel 2007, Bocci V. et al. hanno evidenziato che **l'ozonizzazione del sangue umano induce una up-regolazione dell'Heme Oxygenase-1 (HO-1)** che contrasta le citochine pro-infiammatorie.

Nel 2009, Fuccio et al. hanno dimostrato che **una singola iniezione sottocutanea di ozono previene l'allodinia (dolore neuropatico) e diminuisce la sovraespressione delle caspasi pro-infiammatorie e della IL-1 $\beta$  negli astrociti** della corteccia orbito-frontale dei topi neuropatici.

Nel 2012, Schulz S. et al. hanno dimostrato che **l'insufflazione rettale di ossigeno-ozono (di fronte a un gruppo controllo con ossigeno solo) causa un'elevazione dei livelli sistemici di PG12** : prostaciclina che inibisce l'aggregazione piastrinica e agisce come vasodilatatore.

Nel 2012, El-Sawalhi M.M. et al. hanno evidenziato nel cuore e nell'**ippocampo** di ratti trattati con miscela ozono/ossigeno intra rettale, una **normalizzazione dell'attività del glutazione perossidasi**.

Nel 2013, Dranguet Vaillant J., León Fernández O.S. et al. hanno evidenziato sui ratti con artrite reumatoide indotta da PG/PS trattati con ozono, una **riduzione di TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e un ristabilimento del bilancio redox cellulare**.

Nel 2013, Bakkal et al. hanno riportato una **riduzione di TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e una aumento SOD** sui ratti trattati con ozono in post radiazioni polmonari.

Ugualmente, Xing et al. nel 2015 hanno riscontrato sui ratti con insufficienza renale trattati con ozono la stessa **riduzione di , IL6, ICAM-1, MCP-1mRNA, e un blocco dei recettori TLR4 e NF-kB.**

## **CHIAVE TERAPEUTICA DELLA FIBROMIALGIA : LA PROTEINA Nrf2**

Nel 2013, Pecorelli A. et al. hanno evidenziato su delle cellule endoteliali in contatto con siero umano ozonizzato una rapida attivazione Nrf2.

È stato dimostrato per la prima volta in vivo nel 2014 (Ré L. et al.) **che la somministrazione di una bassa dose di ozono induce il rilascio e l'attivazione della proteina Nrf-2** (nuclear factor erythroid 2 – related factor 2 = NFE2L2), principale regolatore delle difese anti-ossidante attraverso la trascrizione che regola l'espressione di 200 geni citoprotettivi, scoperto da Moi et al. nel 1994.

### Meccanismo di azione della proteina Nrf2 :

**In presenza di insulti ossidanti ed elettrofilii**, che modificano i residui tiolici di Keap1, il legame soppressore tra Keap1 e Nrf2 viene destabilizzato e il fattore di trascrizione Nrf2 può entrare nel nucleo, dove eterodimerizza con una “*Small Maf Protein*” e lega una sequenza nucleotidica chiamata “Antioxidant Response Element 1” (ARE1) che si trova nel MSRR (*Multiple Stress Response Region*) della “5'-flanking region of the AR gene” (regione fiancheggiante 5' del gene recettore ai androgeni) (Nishinaka T. et Yabe-Nishimura C. 2004); e così **Nrf2 può attivare la trascrizione dei suoi geni bersagli che codificano per enzimi antiossidanti e per enzimi di detossificazione di fase II** (Kwak M.K. et al.) .

In particolare Nrf-2 attiva:

- **HO-1** (Hème Oxygenase 1), che inibisce le citochine pro-infiammatorie (IL6, TNFalfa, chemochine,...) e stimola le citochine anti-infiammatorie (IL10,...),
- **SOD** (Super Ossido Dismutase), importante anti ossidante che protegge la cellula dal radicale superossido ( $O_2^-$ ), molecola pericolosamente ossidante che si forma dall'ossigeno. SOD catalizza la dismutazione di  $O_2^-$  in  $H_2O_2$  (acqua ossigenata) e ossigeno. Poiché  $H_2O_2$  è un composto pericoloso, la cellule cerca di distruggerlo subito con la catalasi.
- **NADPH-quinone-oxidoreductase (NQO-1)** che aumenta NADPH (cofattore degli enzimi antiossidanti glutatione reduttasi GSR e tioredoxina reduttasi (TxR) ad azione indiretta dato che rigenerano glutatione (GSH) e tioredoxina (Trx). NADPH è anche cofattore della NADPH-cyt P450 reductase per la fabbricazione degli enzimi Cytochromo P450, attori dei processi di detossificazione in prima linea contro le sostanze chimiche estranee, compresi i farmaci, i veleni, le sostanze cancerogene e gli inquinanti presenti nell'ambiente, ma anche attore di alcuni passaggi della sintesi delle vitamine D e A, di steroidi e di molecole lipidiche di segnalazione (prostaglandine, trombossani, leucotrieni, tutti derivati dall'acido arachidonico). Ricordiamoci che il succo di pompelmo inibisce l'azione del cytochromo P450 e quindi sarebbe da evitare durante un ciclo di ossigeno-ozonoterapia),
- **GSH synthetase** che aumento il livello intracellulare di glutatione, potente antiossidante,
- **Gpx** (glutatione perossidasi), ossidoreductase che permette al glutatione di trasformare  $H_2O_2$  in acqua e glutatione disolfuro (GSSG) che può essere poi riportato a GSH dall'enzima glutatione reduttasi,
- **Catalasi** che catalizza la decomposizione del perossido di idrogeno ad acqua e ossigeno. Protegge la cellula da danno ossidativo da ROS (specie reattive dell'ossigeno),
- **HSP** (Heat Shock Protein) o proteine dello stress con effetto chaperon, che ripiega le proteine per proteggerle, per esempio d'una temperatura elevata,
- **la sintesi degli enzimi di fase II** (Itoh K. et al) (UDP-glucuronosyltrasferasi, GST : Glutatione

S Transferase, N-acetyltrasferasi, Sulfotrasferasi).

L'attivazione di Nrf2 inibisce anche l'espressione o la produzione di altri mediatori pro-infiammatori tra cui :

- **NFκB** ( Li W. et al.),
- **MMPs** (matrix metalloproteinasi ),
- Molecole di adesione cellulare,
- Cyclooxygenase-2 o Prostaglandine endoperoxidasi sintasi 2(**COX-2**),
- **Leucotriene B4 reduttasi** (Dinkova-Kostova A.T.)
- **iNos** (sintetasi inducibile dell'ossido nitrico).

È stato dimostrato che l'attivazione di Nrf2 :

- riduce e inverte lo stress ossidativo (Talalay P. et al., Motohashi H. et al., Jung et al., Susuki T. et al., Kensler T.W. et al., Adam J. et al., Yang Y.C. et al., Zhang S. et al.),
- riconosce e ripara le proteine danneggiate (Dinkova-Kostova A.T.),
- diminuisce il danno neuronale e protegge contro le malattie neurodegenerative (Hong Y. et al., Singh S. et al., Tufekci K.U. et al.),
- abbassa l'infiammazione delle patologie come: asma, enfisema, patologie auto-immune, artrite reumatoide, gastrite, colite, aterosclerosi (Kim J. et al.),
- aumenta l'attività di riparazione del DNA e protegge dell'apoptosi da stress ossidativo (Brunt K.B. et al., Villeneuve N.F. et al.) da **chromo** (He X. et al.) e da **LPS** (Khodagholi F. et al.).

Nel 2019, Xu L.L. et al. hanno anche confermato, sul ratto, che l'attivazione della via Nrf2-ARE inibisce l'infiammasoma NLRP3 con conseguente diminuzione di secrezione di fattori infiammatori e diminuzione della perdita di neuroni dopaminergici.

Diversi lavori hanno dimostrato che Nrf-2 protegge le cellule cerebrali (astrociti e neuroni) e suggeriscono il pathway Nrf2/ARE come target terapeutico per le malattie neurodegenerative (Jiang L.J. et al., Lou H. et al., Modena M. e Siciliano G., Vargas M.R., Yang Y.).

L'attività neuroprotettiva della via Nrf-2 (Jazwa A., Cuadrado A. et Johnson J.A. et al.) si effettua a traverso:

- la riduzione dello stress ossidativo (diminuzione ROS e aumento MNSOD),
- la protezione contro le disfunzioni mitocondriali (diminuzione della liberazione del cytochrome C),
- l'induzione della neurogenesi nell'ipocampo,
- la regolazione della proliferazione e della differenziazione delle cellule staminali neuronali,
- la modulazione dell'infiammazione (aumento IL-10, diminuzione TH17 e INOS "Inducible Nitric Oxide Synthase ),
- la modulazione del processo di autofagia (p62 può attivare Nrf2 tramite il sequestro di Keap 1) (Loboda A. et al.).

**L'OZONO A BASSO DOSAGGIO ATTIVA Nrf2 PER DIMINUIRE LA NEURO-INFIAMMAZIONE E RIPARARE IL DANNO NEURONALE :**

Delgado-Roche L. et al. hanno confermato nel 2017 che l'ozono medico promuove la fosforilazione di Nrf2 riducendo la stress ossidativo e le citochine pro-infiammatorie nei pazienti con sclerosi multipla confermando sull'uomo i risultati trovati nel 2016 sui ratti da Salem N.A. et al. e in vitro da Kucukgul A. et al. su cellule alveolari polmonari con concentrazione di ozono di 20 µmol/l.

Nel 2017, Kizilay Z. et al. hanno ottenuto gli stessi risultati anti-ossidanti dell'ozonoterapia sui ratti e hanno anche osservato una capacità dell'ozono di riparare il danno assonale sulla struttura mielinica.

Nel 2017, Molinari F. et al. hanno evidenziato con la spettroscopia nel vicino infrarosso (NIRS) con tecnica funzionale e vascolare che l'auto-emoterapia con ozono dimostra un miglioramento nel pattern cerebrovascolare testimoniando un aumento del metabolismo cerebrale.

Nel 2018, Wang Z. et al. hanno confermato dal ratto che l' "ozone oxidative preconditioning" (Ozone OP) attiva la via Nrf2 con conseguente riduzione di NLRP3 e di IL-1 $\beta$ .

Nel 2018, Resitoglu B. et al. hanno dimostrato che l'ozono terapia ha ridotto l'apoptosi neuronale e ha migliorato la funzione cognitiva nei ratti neonati con HIBI indotto sperimentalmente.

Nel 2018, Galiè M. et al. hanno evidenziato i meccanismi dell'attivazione del Nrf2 con l'ozono a basso dosaggio su delle colture cellulari HeLa, sui neuroblastomi e sulle cellule staminali adipose: L'ozono induce la traslocazione nucleare di Nrf2 sui siti di cromatina di trascrizione attiva e aumenta l'espressione di geni della risposta anti-ossidante (ARE-driven genes); inoltre, l'attivazione indotta da ozono può essere interrotta dall'espressione ectopica dell'inibitore specifico di Nrf2 (Keap1 = Kelch-like ECH associated Protein 1), provando così il ruolo della via di Nrf2 nella risposta antiossidante mediante il trattamento con ozono a basse concentrazioni. Hanno anche dimostrato che gli effetti dipendono dalla concentrazione di ozono, e in misura diversa sull'organizzazione citoscheletrica, l'attività mitocondriale, la trascrizione nucleare e la modulazione di numerosi geni coinvolti nella risposta cellulare allo stato di stress.

La sicurezza dell'assenza di tossicità delle basse concentrazioni di ozono è stata confermata dallo studio di Scassellati C. et al. nel 2017 effettuato su delle cellule neuronali SH-SY5Y coltivate. Le analisi molecolari e la microscopia elettronica combinate hanno dimostrato che l'ozonizzazione lieve (come quella usata in terapeutica) non influenza la proliferazione o la morte delle cellule, mentre induce la modulazione dei geni coinvolti nella risposta allo stress cellulare (HMOX1, ERCC4, CDKN1A) e nella trascrizione dell'RNA (CTDSP1) senza alterare l'ultrastruttura dei nuclei né la vitalità cellulare.

La citochimica ultrastrutturale dopo incorporazione di bromouridina ha dimostrato un aumento della velocità di trascrizione a livello nucleoplasmatico (mRNA) e nucleolare (rRNA).

Questo studio potrebbe spiegare gli effetti positivi osservati nei pazienti trattati con ozono.

La recente scoperta sul topo che nella depressione provocata da l'espressione della citochina pro-infiammatoria IL-8 (da LPS) è associata una **produzione endogene di ozono**, neutralizzata dall'effetto del limonene ( anti-infiammatorio a basso dosaggio e scavenger ad alto dosaggio, n.d.r.) (Ping L. et al., 2019), fa pensare che l'ozono è prodotto dal cervello nell'infiammazione neurogenica, verosimilmente per contrastarla con l'attivazione della via Nrf2; e quindi che la scelta medica dell'ozonoterapia imita e sostiene il processo naturale di tentativo di auto-guarigione !

## **GLI STUDI CLINICI DELL'OSSIGENO-OZONOTERAPIA NELLA FIBROMIALGIA**

La cura della fibromialgia con l'ossigeno-ozono è stata iniziata in Germania (Berlino e Munich) nel 1993.

In Italia, dal 1998 al 2000, Loconte S. ha trattato 150 pazienti fibromialgici con infiltrazione dei trigger points (5 ml di gas a 5  $\mu$ g di ozono per ml di ossigeno) e grande auto emoterapia (150 ml a 30  $\mu$ g di ozono per ml di ossigeno). I risultati sono stati soddisfacenti: remissione del dolore per 60% e diminuzione significative per 15%.

Nello stesso tempo Cosentino R. et al. hanno fatto un studio su 40 donne con fibromialgia: 20 paziente trattate con grande auto-emoterapia alla concentrazione di 20 a 40  $\mu$ g di ozono per ml di ossigeno, alla frequenza di due volte a settimana, per 16 sedute;



un secondo gruppo di 10 pazienti è stato trattato con ossigeno solo e un terzo gruppo di 10 pazienti senza terapia gassosa. Il terzo gruppo non ha avuto risultati, 30% del secondo gruppo è stato ameliorato e 35% del primo gruppo ha avuto un eccellente risultato.

Nel 2002, Borrelli E. e Bocci V. : 4 pazienti trattati con l'ossigeno-ozonoterapia per via venosa con la grande auto emoterapia hanno avuto un miglioramento significativo ancora presente 6 mesi dopo il ciclo di cura,

Nel 2008, Fahmy Z. consiglia l'ossigeno-ozonoterapia nella cura della fibromialgia con terapia locale (infiltrazioni dei tender e trigger points) e sistemica (grande auto-emoterapia alla concentrazione di 20 µg di ozono per ml di ossigeno con 12 sedute alla frequenza di 2/3 sedute per settimana).

2009 García Fraile E. e Sierras Corbacho J. : Uno studio relizzato in Spagna (Malaga) su 14 donne con sindrome fibromialgica (astenia 100%, dolori cervicali 71%, dolori trapezi 43%, lombalgia 100%, dolori trocanteri 50%, dolori alle ginocchia 29%, sindrome ansio depressiva 71%, rigidità mattutina 50%, insonnia 65%) trattate con psicoterapia e 14 sedute di ozonoterapia: infiltrazioni sopra i tender points e autoemotrasfusioni con inizio a due sedute a settimana, poi una a settimana poi due al mese.

I risultati sono stati soddisfacenti all' 85% per la stanchezza, 80% per il dolore, 85% per la rigidità mattutina, 80% per la depressione e al 88% per l'insonnia.

2010 Coppola et al. hanno osservato miglioramenti significativi dell'umore nei tonni, in poche ore, dopo l'ossigeno-ozonoterapia con autoemotrasfusione in pazienti geriatrici. I  
In più hanno constatato sui questi pazienti un aumento dei fattori neurotrofici cerebrali.

Nel 2011, Clavo B. et al. riportano un case report di miglioramento della perfusione e metabolismo cerebrale evidenziato con SPECT e PET d'un paziente di 75 anni con ischemia cerebrale. Questi risultati sono stati ulteriormente confermati da Frosini M. et al. nel 2012, in un modello sperimentale di ictus che dimostra una significativa riduzione del danno neuronale e della formazione di radicali liberi.

2011 Fahmy Z. (Prof. di Reumatologia, Augusta Clinic for Rheumatic Diseases and Rehabilitation, Bad Kreuznach, Germania): studio randomizzato con controllo trial dell'efficacia dell'ozonoterapia infiltrante dei tender points su 300 pazienti fibromialgici da 45 a 70 anni, con 2/3 sedute settimanali (100 pz con infiltrazione di ozono a 15 µg/ml di ossigeno, 100 pz con infiltrazione di lidocaina 2%, 100 pz placebo). I risultati hanno evidenziato l'efficacia dell'ozono come analgesico, senza effetti collaterali.

Inoltre, il gruppo ozono, ha evidenziato un miglioramento dell'indice di qualità di vita.

2013 Javier Hidalgo-Tallón et al.: Uno studio realizzato in Spagna su 36 pazienti con sindrome fibromialgia ha evidenziato un effetto benefico sui sintomi fisici e depressivi dell'ossigeno-ozonoterapia per via rettale (200 ml di miscela alla concentrazione di 40 µg di ozono per ml di ossigeno) con 5 sedute per settimana per le due prime settimane, poi 2 sedute per settimana per 3- 6 settimane e 1 sedute per settimana per le ultime 7-12 settimane. (24 sedute per paziente su un periodo di 12 settimane).

Gli effetti positivi si sono dimostrati dopo la quarta settimana di cura.

Il dolore è stato valutato con la scala visiva (VAS), gli sintomi generali con un questionario adatto allo studio dei sintomi della fibromyalgia (FIQ, Rivera J. et al. 2004) e gli sintomi psichici con MCS (Mental Component Summary) e con BDI (Beck Depression Inventory). 27,8% dei pazienti hanno avuto un miglioramento clinico globale importante; 41,7 % hanno avuto una diminuzione significative del dolore; 47,2% hanno presentato un miglioramento importante della depressione.

La terapia è stata ben tollerata: transitorio meteorismo subito dopo l'insufflazione rettale del gas (36,1%) e stipsi per 8,1% dei pazienti.

2014 Vélez B.P.L.: Uno studio realizzato in Colombia su 30 donne fibromialgiche trattate durante 5 settimane con 25 sedute di ossigeno-ozonoterapia: 10 intramuscolare (3 ml di miscela alla concentrazione di 15 µg di ozono per ml di ossigeno) due volte a settimana in alternanza a 10 insufflazioni rettali (140 ml di miscela alla concentrazione di 15 µg di ozono per ml di ossigeno) due volte a settimana e una infusione settimanale endovenosa in 20 min. di 250 ml di soluzione saline 0,9% ozonizzata alla concentrazione di 5 µg di ozono per ml di ossigeno. Il dolore è stato valutato con la scala visiva (EVA) e la depressione con la scala di Hamilton. La diminuzione del dolore è stata osservata dalla seconda settimana e continua progressivamente a diminuire fino alla fine dello studio in modo significativo per 43.3% dei pazienti. I test di depressione si sono migliorati passando da moderata a lieve e il 30% dei pazienti ha diminuito il consumo di psicofarmaci.

2016 Franzini M. et Ionita G. Studio italiano su un gruppo di 64 pazienti di geriatria trattati con l'ozono per dolore osteo muscolo articolare. Un sotto gruppo di 8 pazienti fibromialgia ha ricevuto 12 sedute composte di infiltrazioni dei trigger points con concentrazione di 2 µg di ozono per ml di ossigeno, intramuscolari di sangue autologo ionizzato a 30 µg di ozono per ml di ossigeno, insufflazioni intra rettali di 150 ml di miscela ozono-ossigeno a 20 µg di ozono per ml di ossigeno. Il risultato è un miglioramento del dolore da 7 a 2,5 sulla scala visiva VAS.

2017 Balestrero R et al. : un case-report di una donna fibromialgica di 45 anni, trattata con 12 sessioni bisettimanali di autoemo ossigeno-ozonoterapia, seguite da una terapia di mantenimento di una sessione al mese. La paziente ha riportato un miglioramento del dolore, dell'umore, del sonno e una riduzione della fatica.

2017 Fahmy Z. (Prof. di Reumatologia, Augusta Clinic for Rheumatic Diseases and Rehabilitation, Bad Kreuznach, Germania): Studio pilota realizzato su 18 pazienti (6 pazienti con fibromialgia primaria trattati con ossigeno-ozonoterapia in infiltrazioni dei tender points e autoemoterapia, più pregabalin; 6 pazienti con fibromialgia secondaria trattati con ossigeno-ozonoterapia in infiltrazioni dei tender points e autoemoterapia, più amitriptylin; e 6 pazienti placebo): i due gruppi di fibromialgia evidenziano una significativo abbassamento dei valori di VES e PCR (maggiori nella fibromialgia primaria) e un miglioramento dello score clinico (questionario).

2018 Raeissadat S.A. et al. : Uno studio realizzato in Iran su 72 pazienti con dolori miofasciali ha comparato i risultati della terapia dei Trigger Points tra infiltrazione di ossigeno-ozono alla concentrazione di 15 µg/ml d'ossigeno, infiltrazione di lidocaina al 2% e puntura con ago secco. L'utilizzo della lidocaina o dell'ozono si sono rivelati più efficaci sul dolore e la disabilità che la terapia con l'ago secco con valutazione dei risultati dopo 4 settimane di cura, dalla scala visiva del dolore (VAS), dall'irritabilità del Trigger Point misurata con un algometro a pressione (Pain Pression Threshold), della flessione laterale del collo (ROM, range of motion) e dal *neck disability index* (NDI) basato su un questionario di 10 domande sul dolore cervicale. I risultati sono stati leggermente migliori con l'ozono che con la lidocaina ma senza differenza statisticamente significativa tra le due.

Nel 2018, il Dipartimento di Fisiologia e Biofisica della Stony Brook University di New York (USA) ha confermato l'utilizzo dell'ossigeno-ozonoterapia nella cura della Fibromialgia (Seyam O. et al.).

2019 Tirelli U. et al.: Uno studio realizzato in Italia su 65 pazienti (55 femmine e 10 maschi) con sindrome fibromialgia trattati con ossigeno-ozonoterapia a basso dosaggio (55 con autoemotrasfusione e 10 con insufflazione rettale) due volte a settimana per un mese poi due volte al mese in mantenimento ne ha confermato l'efficacia: 70% dei pazienti presentano una significativa riduzione (>50%) dei sintomi.

Il dolore è stato valutato con la Numeric Rating Scale da 0 (assenza di dolore) a 10 (dolore massima) e l'astenia con la Fatigue Severity Scale (da 1 a 7).

## **PROTOCOLLO DELL'OSSIGENO-OZONOTERAPIA NELLA FIBROMIALGIA**

In accordo con le linee guida Europee per la regolazione dello stress ossidativo (Viebahn-Hänsler R. et al.), il mio protocollo di ozonoterapia nella cura della Fibromialgia è autoemoterapia con 50 ml di ossigeno-ozono alla concentrazione di 20 µg di ozono /ml di ossigeno, due volte a settimana per 10 sedute, poi 2 sedute al mese in mantenimento. In caso di necessità, dopo 6 mesi, si può rifare un ciclo intensivo di 10 sedute.

Nel caso di accesso venoso difficile, si può in alternativa praticare l'insufflazione rettale di 300 ml di ossigeno-ozono alla concentrazione di 20 µg di ozono /ml di ossigeno per seduta.

Secondo i casi, si può aggiungere l'ozonoterapia locale dei trigger e tender points con 2/5 ml per iniezione di ossigeno-ozono alla concentrazione di 10/15 µg di ozono /ml di ossigeno secondo il numero e la qualità delle zone da trattare (Fahmy Z., Viebahn-Hansler R.).

In alcuni casi usiamo l'ecografia prima dell'iniezione per individuare precisamente la tendinopatia o per individuare precisamente l'accesso e, dopo dell'iniezione, per valutare la distribuzione dell'ozono nei tessuti trattati (Latini E. et al.).

Forte dei studi clinici di livello C (E.B.M.) (Conference Consensus Nuova F.I.O. 2018), l'ozonoterapia fa ad oggi parte integrante dell'arsenale terapeutico riconosciuto in tutto il mondo dalle Associazioni di pazienti Fibromialgici (Goldberg B., Trivieri L. 2014, Del Pilar M. 2017), a fianco dell'attività fisica (Gomez-Cabrera M.C. et al., Nishishinya M.B. et al., Richards S.C. et Scott D.L.) e dell'alimentazione disintossicante, alcalinizzante, antiossidante, antiinfiammatoria; anche dimagrante in caso di sovrappeso (Bjørklund G. et al., Lattanzio S.M. et Imbesi F. ), della cura della frequente disbiosi intestinale da alterata composizione del microbiota intestinale (Roman P. et al.) , e quindi può essere integrata nel P.D.T.A. (Sarzi-Puttini P. et al.) del paziente fibromialgico associata o no alle altre terapie in vigore.

## **BIBLIOGRAFIA**

Ablyn J. et al. Pathogenesis of fibromyalgia : a review: *Joint Bone Spine* 2008;75:273-279.

Adam J. et al. Renal cyst formation in Fh1-deficient mice is independent of the Hif/Phd pathway : roles for fumarate in KEAP1 succination and Nrf2 signaling. *Cancer Cell*. 2011;20:524-537.

Ajamieh H.H. et al. Effects of ozone oxidative preconditioning on nitric oxide generation and cellular redox balance in a rat model of hepatic ischaemia-reperfusion. *Liver Int*. 2004;24:55-62.

Albrecht D.S. et al. Brain glial activation in fibromyalgia. A multi-site positron emission tomography investigation. *Brain Behav. Immun*. 2018 sep 14; pii:S0889-1591(18)30242-3.

Alciati A. Overactive lifestyle in patients with fibromyalgia as a core feature of bipolar spectrum disorder. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2012; 30(suppl. 74) S122-S128.

Al-Gebouri A.G. et al. Lipid peroxidation and oxidative stress in patients with fibromyalgia syndrome. *Iraqi Postgr. Med. J*. 2011;10:101-105.

Altindag O., Celik H. Total antioxidant capacity and the severity of the pain in patients with fibromyalgia. *Redox Rep*. 2006;11:131-

Arnold L.M. et al. AAPT diagnostic criteria for Fibromyalgia. *J. Pain* 2018. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.jpain.2018.10.008>.

Avila-Costa M.R. et al. Memory deterioration in an oxidative stress model and its correlation with cytological changes on rats hippocampus CA1. *Neurosc. Lett.* 1999;270:107-109.

Bäckryd E. et al. Evidence of both systemic inflammation and neuroinflammation in fibromyalgia patients, as assessed by a multiplex protein panel applied to the cerebrospinal fluid and to plasma. *J. Pain Res.* 2017;10:515-525.

Bagis S. et al. Free radicals and antioxidants in primary fibromyalgia : an oxidative stress disorder. *Rheumatol. Int.* 2005;25:188-190.

Bakkal B.H. et al. Effect of ozone oxidative preconditioning in preventing early radiation-induced lung injury in rats *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2013;46:789-796.

Balestrero R. et al. Use of oxygen-ozone therapy in the treatment of fibromyalgia. *Ozone Therapy.* 2017;2:6744.

Balon R., Wise T.N. Fibromyalgia and Chronic Fatigue : The Underlying Biology in : Clinical Challenges in the Biopsychosocial Interface. Update on Psychosomatics for the 21 st Century. *Adv. Psychosom. Med. Basel, Karger,* 2015, 34:61-77.

Bascom R. et al. Neurogenic inflammation: with additional discussion of central and perceptual integration of nonneurogenic inflammation. *Environmental Health Perspectives.* 1997,105 Suppl 2: 531-7.

Bazzichi L. et al. Cytokine patterns in fibromyalgia and their correlation with clinical manifestations. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2007; 25: 225-230.

Bennet R.M. et al. The revised fibromyalgia impact questionnaire (FIQR) :validation and psychometric properties. *Arthritis Res. Ther.* 2009;11:R120.

Bergman S. Psychosocial aspects of chronic wide-spread pain and fibromyalgia. *Disabil.Rehabil.* 2005;27:675-683.

Björklund G. et al. Fibromyalgia and nutrition : Therapeutic possibilities ? *Biomed. Pharmacother.* 2018 luglio; 103:531-538.

Bocci V. et al. Ossigeno-ozonoterapia. Comprensione dei meccanismi di azione e possibilità terapeutiche. Casa Editrice Ambrosiana, Milano, 2000, 324 p.

Bocci V. Ozone- A new medical drug. Ed. Springer, Dordrecht, 2005.

Bocci V. Scientific and medical aspects of ozone therapy. The state of the art. *Archiv. Med. Res.* 2006;37, 425-435.

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

Bocci V. et al. Ozonation of human blood induces a remarkable upregulation of Heme Oxygenase-1 and Heat Stress Protein-70. *Mediat. Inflamm.,* 2007; 1-6:26785.

Bocci V. et al. Mechanisms of action and chemical-biological interactions between ozone and body compartments : a critical appraisal of the different administration routes. *Curr. Drug Ther.* 2009 b;4:159-173.

Bocci V. et al. The ozone paradox: ozone is a strong oxidant as well as a medical drug. *Med. Res. Rev.* 2009;29:646-682.

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

Bocci V. et al. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J. Transl. Med.* 2011 b;9:66-77.

Bocci V. How a calculated oxidative stress can yield multiple therapeutic effects. *Free Radic. Res.* 2012;46:1068-1075.

Bocci V., Valacchi G. Free radicals and antioxidants : how to re-establish redox homeostasis in chronic diseases ? *Curr. Med. Chem.* 2013;27:3397-3415.

Bocci V., Valacchi G. Nrf2 activation as target to implement therapeutic treatments. *Front. Chem.* 2015;3:4.

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

Bradley LA. Meccanismi fisiopatologici nella FM e nelle malattie correlate. *J. Clin. Psychiatry.* 2008;69 suppl. 2: 6-13.

Brigelius-Flohé R., Flohé L. Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15:2335-2381.

Brunt K.B. et al. Protection of human vascular smooth muscle cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis through functional codependence between HO-1 and AKT. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2006;26:2027-2034.

Buchwald D. et al. Insulin-like growth factor-I (somatomedin C) levels in chronic fatigue syndrome and fibromyalgia. *J Rheumatol* 1996 ; 23 : 739-42.

Buskila D. Fibromyalgia, chronic fatigue syndrome, and myofascial pain syndrome. *Curr. Opin. Rheumatol.* 1999;11:119-126.

Chang J.D. et al. Ameliorative effect of ozone on cytokine production in mice injected with human rheumatoid arthritis synovial fibroblast cells. *Rheumatol. Int.*2005;26:142-151.

Chen H. et al. Ozone oxidative preconditioning inhibits inflammation and apoptosis in a rat model of renal ischemia / reperfusion injury. *Eur. J. Pharmacol.* 2008;581:306-314.

Cho S.J. et al. Fibromyalgia among patients with chronic migraine and chronic tension type headache : a multicenter prospective cross-sectional study. *Headache.* 2017;57:1583.

Chung C.P. et al. Oxidative stress in fibromyalgia and its relationship to symptoms. *Clin. Rheumatol.*2009;28:435-438.

Clauw D.J. et al. The relationship between fibromyalgia and interstitial cystitis. *J Psychiatr Res* 1997 ; 31 : 125-31.

Clauw D.J. Fibromyalgia : a clinical review. *JAMA.* 2014;311:1547.

Clavo B. Brain ischemia and hypometabolism treated by ozone therapy. Case report. *Forsch Komplement Med.* 2011;18:283-287.

Coppola L. et al. Ozonized autohaemotransfusion could be a potential rapid-acting antidepressant medication in elderly patients. *Int. J. Geriatr. Psychiatry.* 2010;25:208-2013.

Cordero M.D. et al. Mitochondrial dysfunction and microphagy activation in blood mononuclear cells of fibromyalgia patients : implications in the pathogenesis of the disease. *Arthritis Res. Ther.* 2010;12:R17.

Cordero M.D. Et al. Mitochondrial dysfunction in skin biopsies and blood mononuclear cells from two cases of fibromyalgia patients. *Clin. Biochem.* 2010;43:1174-1176.

Cordero M.D. et al. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in fibromyalgia. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 2010;31:169-173.

Cordero M.D. et al. NLRP3 Inflammasome is activated in fibromyalgia : The effect of coenzyme Q10. *Antioxid. Redox Signal.* 2014 10 mar;20(8):1169-1180.

Cordero M.D. The inflammasome in fibromyalgia and CRPS : a microglial hypothesis ? *Nat. Rev. Rheumatol.* 2015 nov; 11(11) : 630.

Cosentino R. et al. Efficacia dell'ozonoterapia nella sindrome fibromialgica. *Proceedings I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2- 4 novembre 2000, p.30.*

Cosentino R. Efficacy of oxygen-ozone therapy in fibromyalgia (abstracts della 37eme riunione scientifica annuale della Società Europea per le indagini cliniche. Verona, Italia, 2-5 aprile 2003). *Eur. J. Clin. Invest.* 2003;33(suppl.1):45.

Daniel J., Clauw M.D. Fibromyalgia : a clinical review. *J. Am. Med. Assoc.* 2014;311:15.

Del Giorno R. Palmitoylethanolamide in Fibromyalgia : results from prospective and retrospective observational studies. *Pain Ther.*2015 dec;4(2):169-78.

Delgado-Roche L. et al. Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients. *Eur. J. Pharmacol.* 2017 15 settembre;811:148-154.

Del Pilar Covarrubias Montaña. Fibromyalgia : Pilar's fibropedia central sensitization syndrome (CSS). *Fundación Mexicana para la Fibromialgia Blanca Montaña Casso Lopez A.C. Ediciones ECA, Mexico, 600p.*

Desmeules JA. et al. Neurophysiologic evidence for a central sensitization in patients with fibromyalgia. *Arthritis Rheum* 2003 ; 48 : 1420-9.

Díaz-Soto M.T. Et al. Ozone Therapy ameliorates nervous system disorders and oxidative stress in patients during ethanol withdrawal- A pilot study. *J. Int. Ozone Ass.* 2012;34(6):432-437.

Di Carlo M. Evolving concepts in the classification, diagnosis and epidemiology of fibromyalgia. *Rheumatological Clinic, Università Politecnica delle Marche, Ospedale "Carlo Urbani", Jesi (Ancona), Italy. The International Congress on Controversies in Fibromyalgia. 4-5 march Vienna, Austria.*

- Di Filippo C. et al. Daily Oxygen/O<sub>3</sub> treatment reduces muscular fatigue and improves cardiac performance in rats subjected to prolonged high intensity physical exercise. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2015 jul 21:190640.
- Di Mauro R. et al. The biochemical and pharmacological properties of ozone : The smell of protection in acute and chronic diseases. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20,634; doi:10.3390/ijms20030634.
- Dinkova-Kostova A.T. Phytochemicals as protectors against ultraviolet radiation. Versatility of effects and mechanisms. *Planta Med.* 2008;74:1548-1559.
- Dranguet Vaillant J. et al. Ozone oxidative postconditioning ameliorates joint damage and decrease pro-inflammatory cytokine levels and oxidative stress in PG/PS-induced arthritis in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2013 aug 15;714(1-3):318-324.
- Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol. Rev.* 2002;82:47-95.
- Ellis A., Bennet D.L. Neuroinflammation and the generation of neuropathic pain. *Br. J. Anaesth.* 2013;111:26-37.
- El-Sawalhi M.M. et al. Modulation of age-related changes in oxidative stress markers and energy status in the rat heart and hippocampus : a significant role for ozone therapy. *Cell. Biochem. Funct.* 2013 august; 31(6):518-525.
- Elvis A.M., Ekta J.S. Ozone therapy : a clinical review. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* 2011;2:66-70.
- Emad Y. et al. Hippocampus Dysfunction May Explain Symptoms of Fibromyalgia Syndrome. A Study with Single-Voxel Magnetic Resonance Spectroscopy., in *J. Rheumatol.*, 2008 Jul;35(7):1371-7.
- Fahmy Z. Fibromyalgia : reason and therapy Chapter 27, pp. 628-631 in : *Book of Rheumatology – The applications of Ozone Therapy in pain management, rheumatic and orthopaedic diseases.* 2008, published oneself Prof. Dr. Med. Ziad Fahmy (German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy, 672 p.).
- Fahmy Z. Controlled Study of the efficacy of ozone therapy in Fibromyalgia, sistem review of a randomised controlled trial. [Http://www.ozontherapie-aerzte.ch/Ozontherapie.....2011.html](http://www.ozontherapie-aerzte.ch/Ozontherapie.....2011.html)
- Fahmy Z. Ozone pain therapy by muscularskeletal and joint disease. Second ed. 2016. published oneself Prof. Dr. Med. Ziad Fahmy (German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy).272 p.
- Fahmy Z. Diagnostic, Prognostic and Therapeutic Aspects. The role of ozone therapy in elderly rheumatic patient.2014, published oneself Prof. Dr. Med. Ziad Fahmy (German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy).314 p.
- Fahmy Z. Ozone mode action of the immune system. 2017. published oneself Prof. Dr. Med. Ziad Fahmy (German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy).380 p.
- Fahmy Z. Controlled study of the efficacy of ozone therapy in fibromyalgia. Word Conference on Ozone Therapy in Medicine, Dentistry and Veterinary. 22,23,24 September 2017 Ancona (Italy).
- Fioravanti B. Studio osservazionale di un caso di fibromialgia trattata con terapia dell'ozono : effetti locali e sistemici documentati con Metatron Hunter. Case Report 20 settembre 2016. DOI:10.4081/ozone.2016.6272.
- Franzini M. et Ionita G. Possibility of oxygen-ozone therapy in the geriatric patient. *Ozone Ther.* 2016;1(6471):53-55.
- Frosini M. et al. Selective ozone concentrations may reduce the ischemic damage after a stroke. *Free. Rad. Res.* 2012;46:612-618.
- Fuccio C. et al. A single subcutaneous injection of ozone prevents allodynia and decreases the over-expression of pro-inflammatory caspases in the orbito-frontal cortex of neuropathic mice. *Eur. J. Pharmacol.* 2009;603(1-3):42-49.
- Galiè M. et al. Mild ozonisation activates antioxidant cell response by the Keap1/Nrf2 dependent pathway. *Free Radical Biology and Medicine.* 2018 Aug; 124:114-121.
- Garcia J.J. et al . Alterad profil og chemokines in fibromyalgia patients. *Ann. Clin. Biochem.* 2014 sep; 51(5):576-581.
- Garcia J.J. et al. Aletred release of chemokines by phagocytes from fibromyalgia patyients : a pilot study. *Innate Immun.* 2016 jan;22(1):3-8.
- Giacomelli C. et al. Fibromyalgia : a critical digest of the recent literature. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2013; 31(suppl.79):s153-s157.
- Glass C. et al. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell.* 2010 19 march; 140(6):918-934.
- Goldberg B., Trivieri L. Chronic Fatigue, Fibromyalgia, Lyme Disease. Second Edition, Potter / Ten Speed / Harmony / Rodale, 4 feb 2014, 464 p.
- Goldenberg D.L. et al. Management of fibromyalgia syndrome. *JAMA.* 2004;292:2388-2395.

Goldenberg D.L. et al. Differential diagnosis of fibromyalgia. Literature review. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com), settembre 2016.

Goldenberg D.L. et al. Clinical manifestations and diagnosis of fibromyalgia in adults. Literature review. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com), aprile 2019.

Goldenberg D.L. Diagnosing Fibromyalgia as a disease, an illness, a state or a trait ? *Arthritis Care Res.* 2019;71:334.

Gomez-Cabrera M.C. et al. Moderate exercise is an antioxidant. Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radic. Biol. Med.* 2008;44:126-131.

Gonzalez Alvarez R. et al. Ozone oxidative preconditioning reduces nitrite levels in blod serum in LPS : induce endotoxic shock in mice. *Inflam. Res.* 2009;58(8):441-443.

Gough N.R. The long and short of redox signaling. *Sc.Signal.* 2009;2(90):12.

Guanche D. et al. Effect of ozone / oxygen mixture on systemic oxidative stress and organic damage. *Toxicol. Mec.. Met.* 2010;20(1):25-30.

Guanche D. et al. Effect of ozone pre-conditioning on redox activity in a rat model of septic shock. *Toxicol. Mec.. Met.* 2010;20(8):466-471.

Guaragna M.A. et al. Oxidative Stress and Effectiveness of Systemic Ozone Therapy. *Giornale Italiano Ozono Terapia.* 2018;3:36.

Güçlü A. et al. The effects of ozone therapy on caspase pathways, TNF- $\alpha$ , and HIF-1 $\alpha$  in diabetic nephropathy. *Int. Urol. Nephrol.* 2016 mar; 48(3):441-450.

Guven A. et al. Medical ozone therapy reduces oxidative stress and intestinal damage in an experimental model of necrotizing enterocolitis in neonatal rats. *J. Ped. Surg.* 2009;44(9):1730-1735.

Haack M. et al.: Plasma levels of cytokines and soluble cytokine receptors in psychiatric patients upon hospital admission: effects of confounding factors and diagnosis. *J Psychiatr Res* 1999; 33: 407-18.

Halliwell B. Oxidative stress and neurodegeneration : where are we now ? *J. Neurochem.* 2006;97(6):1634-1658.

Häuser W., Henningsen P. Fibromyalgia syndrome: a somatoform ? *Eur. J. Pain.* 2014 settembre; 18(8):1052-1059.

Häuser W. et al. Fibromyalgia syndrome as a psychosomatic disorder-diagnosis and therapy according to current evidence-based guidelines. *Z. Psychosom. Med. Psychother.* 2013; 59(2):132-152.

Häuser W. et al. Management of fibromyalgia : key messages from recent evidence-based guidelines. *Polish Arch. Int. Med.* 2017;2017:127.

He X. et al. Protection against chromium (VI)-induced oxidative stress and apoptosis by Nrf2 into the nucleus and disrupting the nuclear Nrf2/Keap1 association. *Toxicol. Sci.* 2007;98:298-309.

Hernandez F. et al. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic. Biol. Med.* 1995;19:115-119.

Hidalgo-Tallón J. et al. Ozone Therapy as Add-On Treatment in Fibromyalgia Management by Rectal Insufflation : an Open-Label Pilot Study. *J. Altern. Compl. Med.* 2013;19(3):238-242.

Hong Y. et al. The role of Nrf2 signaling in the regulation of antioxidants and detoxifying enzymes after traumatic brain injury in rats and mice. *Acta Pharmacol. Sin.* 2010 nov;31(11):1421-1430.

Hudson JJ. et al. The relationship between fibromyalgia and major depressive disorder. *Rheum Dis Clin North Am* 1996 ; 22 : 285-303.

Imamura M. Concentration of cytokines in patients with osteoarthritis of the knee and fibromyalgia. *Clin Interv Aging.* 2014;9:939-944.

Inal M. et al. The effects of ozone therapy and coenzyme Q10 combination on oxidative stress markers in healthy subjects. *Irish j. Med. Sc.* 2011;180(3):703-707.

Iqbal R. et al. Pathophysiology and anti-oxydant status of patients with fibromyalgia, *Reumatol. Int.* 2011;31:149-152.

Itoh K. et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997;236:313-322.

Jani P. et al. Ozone therapy : the alternative medicine of future. *Int. J. Pharm. Bio. Sci.* 2012 oct dec; 2(4):196-203.

Jaswa A., Cuadrado A. Targeting heme oxygenase-1 for neuroprotection and neuroinflammation in neurodegenerative diseases. *Curr. Drug Targets.* 2010;11:1517-1531.

Ji R.R. et al. Emerging targets in neuroinflammation-driven chronic pain. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2014 lug; 23(7):533-548.

Jiang L.J. et al. Roles of the Nrf2/HO-1 pathway in the anti-oxidative stress responses to ischemia-reperfusion brain injury in rats. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2017;21(7):1532-1540.

Johnson J.A. et al. The Nrf2-ARE pathway . An indicator and modulator of oxidative stress in neurodegeneration. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2008;1147:61-69.

Jones G.T. et al. The Prevalence of Fibromyalgia in the General Population. A Comparison of the American College of Rheumatology 1990, 2010, and Modified 2010 Classification Criteria. *Arthritis & Rheumatology*, 2015; 67 (2): 568–575.

Joshi G., Johnson J.A. The Nrf2-ARE pathway: a valuable therapeutic target for the treatment of neurodegenerative diseases *Drug Discov*, 2012;7:218–229.

Jung K., Kwak M.K. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. *Molecules.* 2010;15:7266-7291.

Kassam A, Patten SB. Major depression, fibromyalgia and labour force participation: A population-based cross-sectional study. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2006;7:4.

Kelley KW. et al. Cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav. Immun.* (2003) 17 (Suppl 1): S112–8.

Kensler et al. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 2007;47:89-116.

Khodagholi F., Tusi S.K. Stability of Nrf2 by tBHQ prevent LPS-induce apoptosis in differentiated PC12 cells. *Mol. Cell. Biochem.* 2011;354:97-112.

Kim J. Et al. A protective role of nuclear factor-erythroid 2- related factor 2 (Nrf2) in inflammatory disorders. *Mutat. Res.* 2010 aug 7;690(1-2).

Kizilay Z. et al. Ozone partially decreases axonal and myelin damage in an experimental sciatic nerve injury model. *J. Invest. Surg.* 2017 19 settembre;1-10. Doi:10.1080 / 08941939.2017.1369606

Koch M. Palmitoylethanolamide Protects Dentate Gyrus Granule Cells via Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Alpha". *Neurotoxicity Research.* 2010; 19 (2): 330–340.

Koskela L.R. et al. Localization and Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase in Biopsies From Patients With Interstitial Cystitis. *J. Urol.* 2008 august;180(2):737-41.

Kucukgul A. et al. Beneficial effects of nontoxic ozone on H2O2-induced stress and inflammation. *Biochem. Cell Biol.* 2016 dec;94(6):577-583.

Kwak M.K., Kensler T.W. Targeting NRF2 signaling for cancer chemoprevention. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010;244:66-76.

Ladiwala U. et al. P53 induction by tumor necrosis factor- $\alpha$  and involvement of p53 in cell death of human oligodendrocytes. *J. Neurochem.* 1999;73:605-611.

Landay A.L. et al. Chronic fatigue syndrome : clinical condition associated with immune activation. *Lancet* 1991;338:707-712.

La Rubia M. et al. Is fibromyalgia-related oxidative stress implicated in the decline of physical and mental health status ? *Clin. Exp. Rheumatol.* 2013 nov-dic;31(6 suppl 79): S121-S127.

Latini E. et al. Ultrasonography for oxygen-ozone therapy in musculoskeletal diseases. *Med. Gas Res.* 2019;9(1):18-23.

Lattanzio S.M., Imbesi F. Sindrome fibromialgia : un caso clinico sulla remissione controllata dei sintomi nmediante una strategia dietetica. *Front. Med. (Lausanne).* 2018;5:94.

Legangneux E. et al. Cerebrospinal fluid biogenic amine metabolites, plasma- rich platelet serotonin and [3H]imipramine reuptake in the primary fibromyalgia syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2001 ; 40 : 290-6.

León Fernández O.S. et al. Ozone oxidative preconditioning : a protection against cellular damage by free radicals. *Mediat. Inflamm.* 1998;7:289-294.

León Fernández O.S. et al. Ozone Therapy. Oxidative Conditioning, Basis for its Clinical Effectiveness. 2014, 202 p., ODREI publishers.



- León Fernández O.S. Ozone oxidative post conditioning ameliorates joint damage and decreases pro-inflammatory cytokine levels and oxidative stress in PG/PS-induced arthritis in rats. pp. 353-362 in : Fahmy Z. Ozone mode action of the immune system. 2017, published oneself Prof. Dr. Med. Ziad Fahmy (German Medical Association of Ozone Application in Prevention and Therapy). 380p.
- Li W. et al. Activation of Nrf2 antioxidant signaling attenuates NF kappa B-inflammatory response and elicits apoptosis. *Biochem. Pharmacol.* 2008;76:1485-1489.
- Littlejohn G. Neurogenic neuroinflammation in fibromyalgia and complex regional pain syndrome. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2015 nov;11(11):639-648.
- Littlejohn G. Neuroinfiammazione nella fibromialgia e CRPS : top-down o bottom-up? *Nat. Rev. Rheumatol.* 2016 apr; 12(4):242.
- Loboda A. et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases : an evolutionarily conserved mechanism. *Cell. Mol.Life Sci.* 2016;73:3221-3247.
- Loconte S. La sindrome fibromialgica primaria. Proceedings I Congresso IMOS, Italia, Siena, 2-4 novembre 2000, p.40.
- Loconte S. Primary Fibromyalgia Syndrome – New Holistic Approach. Word Conference on Ozone Therapy in Medicine, Dentistry and Veterinary. 22,23,24 September 2017 Ancona (Italy).
- Lou H. et al. Naringenin protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity via activation of the Nrf2/ARE pathway. *Neuropharmacol.* 2014;79:380-388.
- Madej P. et al. Ozonotherapy in an induced septic shock. I. Effects of ozonotherapy on rats organs in evaluation of free radical reactions and selected enzymatic systems. *Inflammation.* 2007;30:52-58.
- Mamik M.K., Power C. Inflammasomes in neurological diseases : emerging pathogenic and therapeutic concepts. *Brain.* 2017 sep 1;140(9):2273-2285.
- Martinez-Sánchez G. et al. Effects of ozone therapy on haemostatic and oxidative stress index in coronary artery disease. *Eur. J. Pharmacol.* 2012 sept 15;691(1-3):156-162.
- Massoni E., Bersani G. Possibile ruolo della sostanza P e del suo recettore NK 1 nei disturbi dell'umore ed in altre condizioni psichiatriche. *Riv. Psichiatria.* 2003; 38,6: 289-295.
- McCall-Hosenfeld JS. et al. Growth hormone and insulin-like growth factor-1 concentrations in women with fibromyalgia. *J Rheumatol* 2003 ; 30 : 809-14.
- Merskey H. Considerazioni fisiche e psicologiche nella classificazione della fibromialgia. *J.Rheumatol Suppl.* 1989 novembre 19:72-9.
- Mease P. et al. Fibromyalgia syndrome : review of clinical presentation, pathogenesis, outcome measures, and treatment. *J. Rheumatol.* 2005;32:6-21.
- Meeus M. et al. The role of mitochondrial dysfunctions due to oxidative and nitrosative stress in the chronic pain or chronic fatigue syndromes and fibromyalgia patients : peripheral and central mechanisms as therapeutic targets ? *Expert Opin. Ther. Targets* 2013 sep;17(9):1081-1089.
- Mmalebuso L. et al. Appraisal of ozone as biologically active molecule and experimental tool in biomedical sciences. *Med. Chem. Res.* 2010;20(9):1687-1695.
- Modena M. Analisi di polimorfismi nel promotore del gene Nrf2 e di biomarcatori di stress ossidativo in pazienti affetti da Sclerosi Latale Amiotrofica. Tesi di Laurea Magistrale in biologia applicata alla Biomedicina. Prof. Gabriele Siciliano, Università di Pisa 2014-2015.
- Moi P. et al. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 1994;91:9926-9930.
- Molinari F. et al. Ozone autohemotherapy induces long-term cerebral metabolic changes in multiple sclerosis patients. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2014;27:379-389.
- Molinari F. et al. Cerebrovascular pattern improved by ozone autohemotherapy : an entropy-based study on multiple sclerosis patients. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2017 agosto;55(8):1163-1175.
- Motohashi H., Yamamoto M. Nrf2-Keap1 defines a physiologically important stress response mechanism. *Trends Mol. Med.* 2004;10:549-557.
- Müller W. et al. La classificazione della sindrome fibromialgica. *Rheumatol Int.* 2007 settembre; 27(11):1005-10.
- Mumaw C.L. et al. Microglial priming through the lung-brain axis : the role of air pollution-induced circulating factors. *FASEB.*

2016;30:1880-1891.

Nishinaka T. et Yabe-Nishimura C. Transcription Factor Nrf2 Regulates Promoter Activity of Mouse Aldose Reductase (AKR1B3) Gene. *J. Pharmacol. Sci.* 2005;97:43-51.

Nishishinya M.B. et al. Intervenciones no farmacológicas y tratamientos alternativos en la fibromialgia. *Med. Clin. (Barc.)* 2006;127(8):295-299.

Nuova Federazione Italiana di Ossigeno-ozono. Consensus Conference del 03/02/2018 Roma "Linee Guida e buone pratiche in ossigeno-ozonoterapia" [www.lineeguidaazono.it](http://www.lineeguidaazono.it)

Oktayoglu et al. et al. Serum levels of high mobility group box 1 protein and its association with quality of life and psychological and functional status in patients with fibromyalgia. *Int. j. Rheumatol. Dis.* 2013;16:403-407.

Orriols R. (December 2009). "Brain dysfunction in multiple chemical sensitivity". *J. Neurol. Sci.* 2009 December; 287 (1–2): 72–8.

Ozgoçmen S. et al. Current concepts in the pathophysiology of fibromyalgia : the potential role of oxidative stress and nitric oxide. *Rheumatol. Int.* 2006;26:585-597.

Ozgoçmen S. et al. Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide in fibromyalgia : etiologic and therapeutic concerns. *Rheumatol. Int.* 2006;26:598-603.

Pecorelli A. et al. NRF2 activation is involved in ozonated human serum upregulation of HO-1 in endothelial cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2013; 267, 30-40.

Pereyra-Muñoz N. et al. Oxidative damage in substantia nigra and striatum of rats chronically exposed in ozone, *J. Chim. Neuroanat.* 2006;31(2):114-123.

Petzke F. et al. Sympathetic nervous system function in fibromyalgia. *Curr Rheumatol Rep* 2000 ; 2 : 116-23.

Ping L. et al. In situ visualization of ozone in the brains of mice with depression phenotypes by using a new near-infrared fluorescence probe. *Chem. Sci.* 2019;10:2805-2810.

Pomares F. B. et al. Histological underpinnings of grey matter changes in fibromyalgia investigated using multimodal brain imaging. *J. Neurosc.* 2017;37:1090.

Raeissadat S.A. et al. Comparison of ozone and lidocaine injection efficacy vs dry needling in myofascial pain syndrome patients. *J. Pain Res.* 2018;11:1273-1279.

Re L. et al. Ozone therapy : clinical and basic evidenze of its therapeutic potential. *Arch. Med. Res.* 2008;39:17-26.

Re L. Is ozone pre-conditioning effect linked to Nrf2/EpRE activation pathway in vivo? A preliminary result. *Eur. J. Pharmacol.* 2014;742: 158–162.

Re R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.* 1999;26:1231–1237.

Resitoglu B. et al. The efficacy of ozone therapy in neonatal rats with hypoxic ischemic brain injury. *Bratisl. Med. J.* 2018;119(2):81-85.

Reuter S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer : how are they linked? *Free Radic. Biol. Med.* 2010 dec.1; 49(11):1603-1616.

Richards S.C., Scott D.L. Prescribed exercise in people with fibromyalgia : parallel group randomised controlled trial. *BMJ.* 2002;325(7357):185.

Roman P. et al. Are probiotic treatments useful on fibromyalgia syndrome or chronic fatigue syndrome patients ? A systematic review. *Beneficial Microbes.* 2018 april 26;9(4):603-611.

Rus Martínez A. et al. Nitric oxide, inflammation, lipid profile, and cortisol in normal and overweight women with fibromyalgia. *Biol. Res. Nurs.* 2016 mar; 18(2):138-146.

Rivas – Arancibia S. et al. Oxidative stress caused by ozone exposure induces loss of brain repair in the hippocampus of adult rats. *Toxicol. Sci.* 2009;113(1):187-197.

Rivera J., González T. The Fibromyalgia Impact Questionnaire : a validated Spanish version to assess the health status in women with fibromyalgia. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2004;22:554-560.

Rivest S. Regulation of innate immune responses in the brain. *Nat. Rev. Immunol.* 2009;9:429-439.

Rodriguez-Martinez E. et al. Mitochondrial dysfunction in the hippocampus of rats caused by chronic oxidative stress. *Neurosci.* 2013;252:384-395.

Rodriguez Z.Z. et al. Preconditioning with ozone / oxygen mixture induces reversion of some indicators of oxidative stress and prevents organic damage in rats with fecal peritonitis. *Inflamm. Res.* 2010;58:371-375.

Russell IJ. The promise of substance P inhibitors in fibromyalgia. *Rheum Dis Clin North Am* 2002 ; 28 : 329-42.

Sagai M., Bocci V. Mechanisms of action involved in Ozone Therapy : Is healing induced via a mild oxidative stress ? *Med. Gas Res.*

2011;1:29-45.

Salaffi F., De Angelis R., Grassi W.: Marche Pain Prevalence; Investigation Group study: Prevalence of musculoskeletal conditions in an Italian population sample: results of a regional community-based study. I. The MAPPING study. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23: 819-28.

Salaffi F., Sarzi-Puttini P. Old and new criteria for the classification and diagnosis of fibromyalgia :comparison and evaluation. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2012; 30 (Suppl. 74): S3-S9.

Salem N.A. et al. Ozone therapy in Ethidium Bromide-induced Demyelination in rats : possible protective effect. *Cell. Mol. Neurobiol.* 2016 aug;36(6):943-954.

Sánchez-Domínguez B. et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and, inflammation common events in skin of patients with Fibromyalgia. *Mitochondrion.* 2015 .21;10:1016.

Sarzi-Puttini P. et al. Consensus conference sulla sindrome fibromialgica : il PDTA.01/10/2017 Associazione Italiana Sindrome Fibromialgica – Società Italiana di Reumatologia- [www.senato.it](http://www.senato.it)

Saxena A., Solitar B.M. Fibromyalgia :knowns, unknowns and current treatment. *Bull. NJU Hosp Jt Dis.* 2010;68:157-161.

Scassellati C. et al. Effects of mild ozonisation on gene expression and nuclear domains organization in vitro. *Toxicol. In vitro.* 2017 oct;44:100-110.

Schiepers O. Cytokines and major depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; 29: 201-17.

Schott K. et al. Autoantibodies to serotonin in serum of patients with psychiatric disorders. *Psychiatry Res.* 2003;121:51-57.

Schulz S. et al. Ozone induces synthesis of systemic prostacyclin by cyclooxygenase-2 dependent mechanism in vivo. *Biochem.Pharmacol.* 2012 feb 15; 83(4):506-513.

Scovronsky D.M. et al. Neurodegenerative diseases : new concepts of pathogenesis and their therapeutic implications. *Ann. Rev. Pathol.* 2006;1:151-170.

Seyam O. et al. Clinical utility of ozone therapy for musculoskeletal disorders. *Med. Gas Res.* 2018 jul-sep;8(3):103-110.

Singh S. et al. Nrf2-ARE stress response mechanism : a control point in oxidative stress-mediated dysfunctions and chronic inflammatory diseases. *Free Radic. Res.* 2010;44:1267-1288.

Slavich G.M., Irwin M.R. From stress to inflammation and major depressive disorder : a social signal transduction theory of depression. *Psychol. Bull.* 2014;140:774-815.

Slotkoff AT. et al. The relationship between fibromyalgia and the multiple chemical sensitivity syndrome. *Scand J Rheumatol* 1997 ; 26 : 364-7.

Smith N.L. et al. Ozone therapy : an overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med. Gas Res.* 2017;7(3):212-219.

Sommer C., Kress M. Recent findings on how proinflammatory cytokines cause pain: peripheral mechanisms in inflammatory and neuropathic hyperalgesia. *Neurosci Lett* 2004; 361: 184-7.

Sommer C., Schafers M: Mechanisms of neuropathic pain: the role of cytokines. *Drug Discov Today* 2004; 1: 441-8.

Staud R. Autonomic dysfunction in fibromyalgia syndrome : postural orthostatic tachycardia. *Curr. Rheumatol Rep.* 2008;10:463

Stone J.R., Yang S. Hydrogen peroxide : a signaling messenger. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8:243-270.

Suzuki T. et al. Toward clinical application of the Keap1-Nrf2 pathway. *Trends Pharmacol.* 2013;34:340-346.

Talalay P. et al. Chemoprotection against cancer by phase 2 enzyme induction. *Toxicol. Lett.* 1995;82-83:173-179.

Thompson ME, Barkhuizen A. Fibromyalgia, hepatitis C infection and the cytokine connection. *Curr Pain Headache Rep* 2003 Oct; 7(5): 342-47).

Tirelli U. et al. Ozone therapy in 65 patients with fibromyalgia : an effective therapy. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2019;23:1786-1788.

Tsuzuki N. et al. Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses. *J. Vet. Med. Sci.* 2016 jan;77(12):1647-1650.

Tufekci K.U. et al. The Nrf2 / ARE pathway : a promising target to counteract mitochondrial dysfunction in Parkinson's Disease.

- Parkinson's Dis. 2011 feb. 22; 2011: 314082. 14 pages. doi: 10.4061 / 2011/314082.
- Üçeyler N. et al. Small fibre pathology in patients with fibromyalgia syndrome. *Brain*. 2013;136(6):1857-1867.
- Uttara B. et al. Oxidative stress and neurodegenerative diseases : a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Cur. Neuropharmacol*. 2009;7(1):65-74.
- Valdenassi L. et al. Oxygen-ozone therapy : paradoxical stimulation of ozone. *Ozone Therapy*. 2016;1(1):5837.
- Valko M. et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2007;39:44-84.
- Van Elzakler M.B et al. Neuroinflammation and cytokines in Myalgic Encephalomyelitis / Chronic Fatigue Syndrome : a critical review of research methods. *Front. Neurol.*, 10 January 2019 | <https://doi.org/10.3389/fneur.2018.01033>.
- Vargas M.R. et al. Nrf2 activation in astrocytes protects against neurodegeneration in mouse models of familial amyotrophic lateral sclerosis. *J. Neurosci*. 2008 dec 10;28(50):13574-13581.
- Vasquez A. Neuroinflammation in fibromyalgia and CRPS is multifactorial. *Nat. Rev. Rheumatol*. 2016 apr; 12(4):242.
- Vélez B.P.L. Ozone therapy, a supplement for patients with fibromyalgia. *Revista Española de Ozonoterapia*. 2014;4:39-49.
- Veltri A. et al. Methodological approach to depressive symptoms in fibromyalgia patients. *Cli. Exp. Rheumatol*. 2012; 30(suppl.74):S136-S142.
- Viebahn-Hänsler R. The use of ozone in Medicine. 5<sup>th</sup> english edition 2007. Karl F. Haug Publishers, Heidelberg, Germany.
- Viebahn-Hänsler R. et al. Ozone in Medicine : The Low-Dose Ozone Concept – Guidelines and treatment strategies. *Ozone : Science and Engineering*. 2012 nov-dec; 34:408-424.
- Viebahn-Hänsler R. et al. Ozone in Medicine : Clinical Evaluation and evidence classification of the Systemic Ozone Applications, Major Autohemotherapy and rectal Insufflation, According to the Requirements for Evidence-Based Medicine.
- Villeneuve N.F. et al. Nrf2 and p21 regulate the fine balance between life and death by controlling ROS levels. *Cell Cycle*. 2009;8:3255-3256.
- Wallace DJ. et al. Cytokines play an aetiopathogenetic role in fibromyalgia : A hypothesis and pilot study. *Rheumatology (Oxford)* 2001 ; 40 : 743-749.
- Wang Z. et al. Ozone protects the rat lung from ischemia-reperfusion injury by attenuating NLRP3-mediated inflammation, enhancing Nrf2 antioxidant activity and inhibiting apoptosis. *Eur. J. Pharmacol*. 2018 sept 15;835:82-93.
- Weglicki WB, Phillips TM. Pathobiology of magnesium deficiency: a cytokine/neurogenic inflammation hypothesis. *Am. J. Physiol*. 1992 Sep;263(3 Pt 2):R734-7.
- Wentworth P.Jr. et al. Evidence for antibody-catalysed ozone formation in bacterial killing and inflammation. *Science*. 2002 13 dicembre; 298(5601):2195-2199.
- Whealy M. et al. Fibromyalgia in migraine : a retrospective cohort study. *J. Headache Pain*. 2018;19:61.
- Wood PB. et al. Hippocampal metabolite abnormalities in fibromyalgia: correlation with clinical features. *J. Pain*. 2009 Jan;10(1):47-52.
- Wolfe F. et al. Fibromyalgia criteria and severity scales for clinical and epidemiological studies: a modification of the ACR Preliminary Diagnostic Criteria for Fibromyalgia. *J Rheumatol*, 2011; 38(6): 1113-22.
- Wolfe F. et al. Hearing loss in fibromyalgia ? Somatic sensory and non-sensory symptoms in patients with fibromyalgia and other rheumatic disorders. *Clin. Exp. Rheumatol*. 2012 nov-dec;30(supl 74):S88-S93.
- Xanthos D.N., Sandkulher J. Neurogenic neuroinflammation : inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nat. Rev. Neurosci*. 2014;15:43-53.
- Xing B. et al. Ozone oxidative preconditioning protects the rat kidney from reperfusion injury via modulation of the TLR4-NFκB pathway. *Acta Cir. Bras*. 2015;30:60-66.
- Xiong W. et al. NRF2 promotes neuronal survival in neurodegeneration and acute nerve damage. *J. Clin. Invest*. 2015;125:1433–1445.
- Xu L.L. et al. 5-(3,4-difluorophenyl)-3-(6-methylpyridin-3-yl)-1,2,4-oxadiazole (DDO-7263), a novel Nrf2 activator targeting brain tissue, protects against MPTP-induced subacute Parkinson's disease in mice by inhibiting the NLRP3 inflammasome and protects

PC12 cells against oxidative stress. *Free Rad. Biol. Med.* 2019 april;134:288-303.

Yang T.Y. et al. Risk for Irritable Bowel Syndrome in Fibromyalgia patients : a national databases study. *Medicine (Baltimore)* 2017;96:e6657.

Yang Y.C. et al. Induction of glutathione synthesis and heme oxygenase 1 by thr flavonoids butein and phloretin is mediated through the ERK/Nrf2 pathway and protects against oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 2011;51:2073-2081.

Yang Y. et al. An overview of the molecular mechanisms and novel roles of Nrf2 in neurodegenerative disorders. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2015 feb;26(1):47-57.

Zamora Rodriguez Z.B. et al. Effects of Ozone Oxidative Preconditioning on TNF- $\alpha$  release and antioxidant,-prooxidant intracellular balance in mice during endotoxic shock. *Mediat. Inflamm.* 2005;1:16-22.

Zamora Rodriguez Z.B. et al. Preconditioning with ozone/oxygen mixture induces reversion of some indicators of oxidative stress and prevents organic damage in rats with fecal peritonitis. *Inflam. Res.* 2009;58(7):371-375.

Zamora Rodriguez Z.B. et al. Effects of ozone oxidative preconditioning on different hepatic biomarkers of oxidative stress in endotoxic shock in mice. *Toxicol. Mec. Met.* 2011;21(3), 236-240.

Zanardi I. et al. Ozone : a multifaceted molecule with unexpected therapeutic activity. *Curr. Med. Chem.* 2016;23:304-314.

Zhang H. et al. The inflammasome as a target for pain therapy. *Br. J. Anaesth.* 2016 dec;117(6):693-707.

Zhang S. et al. Nrf2 transfection enhances the efficacy of human amniotic mesenchymal stem cells to repair lung injury induced by lipopolysaccharide. *J. Cell. Biochem.* 2017; doi:10.1002/jcb.236322.

Zimatkin S.M. et al. Distribution of catalase in rat brain: aminergic neurons as possible targets for ethanol effects. *Alcohol and Alcoholism.* 1996;31(2):167-174.

Zuckerbraun, B. S., and Billiar, T. R. Heme oxygenase-1: a cellular Hercules, *Hepatology.* 2003;37:742-744.

*Articolo realizzato il 20/05/2019 dal Dr Michel MALLARD.*