

OZON TERAPİ: MİT VE GERÇEK

OZONE THERAPY: MYTH AND FACT

Orhan Babuccu

Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD, Zonguldak.

ÖZET

Ozon gazı üç adet oksijen atomundan oluşan doğadaki en güçlü oksidanlardan birisidir. Ozon terapi, vücuda çeşitli yollardan ozon gazı ya da ozon gazına tabi tutulmuş hastanın kendi kanı verilerek oluşturulan oksidatif stresin adıdır. Ozonun vücuttaki etkisi sıvı ortamda oluşan hidrojen peroksit ve hücre zarındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyon sonucu oluşan lipid oksidasyon ürünleri aracılığıyla gerçekleşir. Sonuçta vücut bu kontrollü strese karşı antioksidan mekanizmalarını, bağışıklık sistemini ve diğer nöro-humoral mekanizmaları harekete geçirir, bir tür "fizyolojik aşı" etkisi ortaya çıkar.

Ozon terapinin endikasyonları arasında başlıcaları dolaşım bozuklukları, dejeneratif hastalıklar, kas ve eklem patolojileri, bazı enfeksiyonel hastalıklar, kronik yaralardır. Ozonu solunum sorunları olanlarda, hamilelerde, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliğinde, favizmde ve kontrol altında olmayan hipertiroide kullanmamalıyız.

Ozon terapi henüz FDA tarafından kabul edilmemiştir, aksine halen ozon aynı kurum tarafından toksik olarak kabul edilmektedir. Türkiye'de yeterli kanuni düzenlemeler yoktur.

Sonuç olarak ozon terapi günümüz verilerine göre ne primer ne de alternatif tedavi olabilir, ancak literatürdeki başarılı sonuçları görmezden gelemeziz.

Anahtar kelimeler: Ozon, kronik yara, yanık, diyabetik ayak, enfeksiyon.

ABSTRACT

Ozone is the one of the most potent oxidant in the nature. It is found in tricyclic molecular form. Ozone therapy is a kind of oxidative stress, which is achieved by either direct ozone injection into the tissues or reinfusion of ozonated blood of the patient. Ozone shows its effect via secondary messengers, which are hydrogen peroxide and lipid oxidation products from oxidation of the polyunsaturated fatty acids in the cell membrane. As a result of this controlled stress, the anti oxidant mechanisms, immunity system and other neuro-humoral mechanisms are activated. It is more likely a "physiological vaccine."

Currently, ozon therapy was indicated in the case of circulatory disturbances, degenerative diseases, musculo-skeletal pathologies, some infectious diseases, chronic wounds. Ozone should not be used in patients with respiratory system pathologies, in pregnant, in glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency, favism, and uncontralable hyperthyroidism.

Ozone therapy is not approved by the FDA, contrary it is classified as a toxic material. In Turkey, there is no any legal regulation yet.

As a conclusion, the ozone therapy cannot be accepted neither primary nor secondary treatment modality, on the other hand, we cannot ignore succesful results in the literature.

Keywords: Ozone, chronic wound, burn, diabetic foot, infection.

GİRİŞ

Ozon terapi sağlık özel sektöründe geniş uygulama alanı bulmaya başlamıştır. Ancak bu yöntemini uygulayan çevreler ozonu bir *panacea* (Yunan Mitolojisinde bir şifa tanrıçası) olarak sunmakta ve toplumda karşılanması imkansız beklentilere neden olmaktadır. Öte yandan ozon tedavisinin çeşitli hastalıklarda etkinliğini inceleyen ve sıklıkla doğrulayan yazılar da literatürde artan oranda belirmeye başlamıştır. Türkiye'de henüz konu ile ilgili resmi bir düzenleme yoktur. Yazıda amaçlanan ozon tedavisinin güvenilirliği ile kullanım alanlarını gözden geçirmek ve bu yeni uygulamanın Plastik Cerrahideki olası yerini tartışmaktır.

OZON NEDİR?

Ozon (O₃) çembersel üç oksijen atomundan oluşan, kararsız, depolanamayan, çok açık mavi renkli, keskin kokulu ve havadan daha ağır bir gazdır. Oksijenden 1,6 kat daha yoğun ve 10 kez daha fazla suda çözünür olan bu gazın yarılanma ömrü 20°C'de 40 dakikadır.¹ Adı Yunanca "koku yayan" anlamına gelen "ozein" kelimesinden türemiştir. Oksidan ajanlar arasında florin ve persülfattan sonra üçüncü en kuvvetli oksidan olanıdır. Atmosferdeki ozonun %90'ına yakını, yer yüzeyinden yaklaşık 20-50 km yüksekte bulunan stratosfer tabakası içinde yer alır. Geri kalan %10'luk ozon miktarı ise 10-15 km'ler arasındaki troposfer tabakası içinde bulunmaktadır.² Ozonun stratosferdeki varlığı güneş-

ten gelen ultraviyole B ve C ışınlarını engellediği için hayati iken, yaşadığımız hava katmanı olan troposferde bulunması solunum yolları için çok tehlikelidir ve hava kirliliği olarak kabul edilir.³ Ozon gazı canlılar için toksiktir. Antioksidan kapasiteleri çok düşük olduğundan akciğer ve gözler ozonun toksik etkisine en hassas organlardır. Zarar ozon gazının ortamdaki konsantrasyonunu [ppm - part(s) per million], ortamdaki sıcaklık, nem (ozon nemli ortamda daha aktiftir) ve maruziyet süresine göre değişir.⁴ Direkt maruziyette ciddi sağlık sorunlarına yol açabilen ozon, atmosferdeki bir nevi radyasyon kalkanlığı yanında uzun süredir gıda ve sterilizasyon endüstrisinde ve veterinerlik alanlarında insanlığın hizmetindedir. Bu uç noktadaki davranışı nedeniyle 1935'te Justus von Liebig daha sonra Bocci tarafından Roma tanrısı Janus'a (Yüzleri ters yönlere bakan iki yüzlü Roma tanrısı) benzetilmiştir.⁵

TIBBİ OZON NEDİR?

Tıpta kullanılan ozon özel jeneratörlerde saf oksijenin yüksek voltaj farkından geçmesi sonucu elde edilir. Jeneratörden çıkan bu gazın sadece %3 ila %5'i ozondan oluşmaktadır, geriye kalan kısım ise oksijenden ibarettir.⁶ Ozonu tıpta kullanabilmemiz için ozon cihazlarının ozon üreten kısımlarının çelik (V4A kalitesinde), özel olarak anodlanmış alüminyum, seramik, cam ya da teflon (PTFE) gibi reaksiyona girmeyen maddelerden yapılması gerekirken, ozon vermek için kullanılan donanımların ise cam, polietilen, polipropilen veya teflon olması önerilmektedir.^{1,3} Ozon üretiminde normal hava kullanıldığı takdirde içindeki yüksek azot oranı nedeniyle toksik N₂O₂ (nitrojen dioksit) ortaya çıkar, bu nedenle önerilmez.

Ölçüm ve birim: Ozon konsantrasyonu fotometre ile ölçülür. Bunun için mor ötesi dalga boyuna yakın 254 nm bandı kullanılır. Ozon terapide genellikle "gama" birimi kullanılır. Bu 1 mL ozon/oksijen karışımında 1 µg ozon demektir.

OZON TEDAVİSİNİN TARİHÇESİ^{2,7}

Ozon gazını Alman kimyacı Christian Friedrich Schönbein 1839 yılında keşfetmiştir. Ozonun tıpta kullanımının Birinci Dünya savaşı sırasında A. Wolff (1915) tarafından başlatıldığı bilinmektedir. Payr 1935'te ilk kez sonuçlarını bilim dünyasına sunmuştur. Tıpta kullanılan ilk ozon jeneratörü Doktor Joachim Hansler tarafından 1958'de tasarlanmıştır. Klinikte rutin kullanıma da H. Wolff tarafından 1960'ların sonlarına doğru sokulmuştur. Ozon terapi Rokitansky (1977) ve Werkmeister'in (1981) kronik yaraların tedavisinde ozonu kullanmaya başlaması ile yeni bir ivme kazanmıştır. Günümüzde ise bu alanda İtalyan fizyolog Bocci dikkati çekmektedir.

OZONUN ETKİ MEKANİZMASI

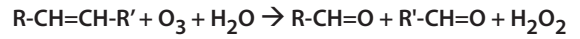
Ozonun etki mekanizmasını kimyasal ve klinik olmak üzere iki ayrı düzlemde incelemekte yarar vardır.

Organik Ortamlarda Ozon Kimyası:

Ozon gazı kuru ortamda etki göstermez. Su, plazma, lenf, serum, ya da idrarda eriyen ozon, reaksiyona girecek bir biyomolekül bulunduğu bu moleküllü oksitlerken aynı zamanda ortama da oldukça reaktif oksijen verir. Bu olay basitçe aşağıdaki gibi özetlenebilir:



Ozon tercih sırasına göre ilk olarak çoklu doymamış yağ asitleri (polyunsaturated fatty acids -PUFA) ile reaksiyona girer, bunu askorbik asit, ürik asit gibi antioksidanlar, sistein gibi -SH grupları içeren tiyol bileşikler, redükte glutatyon (GSH) ve albumin izler. Konsantrasyona bağlı olarak ozon karbonhidratlarla, enzimlerle, RNA ve DNA ile de reaksiyona girebilir. Tüm bu biyomoleküller elektron alıcısı olarak rol oynarlar.³ Ana reaksiyon şu şekilde formülize edilebilir:



Burada 1 nolu komponent PUFA, 2 ve 3 nolu komponentler ise okside olmuş yağ asitleridirler (lipid oxidation product -LOP). Bu reaksiyondan ortaya çıkan hidrojen peroksit (H₂O₂) başlıca reaktif oksijen türüdür (reactive oxygen species -ROS).⁸

Ozonun yağlarla olan reaksiyonunda her zaman karbon atomları arasındaki çift bağlar etkilenirken, proteinlerde çoklu amino asit içeren işlevsel yan zincir bağları etkilenir.^{9,10} Oksijen radikali olarak kabul edemeyeceğimiz H₂O₂ aslında ikincil haberci olarak pek çok biyolojik ve tedavi edici etkilere aracı olur.^{11,12}

Sonuçta radikaller (ROS) ve aldehidler (LOP) kendiliğinden toksik ajanlardır. Peki bunları ortaya çıkartan ozon terapi sırasında ne olmaktadır?

Klinik Uygulamalarda Ozonun Etki Mekanizması:

Ozonun vücuda verilen "kontrollü" oksidatif stres olduğunu söyleyebiliriz.⁶ Ozonun etki mekanizması uygulama biçimine göre değişiklik gösterir.

Bugün en sık kullanılan ozon terapi yöntemi hastanın kendi kanının belirli konsantrasyonlarda ozona maruz bırakıldıktan sonra geri verilmesidir. Ozon gazı hemen plazmada erir ve kan hücrelerinin zarlarındaki doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girip onları oksitlerken aynı zamanda da başta hidrojen peroksit olmak üzere pek çok ROS meydana gelir. ROS plazmada aşırı derecede hızlı oluşur ve ortamdaki antioksidan kapasite %5-25 kadar azalır.¹³ Ancak bu etki geçicidir ve 15-20 dakika içerisinde bir toparlanma olur.¹⁴ Bu arada bir miktar H₂O₂ hücre içine girmiş ve birçok metabolik reaksiyonu tetiklemeye başlamıştır. Hücre içine giren H₂O₂ hemen antioksidanlar tarafından nötrale edilir, öyle ki hücre içi peroksit konsantrasyonu plazma konsantrasyonunun %10'undan yüksek olamaz.¹⁵ Buraya

kadar anlatılan reaksiyon sıklıkla kan vücuda geri verilmeden önce olup bitmiştir.

ROS çok stabil değildir ve vücuda verilmeden önce bozulmaya başlamıştır. LOP daha karardır, ancak o da kana verildiğinde hemen seyrelmeye maruz kalırlar, aynı zamanda da safra ve idrarla bir kısmı dışarıya atılır. Geri kalanlar ise GSH-transferaz (GSH-Tr) ve aldehid dehidrogenaz (ALDH) sistemleri ile metabolize edilir. Geriye kalan mikromolar konsantrasyondaki bu maddeler vücutta devam eden bir oksidatif stresin haberci molekülleri olarak vücuda yayılır.¹⁶ Bunun sonucunda vücuttaki superoksit dismutaz (SOD), GSH-peroksidaz (GSH-Px), GSH-redüktaz (GSH-Rd) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimlerin üretimi artar. Ayrıca LOP oksidatif stres proteinlerini de indükler. Heme-oksijenaz I (HO-I) bunlardan birisidir.¹⁷ Bocci ozon tedavisini yukarıda belirtilen fizyolojik ve biyokimyasal tepkimeler nedeniyle "tedavi edici şok" olarak isimlendirmektedir.³ Her ne kadar ozon dezenfektan etkisi yüksek bir ajan olsa da ozonun in vivo böyle bir etkisi yoktur.

Ozonun Hücre Seviyesindeki Etkileri:

Daha önce de belirtildiği gibi ozonun bizzat kendisinin biyolojik bir etkisi söz konusu değildir. Ortaya çıkan ROS ve LOP ların pek çok etkisinden bahsedilse de çoğu spekülasyon niteliğindedir. Aşağıda literatürde nispeten güvenilir çalışmalar sonucunda elde edilen bilgiler Plastik Cerrahinin ilgi alanları içinde özetlenmiştir.

Kemik iliği: Ozon → kan → LOP → kemik iliği → matriks metalloproteinaz salınımında artma (özellikle MM9) → kök hücrelerinin kemik iliğinden ayrılması.¹⁸ Bu mekanizma henüz tam olarak kanıtlanmamıştır.

Alyuvar: Ozon → kan → H₂O₂ → alyuvar → hücre içi glutatyon/glutatyon disülfid (GSH/GSSG) oranında azalma → redükte nikotinamid adenine dinükleotid fosfat/ nikotinamid adenine dinükleotid fosfat (NADPH/NADP) oranında azalma → Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz (G-6PD) seviyesinde yükselme → pentaz fosfat pathway aktivitesinde artma → Glikolizde artma → ATP miktarında artma.¹⁸

Ozon → kan → H₂O₂ → alyuvar → hücre içi pH'da düşme ve 2,3 difosfogliserid (2,3DPG) miktarında artma → oksijen ayrılma eğrisinin sağa kayması → dokulara oksijen verilmesinde artma.¹⁹

Endotel hücreler: Ozon → kan → LOP → endotel hücreleri → nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) salınımında artma ve plazma S-nitrosothiyollar ve S-nitrosohemoglobin seviyesinde artma → vazodilatasyon.^{20,21}

Platelet: Ozon → kan → H₂O₂ → platelet → aggregasyonda artma.²²

Bunun tam tersini iddia eden çalışmalar da var. He-

modializ hastalarına 50 gamadan haftada 3 kez major otohemoterapi (MOH) uygulanan bir çalışmada platelet aggregasyonunda kontrol gruba göre hiçbir fark bulunamamıştır.²³ Bu çalışmada sitratlı antikoagulan kullanımını tavsiye ediliyor. Bilindiği gibi ortamda bulunan kalsiyum aggregasyonu tetikleyebiliyor.

Ozon → kan → H₂O₂ → platelet → growth faktör üretiminde artma.²²

Bağışıklık hücreleri: Ozon → kan → H₂O₂ → bağışıklık hücreleri → akut faz reaktanları, interlökinler, sitokinlerde artma. Ancak bu artış doz ile orantılı değildir, yaklaşık 40µg/ml'den sonra belirgin bir artış görülmez.^{19,24,25}

OZON VÜCUDA NASIL VERİLİR?

Solunum yolu hariç tüm yollardan verilebilir.³ Bunlardan başlıcaları:

Majör otohemoterapi (MOH): Hastadan 200-270 mL ye kadar kan alınır ve uygun doz ozon gazı kanın bulunduğu kabın içine verilerek kanla 5-10 dakika kadar temas etmesine izin verilir, takiben 15 dakika içerisinde ozonlanmış kan damardan geri verilir. Bir merkez MOH da her mL kana 15µg ile 80 µg arasında ozon miktarı verilmesinin güvenli tedavi penceresi içerisinde olduğu kabul etmekteyken,²⁶ bir başka merkez ise güvenlik sınırını her mL kan için 10-40 µg önerebilmektedir.¹ Kana verilen ozon plazma tarafından tamponlanır, diğer bir deyişle olası zararlı etkileri azaltılır. Plazma olmadığı durumlarda, alyuvarlar SF içindeyken, ozonla temas hemoliz oranı %10 a kadar çıkarabilir.²⁷ Oysa bu oran aynı konsantrasyon ozonda normal kanda %0,5'ten fazla değildir.^{19,28} Konsantrasyon 200 µg/mL ye çıkarıldığında ise hücrelerin %7'sinde hemoliz görülür.⁵

Ozonun antioksidan etki göstermeye başladığı eşik miktar 15-20 µg/mL olarak rapor edilmiştir.⁵ Bu miktarın altındaki konsantrasyonlarda kanda hazır bulunan antioksidan mekanizma ile etkisini göstermeden ROS lar nötralize olur.²⁹ Ozon tedavisine yeni başlayanlar için en yararlı ilke düşük dozdan başlayıp çok yavaş bir şekilde dozu yükseltmektir. Somuta indirgenecek olursa 15 µg/mL den başlayıp yavaş yavaş 40 µg/mL ye kadar çıkmak olarak ifade edilebilir.

Normalde haftada 2 kez ozon tedavisi uygulanır, ancak her gün, hatta günde 3 kez yapıldığı ve bir sorun olmadığı da bildirilmiştir.³

Özellikle yaşlı ve durumu iyi olmayan hastalarda ozonlanacak hacim 300mL üzerine çıkmamalıdır.

Minör otohemoterapi (MİH): 5 mL kan alınır, eşit hacimde ozonla karıştırılır, köpük de dahil olmak üzere hemen gluteal bölgeye intramuskular olarak verilir. Kan enjeksiyon sahasında pıhtılaşır. Oluşan lokal inflamasyonla çevreye mediatör salınımı gerçekleştiği söylene-

de³ henüz bunlar birer hipotez seviyesinde kalmaktadır.

Lokal tedaviler: 1. Dünya savaşı sırasında ozon/oksijen gaz karışımı yaraların dezenfektasyonu ve kokunun giderilmesinde kullanılmıştır. Günümüzde ise gaz karışımının yanında ozonlanmış damıtık su ve ozonlanmış yağ ve kremler (ozonidler) de çeşitli formlarda kullanılmaktadır. İnanılanın aksine ozon deri ve mukozadan geçemez. Bu tabakalardaki sıvı ortamla karşılaştığı an ozon yukarıda basitçe belirtilen reaksiyondanda anlaşılacağı gibi bir saniyeden kısa bir sürede oksijen ve oksijen radikaline dönüşecektir. Yüzeysel ozon tedavisi kutanöz ülserler ve yaralar, yanıklar ve lokal yüzeysel enfeksiyonlarda kullanılmaktadır.

Ozonlu su: Burada önemli olan distile su kullanmaktır. Serum fizyolojik kullandığında oluşan reaksiyonlar sonucunda hipoklorik asit oluşabilir. 20 °C'de, en iyi koşullarda dahi sağlayabilecek maksimum ozon saturasyonu 18-20 µg ozon/ml suyu geçemez, bu nedenle ozonlu su tedavisinde doz aşımı diye bir şey söz konusu olamaz. Ozonun oda sıcaklığında su içindeki yarılanma süresi 10 saattir. Bu süre kapalı kaptaki ve buzdolabı içerisinde 5 güne kadar uzar. Ozonlu su başlıca dezenfektan olarak, ağrıyı azaltıcı olarak, antiinflamatuvar etkileri için, ayrıca akut ve kronik yaralarda iyileşmeyi hızlandıran amaçlarla kullanılmaktadır.¹

Peroksidik yağlar: İçinden ozon geçirilen bitkisel (zeytin) yağda peroksitler ve ozonidler oluşur. Bu uygulamanın gerek yanıklarda gerekse diğer yaralarda iyileşmeyi %40 oranına kadar hızlandırdığı rapor edilmiştir.³⁰

Ozon/oksijen gaz karışımı: Herşeyden önce böyle bir tedavi için yara alanın ıslak olması gerekir. Tedavi uygulanacak alan gaz kaçmayacak şekilde bir torba içine alınır ve ozon/oksijen gaz karışımı ile doldurulur. Bu yöntemde en kritik kısım tedavi süresinin bitiminde ozonun geri alınıp cihaz tarafından oksijen ve suya bozunmasını sağlamaktır.

Vücut boşluklarına ozon verme: Bu yöntem damar sorunu olan hastalarda ya da çocuklarda rektal gaz verme ve vajinal enfeksiyonlarda direk vajinanın içine ozon gazı verme şeklinde uygulanır. Yetişkinlerde 10-25 µg ozon/ml oksijen-ozon karışımı, 150-300 ml hacminde; çocuklarda ise 10-20 µg/ml ozon/ml oksijen-ozon karışımı 10-30 ml hacminde rektal tüp vasıtasıyla verilir. Burada da tedavi bitiminde ozon gazı kontrolü olarak ortamdan uzaklaştırılmalıdır.

Ozon gazı enjeksiyonu: Kas ağrıları gibi durumlarda yada belirli bölgelerdeki yağların eritilmesi amacıyla gaz direkt doku içine enjekte edilir.

OZONTERAPİNİN KLİNİK UYGULAMALARI

Ozon terapi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Tablo 1). Aşağıda ozonun plastik cerrahiye ilgilendiren alanlarda kullanım alanlarının bir kısmı tartışılacaktır. Dikkati çeken nokta ozon tedavisinin 3. Dünya ülkelerinde ve eski Demirperde Ülkelerinde daha radikal ve cesaretle kullanılıyor, Avrupa'da çok daha temkinli bir yaklaşım olduğu, Amerika ve Kanada da ise tamamen yasak olduğudur. Aşağıdaki bilgiler değerlendirilirken işaret edilen yayının yapıldığı merkezin de dikkate alınması tavsiye edilir. Diğer bir konu ise klinik çalışmalarının çoğunun yönteminin henüz bilimsel olarak tatmin edici olmaktan uzak olmasıdır. Ozon, plastik cerrahide başlıca yara ve yanık bakımında kullanılabilir.

Tablo 1. Ozon tedavisi pek çok alanda kullanılmakta ve başarılı sonuçlar rapor edilmektedir.

| Ozon Tedavisinin Kullanıldığı Alanlar |
|--|
| Viral hastalıklar |
| Kronik yaralar |
| İnflamatuvar barsak hastalıkları |
| Yanıklar |
| Mantar hastalıkları |
| Kronik yorgunluk sendromu |
| Kanserde yardımcı tedavi olarak |
| Makular dejenerasyon |
| Kas-iskelet sistemi ağrıları ve hastalıkları |
| Diş hekimliği ve stomatoloji |
| Bazı solunum sistemi patolojileri |
| Dejeneratif hastalıklar (bunama gibi) |
| Bağışıklık sistemi hastalıkları |
| Lokal yağ birikmesi/selülit |

Yara iyileşmesi ve kronik yaralar:

MİH nin tendon ve ligaman proliferatif rejenerasyonunu sağladığını ve klinik uygulamaların çok iyi sonuç verdiğini söyleyen yazılar mevcut,^{31,32} ancak bunların sonuçlarına güvenmek oldukça zor görünmektedir.

Ateşli silah yaralanmasına maruz kalan ve deri grefti konulan hastalarda ozon gazı uygulaması ile greft başarısının %40'tan %75'e çıktığı rapor edilmiştir.³³ Bir başka çalışmada ise 200 kronik yaralı hastanın 187'sinin ozon tedavisi sonucunda belirgin iyileşme gösterdiği bildirilmiştir.³² Öte yandan hava kirliliği sonucu atmosferdeki yüksek orandaki ozonun yara iyileşmesini ters yönde etkilediği hayvan modelinde gösterilmiştir.^{34,35} Sağlıklı bireyler üzerinde yapılan çalışmada ozonun TNF α , IFN- γ ve IL-2 ve diğer interlökin seviyelerini belirgin bir şekilde yükselttiği gösterilmiştir.^{28,36} Tüm bunlar olurken nötrofil fonksiyonlarının bozulmadığı saptanmıştır.³⁷

Ozon terapinin radyoterapi sonrası oluşan cilt reaksiyonlarında ağrıyı ve cilt reaksiyonlarını azaltmada etkili olduğunu savunan çalışma mevcut ancak hasta sayısı sınırlı ve kontrol grubu olmadığından güvenilirliği tartışmalı görünmektedir.³⁸

Ozonun etkisi özellikle diyabetli hastalarda dikkat çekicidir. Diyabetin patogenezinde artmış oksidatif stresin ve azalmış antioksidan kapasitenin varlığı kanıtlanmış durumdadır.^{39,40} Yara iyileşmesini desteklemesinin ötesinde, endotel seviyede NO/O₂ oranının tekrar dengelenmesini sağlayan ozon terapinin diyabetik ayak oluşumuna giden aşamaları en başından engellediği iddia edilmektedir.⁴ Benzer çalışmalar da ozonun diyabet nedeniyle vücutta oluşan oksidatif stresi engellediğini gösterilmiştir.^{42,43} Yapılan klinik çalışmalarda ise diyabetik ayaklarda belirgin bir iyileşme tanımlansa da çalışmanın dizaynı ve takip süresinin sadece 20 gün olması sonuçları inandırıcılıktan uzak kılmaktadır.⁴⁴

Ozon tedavisinin kronik bacak iskemisinde etkili olduğunu iddia eden çalışmalar mevcuttur.⁴⁵⁻⁴⁸ Bu etkinin dolaylı olarak iskemik yaraların iyileşmesine olumlu yönde katkıda bulunması beklenebilir.

İskemik yaraların ozonlu su ile yıkanması ile yapılan lokal yara bakımının tatmin edici sonuçları rapor edilmiştir.¹

Antibakteriyel etki:

Ozonun antibakteriyel etkisi bu maddenin ilk kullanım alanıdır. Sharma ve Hudson tarafından yapılan bir çalışmada ortama verilen 25 ppm lik bir ozon gazının 20 dakika içerisinde kuru yüzeyler ve gereçler dahil ortamdaki hastane kökenli pek çok bakteri için, ki bunların arasında *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium difficile*, ve methicillin-dirençli *Staphylococcus aureus* sayabiliriz, bakterisidal olduğu gösterilmiştir.⁴⁹ Lokal tedavilerde 80 and 100 µg/ml gibi yüksek konsantrasyonlarda ozon "yarayı temizlediği", diğer bir deyişle dezenfektan görevi gördüğü, 10-40 µg/mL civarında ise "yarayı iyileştirdiği" ya da epitelizeasyon ve granülasyonu artırdığı rapor edilmiştir.¹

Mandibula avasküler nekroz:

Özellikle bu patolojide oldukça etkileyici sonuçlar bildirilmiştir,^{50,51} ancak uygulanan tedavi yöntemi daha çok diş hekimliği donanımını gerektirmektedir.

YAN ETKİLER VE KONTRAENDİKASYONLAR

En sık rastlanılan yan etki hemolizdir, teropatik dozlarda dahi bu oran %0,4 ile 1,2 arasında tanımlanmıştır.⁶ Aynı yazıda bu miktarda bir hemolizin ortama HO-1 verdiğinden ötürü yararlı ve istenilen bir şey olduğu savunulmaktadır.

Tabii ki tüm bunların yanında ozonu "toksik", ozon tedavisinin ise "zararlı" olduğunu iddia eden çalışmalar da yok değildir. Özellikle Cataldo ve Gentilini⁵² ozonun hemoglobin ve kolesterol molekülleri üzerindeki yıkıcı etkilerini göstermişlerdir. Buna karşılık direkt insan kanı üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise tam aksi sonuca varıldığı iddia edilmiştir.⁵³

Aslında ozon terapiyi savunanlar da ozonun "toksik" bir ajan olduğunu yadsımlıyorlar ve asıl etkisinin de bu yolla olduğunu belirtiyorlar. Bu fikre karşı Cataldo "Mithridatism" kavramını gündeme getiriyor.⁵⁴ Efsaneye göre Pontus Kralı 6. Mithraides'in kendisini zehirlenmelerden korumak için düzenli olarak az miktarda zehir almış ve zehire karşı bağıışıklık kazanmıştır, o kadar ki intihar etmek istemiş ama başaramamıştır.⁵⁵ Buraya gönderme yaparak Cataldo arsenik ve radyasyonun düşük dozlarının stimülatör etkisinin (hormesis) olduğunu ancak her ikisinin de tedavi amaçlı kullanımının düşünülmediğini, bu mantıkla ozonun neden bir istisna olduğunu soruyor.

Ozon tedavisinin, özellikle MOH un kontraendikasyonları net bir şekilde literatürde belirtilmektedir (Tablo 2). Ek olarak kronik akciğer patolojisi olan hastalarda ozondan uzak durmak akıllıca olacaktır. Diğer bir konu ise seropozitif hastalardır, bazı yayınlarda MOH kontraendikasyonu olarak kabul edilirken bu hastalıklarda işe yaradığı da savunulmaktadır.¹

Tablo 2. Ozon tedavisinin kesin olarak kullanılmaması gereken durumlar. Seropozitif hastalar ve astımlılarda ise çok dikkat edilmelidir. Burada önemle belirtilmesi gereken konu ozon tedavisinin kontraendikasyonları kesin olmasına rağmen şu anda onaylanmış hiçbir endikasyonu olmadığıdır.

Ozon Tedavisinin Yapılmaması Gereken Durumlar:

Ciddi G-6PD eksikliği (Favizm)

Hamilelik

ACE inhibitörü kullanımı

Hipertiroidizm, trombositopeni ve kalp sorunları

Komplikasyonlar:

Literatürde MOH sonrasında ölüm rapor edilmiştir.⁵⁶ Otopside ölüm nedeni olarak gaz embolisi bildirilmiştir. Makalede otopsi sırasında dolaşım sisteminden ve kalpten önemli miktarda gaz çıktığı söylenmektedir. Yazarlara göre bunun en mantıklı nedeni hastadan alınan kan ozonlanırken kan kabının hasta ile bağlantısının kapatılmaması, dolayısıyla verilen ozon gazının direk dolaşıma katılmasıdır. Burada ölüm nedeni olarak bizzat ozon terapinin kendisi değil büyük bir uygulama hatası olduğu görülmektedir. Aksi takdirde 1-2 cc gazın ölümcül olmadığı bilinmektedir.⁵⁷

Aynı şey ozon terapi sonrası viral enfeksiyona maruz kalınması için de geçerlidir.^{58,59} Söz konusu komplikasyonlar ozona ait değil, uygulamaya ait komplikasyonlardır. Bakteriyel enfeksiyonlar için de bu geçerlidir.⁶⁰

Ozon tedavisine atfedilen diğer bir vakada ise neden-sonuç ilişkisi kurmakta zorluk çekiliyor.⁶¹ Elbette her tedavi modalitesi gibi ozon tedavisinin de kendine özgü komplikasyonları vardır ve araştırılmalıdır. Literatürde ozonun direkt etkisinin olası olduğu vakalar da

sunulmuştur.^{62,63} Ancak şu anda ozon terapinin yan etkilerini ve bunların mekanizmasını açıklayacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

OZON TOKSİKOLOJİSİ⁶⁴

A) Kısa dönem (akut) maruziyet:

İnhalasyon: Olası zararın miktarı konsantrasyon ve maruz kalma zamanı ile doğru orantılıdır. Unutulmamalıdır ki çok düşük dozlarda dahi ciddi sonuçlar ve ölüm mümkün olabilir. 0.35 ppm'ye kadar oranlarda, özellikle de vücut aktivitesi fazlaysa bronşial hassasiyetle ilgili belirtiler ortaya çıkar ve 18 saate kadar sürebilir. 0.25-0.75 ppm arasındaki akut maruziyetlerde öksürme, nefes darlığı, göğüs kafesinde sıkışma hissi, dispne, boğaz kuruluğu, hırıltı, kusma ve bulantı görülür. 1 ppm in üstünde maruziyetlerde akciğer fonksiyonlarında düşme, aşırı yorgunluk, baş dönmesi, uyuma güçlüğü ve konsantrasyonda güçlük ile siyanoz görülebilir.

Aralıklı olarak 9 ppm gibi yüksek konsantrasyonlarda hava yollarında inflamasyon başlar.

İş kazalarında görülebilecek olan 11 ppm gibi bir orana 15 dakika maruz kalmak neredeyse tam bilinç kaybına neden olur. 50 ppm'ye 30 dakika maruziyet ölümcül olarak kabul edilir.

Ozonun solunum sistemine olan toksik etkileri 24 saate kadar ortaya çıkmayabilir. Ozonun bu etkilerine zamanla tolerans gelişebilir.

B) Uzun dönem (kronik) maruziyet:

İnhalasyon: Özellikle iş ortamında uzun süreli maruziyetlerde baş ağrısı, göğüs kafesinde sıkışma hissi, pulmoner ödem, burun ve boğazda iritasyon görülebilir.

Ozonun karsinojen, terotojen ya da embriyotoksik olup olmadığı konusunda yeterli çalışma yoktur. Aşırı reaktif olan ozon hemen ortamdaki moleküllerle reaksiyona girdiğinden ve bozunduğundan vücutta birikmesi diye bir şey söz konusu değildir.

HİPERBARİK OKSİJEN TEDAVİSİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Amerikan Sualtı ve Hiperbarik Tıp Derneği tarafından hiperbarik oksijen tedavisinin (HBO) 13 endikasyonu tanımlanmıştır⁶⁵ (Tablo 3).

Bu endikasyonların büyük kısmının ozonu savunan kesimler tarafından da endikasyon kabul edildiğini biliyoruz.³ Öter ve Korkmaz⁶⁶ da yazılarında MOH ve HBO nun ilke olarak benzer mekanizmalara sahip olduğunu, endikasyon çalışmasının maliyet bazlı yapılması gerektiğini savunmuşlardır. Ancak şu anda bizzat kendisinin tartışıldığı bir modalitenin, etkinliği kanıtlanmış bir tedavi yöntemi ile karşılaştırılmasının pratik bir değeri olmadığı ortadadır.

Tablo 3. Hiperbarik oksijen tedavisinin endikasyonları.

| HBO tedavisi endikasyonları |
|---|
| Arteriyel gaz embolisi |
| Karbon monoksit zehirlenmesi |
| Klostridial myosit ve myonekroz |
| Akut periferik iskemi ve ezilme hasarları |
| Dekompresyon hastalığı (vurgun) |
| Bozulmuş yara iyileşmesi |
| Akut kan kaybından dolayı oluşan anemi |
| İntrakraniyel abse |
| Nekrotizan fasiit |
| Dirençli osteomyelit |
| Geç radyasyon hasarı |
| Deri grefti ve flep kaybı tehlikesi |
| Termal yanıklar |

SONUÇ

Ozon terapi bazen "şırıngadaki egzersiz" bazen de "oksidatif ön koşullama" olarak tanımlanmıştır. Hatta ozon tedavisinin bir nevi "hormesis" olduğu bile iddia edilmektedir.⁶ Literatür incelendiğinde oldukça iddialı ve iyimser çalışmalara rastlamak mümkündür. Ancak şu anki verilerle bu modaliteyi kabul edilmiş ve denenmiş tıbbi tedaviler sınıfına koymak mümkün değildir. Diğer bir deyişle şu andaki verilerle ozonterapi asla tek başına bir tedavi yöntemi olarak kullanılamaz. Bu yaklaşım ozoterapinin baştan reddi değildir ancak gerek FDA (US Food and Drug Administration)⁶⁷ gerekse CCOHTA (The Canadian Coordinating Office for Health Technology Assessment)⁶⁸ tarafından toksik kabul edilmekte ve hiçbir tedavi yönteminde kabul edilmemektedir.

Ozon tedavisinin dolaylı zararı, yani hastanın ozon tedavisine bel bağlayarak asıl tedavisini bırakması yada geciktirmesi bir diğer tartışılan konudur.

Ülkemize baktığımızda ise Sağlık Bakanlığının tutumunun çok net olmadığını görmekteyiz. Bu konuda henüz hiçbir yasal düzenleme yapılmamıştır. Bazı dernekler ozon tedavisinin bilimsel ve yasal platforma oturtulması için yoğun mücadeleler verseler de bu konu halen istismara açıktır.

ÖNLEMLER VE ÖNERİLER

Ozon tedavisi yeni bir kemoterapi ajanı gibi ciddiye alınmalı ve gerekirse faz 1 çalışmalarından başlanarak güvenliği ve uygulanabilirliği denetlenmelidir. Bu arada söz konusu yasal boşluklar da gerekli düzenlemelerle acil olarak giderilmelidir.

Ozon terapi onaylandığı takdirde atılması gerekli adımlar vardır. En başta ozonun toksik bir madde olduğu unutulmamalı, hasta, doktor ve sağlık çalışanının güvenliği ön planda tutulmalıdır. Bunun için ortamdaki ozon miktarının ppm cinsinden devamlı ölçümü zo-

runlu hale getirilmeli, çalışanların sağlığı düzenli olarak denetlenmeli, ozon cihazlarının kalibrasyonu ve sarf malzemelerine standardizasyon getirilmelidir. Endikasyonların ve kontraendikasyonların çok net saptanması da ozon terapi onaylandığı takdirde önemli konulardan birisi olacaktır.

Özetle ozon tedavisini yardımcı ya da destekleyici bir uygulama olarak kabul etmek mümkün değildir. Ozon terapi invaziv ve ciddi yan etkileri olabilecek bir kavramdır. Tüm çalışmalar ve yasal düzenlemelerin bu önerme doğrultusunda yapılması hasta sağlığı açısından gereklidir.

Prof. Dr. Orhan BABUÇCU
Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Hastanesi
Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi AD
S Blok, Kat 3 67600, Kozlu ZONGULDAK
Tel: 0372 2612922
E-posta: orhanbabuccu@karaelmas.edu.tr

KAYNAKLAR

1. Beck EG, Wasser G, Viebahn-Hänsler R. The current status of ozone therapy empirical developments and basic research. *Forsch Komplementärmed.* 1989; 5:61-75 (İngilizce versiyonu).
2. Özler M, Öter Ş, Korkmaz A. Ozon gazının tıbbi amaçlı kullanılması. *TAF Prev Med Bull.* 2009; 8(1):59-64.
3. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. *State of the art. Arch Med Res.* 2006; 37(4): 425-35.
4. Uysal N, Schapira RM. Effects of ozone on lung function and lung diseases. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9(2):144-50.
5. Bocci V. Ozone as Janus: This controversial gas can be either toxic or medically useful. *Mediators Inflamm.* 2004;13(1): 3-11.
6. Bocci VA. Tropospheric ozone toxicity vs. usefulness of ozone therapy. *Arch Med Res.* 2007;38(2): 265-67.
7. Viebahn-Haensler R. Milestones of medical ozon. 15th Ozone World Congress of the International Ozone Association. September 2001, London, England. Available from: http://www.ozonosan.de/milestones_of_medical_ozone_17.htm .
8. Pryor WA, Squadrito GL, Friedman M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: The role of lipid ozonation products. *Free Radic Biol Med* 1995 (6);19:935-41.
9. Uppu RM, Pryor WA. The reactions of ozone with proteins and unsaturated fatty acids in reverse micelles. *Chem Res Toxicol.* 1994;7(1): 47-55.
10. Hernandez, FA. To what extent does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidative stress. *Arch Med Res.* 2007;38(5): 571-8.
11. Halliwell B, Clement MV, Long LH. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett* 2000;486(1):10-3.
12. Bocci V, Aldinucci C, Bianchi L. The use of hydrogen peroxide as a medical drug. *Riv Ital Ossigeno Ozonoterapia.* 2005;4:30-39.
13. Rice-Evans C, Miller NJ. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods Enzymol.* 1994; 234: 279-93.
14. Mendiratta S, Qu Z-C, May JM. Erythrocyte ascorbate recycling: antioxidant effects in blood. *Free Radic Biol Med.* 1998;24(5):789-97.
15. Antunes F, Cadenas E. Estimation of H₂O₂ gradients across biomembranes. *FEBS Lett* 2000; 475: 121-6.
16. Dianzani MU. 4-Hydroxynonenal and cell signalling. *Free Radic Res.* 1998;28(6):553-60.
17. Snyder SH, Baranano DE. Heme oxygenase: a font of multiple messengers. *Neuropsychopharmacology.* 2001;25(3):294-8.
18. Bocci V. OZONE. A New Medical Drug. Dordrecht, The Netherlands:Springer;2005.
19. Bocci V, Luzzi E, Conradeschi F, Paulescu L, Rossi R, Cardaioli E, et al. Studies on the biological effects of ozone. 4. Cytokine production and glutathion levels in erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents.* 1993(4); 7:133-8.
20. Valacchi G, Bocci V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediat Inflamm.* 2000;9(6):271-6.
21. Frehm EJ, Bonaventura J, Gow AJ. S-nitrosohemoglobin: An allosteric mediator of NO group function in mammalian vasculature. *Free Radic Biol Med* 2004;37(4):442-53.
22. Bocci V, Valacchi G, Rossi R, Giustarini D, Paccagnini E, Pucci AM, et al. Studies on the biological effects of ozone: 9. Effects of ozone on human platelets. *Platelets.* 1999; 10(2-3): 110-16.
23. Tylicki L, Lizakowski S, Biedunkiewicz B, Skibowska A, Newegłowski T, Chamienia A, et al. Platelet function unaffected by ozonated autohaemotherapy in chronically haemodialysed patients. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2004;15(7):619-22.
24. Bocci V, Paulesu L. Studies on the biological effects of ozone: 1. Induction of interferon gamma on human leucocytes. *Haematologica* 1990;75(6):510-5.
25. Bocci V, Luzzi E, Corradeschi F. Studies on the biological effects of ozone: 5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy. *Biotherapy.* 1994;7(2):83-90.
26. Cross CE, Reznick AZ, Packer L, Davis PA, Suzuki YJ, Halliwell B. Oxidative damage to human plasma proteins by ozone. *Free Radic Res Commun.* 1992;15(6): 347-52.
27. Goldstein BD, Balchum OJ. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126(2): 356-8.
28. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Aldinucci C, Silvestri S, Paccagnini E, et al. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone. *J Biol Regulat Homeost Agents* 1998; 12(3): 67-75.
29. Bocci V. Is it true that ozone is always toxic? The end of a dogma? *Toxicol Appl Pharmacol.* 2006; 216(3): 493-504.
30. Schulz S: Ein neues Tiermodell zur integralen Messung von Heilvorgängen bei kleinen Labortieren am Beispiel von ozoniertem Olivenöl [A new animal model for the integral measurement of healing processes in small laboratory animals with ozonized olive oil as example]. *Dtsch Tierärztl Wochenschr / Ger Vet Med Weekly* 1981; 88:60-4.
31. Gracer, R.L., Bocci, V. Can the combination of localized "proliferative therapy" with "minor ozonated autohemotherapy" restore

- the natural healing process? *Med Hypotheses*. 2005; 65(4): 752-9.
32. Dolphin S, Walker M. Healing accelerated by ionozone therapy. *Physiotherapy*. 1979; 65(3):81-2.
 33. Turcic J, Hancevic J, Antoljack T, Zic R, Alfrevic I. Effects of ozone on how well split-thickness skin grafts according to Thiersch take in war wounds. Results of prospective study. *Langenbecks Arch Chir*. 1995;380(3):144-8.
 34. Lim Y, Phung AD, Corbacho AM, Aung HH, Maioli E, Reznick AZ, et al. Modulation of cutaneous wound healing by ozone: Differences between young and aged mice. *Toxicol Lett*. 2006;160: 127-34.
 35. Polosa R, Sapsford RJ, Dokic D, Cacciola RR, Prosperini G, Devalia JL, et al. Induction of the epidermal growth factor receptor and its ligands in nasal epithelium by ozone. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(1):120-6.
 36. Bocci V, Valacchi G, Corradeschi F, Fanetti G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediators Inflamm*. 1998; 7(5):313-7.
 37. Margalit M, Attias E, Attias D, Zimran A, Matzner Y. Effect of ozone on neutrophil function in vitro. *Clin Lab Haematol*, 2001. 23(4): 243-7.
 38. Jordan L, Beaver K, Foy S. Ozone treatment for radiotherapy skin reactions: Is there an evidence base for practice? *Eur J Oncol Nurs*. 2002; 6 (4): 220-7.
 39. Akkus, I., Kalak, S., Vural, H., 1996. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clin. Chem. Acta* 344 (2), 221-7.
 40. Atalay, M., Laaksonen, D.E., Niskanen, L., 1997. Altered antioxidant enzyme defenses in insulin-dependent diabetic men with increased resting and exercise-induced oxidative stress. *Acta Physiol. Scand*. 161 (2), 195-201.
 41. Bocci V, Zanardi I, Huijberts MSP, Travagli V. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diab Met Syndr: Clin Res Rev*. 2010 (basimda); 1-5.
 42. Al-Dalain SM, Martinez G, Candelario-Jalil E, Menendez S, Re L, Giuliani A, et al. Ozone treatment reduces markers of oxidative and endothelial damage in an experimental diabetes model in rats. *Pharmacol Res* 2001;44(5):391-6.
 43. Marti'nez G, Al-Dalain SM, Mene'ndez S, Giuliani A, Leo'n OS. Ozone treatment reduces blood oxidative stress and pancreas damage in streptozotocin induced diabetes model in rats. *Acta Farmaceutica Bonaerense* 2005;24:491-7.
 44. Marti'nez-Sa'nchez G, Al-Dalain SM, Mene'ndez S, Re L, Giuliani A, Candelario- Jalil E, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *Eur J Pharmacol* 2005;523(1-3):151-61.
 45. Tylicki L, Niew GT, Biedunkiewicz B, Burakowski S, Rutkowski B. Beneficial clinical effects of ozonated autohemotherapy in chronically dialysed patients with atherosclerotic ischemia of the lower limbs-pilot study. *Int J Artif Organs*. 2001;24(2):79-82.
 46. Clavo B, Perez JL, Lopez L, Suarez G, Lloret M, Rodriguez V, et al. Effect of ozone therapy on muscle oxygenation. *J Altern Compl Med* 2003;9(2):251-6.
 47. Biedunkiewicz B, Tylicki L, Niewegloski T, Burakowski S, Rutkowski B. Clinical efficacy of ozonated autohemotherapy in hemodialyzed patients with intermittent claudication: an oxygen-controlled study. *Int J Artif Organs*. 2004;27(1):29-34.
 48. De Monte A, van der Zee H, Bocci V. Major ozonated autohemotherapy in chronic limb ischemia with ulcerations. *J Alt Compl Med*. 2005; 11(2):363-7.
 49. Sharma M, Hudson JB . Ozone gas is an effective and practical antibacterial agent. *Am J Infect Control*. 2008;36(8):559-63.
 50. Agrillo A, Ungari C, Filiaci F, Priore P, Iannetti G. Ozone Therapy in the treatment of avascular bisphosphonate-related jaw osteonecrosis. *J Craniofacial Surg*. 2007;18(5): 1071-5.
 51. Agrillo A, Petrucci MT, Tedaldi M, Mustazza MC, Marino SM, Galluci C, et al. New Therapeutic Protocol in the Treatment of Avascular Necrosis of the Jaws. *J Craniofacial Surg*. 2007;17(6): 1080-3.
 52. Cataldo F, Gentilini L. On the action of ozone on whole bovine blood. *Polym Degrad Stab*. 2005;89(3): 527-33.
 53. Travagli V, Zanardi L, Bocci V. A realistic evaluation of the action of ozone on whole human blood. *Int J Biol Macromol*. 2006; 39(4):317-20.
 54. F. Cataldo. How a superficial interpretation of a scientific result can be used as a pretext for the publicity of ozone therapy. *Int J Biol Macromol*. 2005; 37 (5): 289-90.
 55. Available from: <http://en.wikipedia.org/wiki/Mithridatism>
 56. Marchetti D, La Monaca G. An unexpected death during oxygen-ozone therapy. *Am J Forensic Med Pathol*. 2000; 21(2):144-7.
 57. Oppenheimer MJ, Durant TM, Lynch P. Body position in relation to venous air embolism and the associated cardiovascular respiratory changes. *Am J Med Sci* 1953;225(4):362-3.
 58. Daschner FD. Hepatitis C and human immunodeficiency virus infection following ozone autohaemotherapy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1997;16(8):620.
 59. Faustini A, Capobianchi MR, Martinelli M, Abbate I, Cappiello G, Peruci CA. A cluster of Hepatitis C virus infections associated with ozone- enriched transfusion of autologous blood in Rome, Italy. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005; 26(9):762-7.
 60. Gazzeri R, Galarza M, Neroni M, Esposito S, Alfieri, A. Fulminating septicemia secondary to oxygen-ozone therapy for lumbar disc herniation. *Spine*. 2007;32(3): E121-3.
 61. Ventral and dorsal root injury after oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation Ginanneschi F, Cervelli C, Milani P, Rossi A. *Surg Neurol*. 2006;66(6): 619-21.
 62. Lo Giudice G, Valdi F, Gismondi M, Prosdocimo G, de Belvis V. Acute bilateral vitreoretinal hemorrhages following oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation. *Am J Ophthalmol*. 2004;138(1):175-7.
 63. Corea F, Amici S, Murgia N, Tambasco N. A case of vertebrobasilar stroke during oxygenozone therapy. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2004;13(6):259-261.
 64. Topical Ozone Therapy for the Treatment of Diabetic Leg Ulcers, CCOHTA No. 8 2002. Available from :http://www.cadth.ca/media/pdf/234_No8_ozonotherapy_preassess_e.pdf
 65. Feldmeier JJ, Chairman and Editor. The Hyperbaric Oxygen Therapy Committee Report; Undersea and Hyperbaric Medical Society: Kensington, 2003.
 66. Öter S, Korkmaz A. Relevance of hyperbaric oxygen to ozone therapy. *Arch Med Res*. 2006; 37 (7): 917-8.
 67. Available from: <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?FR=801.415> CFR - Code of Federal Regulations Title 21, 2010 revision.
 68. Available from: http://www.cadth.ca/media/pdf/234_No8_ozonotherapy_preassess_e.pdf