

Fatigue nella PASC (sequele post-acute di SARS-CoV2) trattata con ossigeno-ozono autoemoterapia. Risultati preliminari su 100 pazienti

U. TIRELLI¹, M. FRANZINI², L. VALDENASSI², S. PISCONTI³, R. TAIBI⁴,
C. TORRISI⁵, S. PANDOLFI^{2,6}, S. CHIRUMBOLO⁷

¹Tirelli Medical Group, Pordenone, Italy

²SIOOT, High School in Oxygen Ozone Therapy, University of Pavia, Italy; SIOOT INTERNATIONAL, Communian Clinic, Gorle, Bergamo, Italy

³Department of Onco-Hematology Medical Oncology, S.G. Moscati Hospital of Taranto, Taranto, Italy

⁴Gruppo Oncologico Ricercatori Italiani, Gori (PN)

⁵Division of Physiatry, University of Messina, Messina, Italy

⁶Villa Mafalda Clinics, via Monte delle Gioie, Rome, Italy

⁷Department of Neurosciences, Biomedicine and Movement Sciences, University of Verona, Verona, Italy

Riassunto

OBBIETTIVO: La PASC (sequele post-acute dell'infezione da SARS-CoV2 è una nuova terminologia usata per descrivere la persistenza dei sintomi post-COVID, imitando in qualche modo quelli precedentemente descritti nella sindrome da stanchezza cronica (CFS). In questo lavoro, abbiamo valutato un approccio terapeutico per affrontare la fatica (detta fatigue) derivata dalla PASC in una coorte di pazienti pregressi positivi al COVID-19.

PAZIENTI E METODI: Un numero di 100 pazienti, precedentemente diagnosticati come positivi al COVID-19 e soddisfacenti i nostri criteri di ammissibilità, è stato diagnosticato con un affaticamento (fatigue) correlato alla PASC. Sono stati reclutati nello studio e trattati con ossigeno-ozono autoemoterapia (O₂-O₃-AHT), secondo il protocollo SIOOT. La risposta dei pazienti a O₂-O₃-AHT e i cambiamenti nella fatigue sono stati misurati con il punteggio di a 7 punti della scala FSS Fatigue Severity Scale (FSS), secondo quanto precedentemente pubblicato in precisi protocolli.

RISULTATI: Le statistiche hanno valutato che gli effetti di O₂-O₃-AHT su PASC . riducevano i sintomi della fatigue del 67%, in media, in tutta la coorte di pazienti indagati ($H = 148,4786$ $p < 0,0001$) (Figura 1). I pazienti che avevano seguito la terapia O₂-O₃-AHT, guarivano completamente dalla fatigue associata alla PASC, per circa un due quinti (40%) della coorte totale che ricevevano ozono e malgrado la maggior parte dei soggetti erano donne, l'effetto non veniva influenzato dalla diversa distribuzione sessuale ($H = 0.7353$, $p = 0.39117$).

CONCLUSIONI:

L'ozono terapia è in grado di recuperare la normale funzionalità e alleviare il dolore ed il disagio sotto forma di stanchezza associata a PASC in almeno il 67% dei pazienti affetti da PASC, a prescindere da età e sesso.

Introduzione

Il COVID-19 provoca gravi disturbi sistemici. L'infezione da SARS-CoV2 danneggia l'endotelio, portando ad una possibile immuno-trombosi¹ e inoltre, i pazienti infetti da SARS-CoV2, anche dopo la guarigione dalla malattia, possono soffrire a lungo disagi, dolore e affaticamento (fatigue), classificati collettivamente come "Sequela post-acute di infezione da SARS-CoV2" o PASC². Lowe et al., in uno studio prospettico di coorte longitudinale, coorte che comprendeva 234 adulti (177 entrati nello studio), ha descritto queste sequele e ha valutato che il sintomo più comune e persistente era la fatica². La fatica è un marker principale di PASC nei pazienti che ancora subiscono le conseguenze dovute al precedente COVID-19. Questi pazienti dovrebbero essere presi in carico con innovativi approcci terapeutici per alleviare la fatica, ma nuovi suggerimenti per affrontare questa grande problematica nella pandemia di COVID-19 sono ancora lontani da essere completamente affrontati. Sembra che la PASC non possa contare su affidabili terapie finora, rappresentando una grande preoccupazione per la gestione delle sequele post-COVID³. Inoltre, anche la diagnosi di PASC rappresenta a tutt'oggi un problema irrisolto.

Ad oggi, uno strumento affidabile e fattibile per indagare la fatica nei pazienti PASC è l'intervista individuale⁴. In questa prospettiva, abbiamo affrontato la valutazione della fatica correlata al PASC utilizzando un questionario di punteggio FSS modificato di Neuberger⁵. Questo metodo è stato introdotto per valutare la capacità di una miscela ossigeno-ozono tramite grande autoemotrasfusione (O₂-O₃-AHT) per ridurre la sintomatologia della fatica nei pazienti PASC. Questo breve lavoro descrive i risultati raccolti da uno studio clinico multicentrico di uno studio case series.

Pazienti e metodi

I pazienti ambulatoriali sono stati reclutati in modo randomizzato da due cliniche di grande esperienza (Pordenone e Bergamo), al fine di raggiungere la corretta dimensione del campione per statistica ottimale. La dimensione del campione è stata calcolata per raggiungere un intervallo di errore di circa il 10%. Riferito a una proporzione della popolazione del 51%, i dati di previsione sono risultati entro un errore del 13,86% con 50 pazienti, mentre 9,80% (<10%) con 100 pazienti, considerando una probabilità di confidenza del 95%. I criteri di elezione erano rappresentati dalla precedente positività del tampone ad infezione da SARS-CoV2, da COVID-19 da moderato a grave, da ampia distribuzione per età (25-90 anni), nessuna precedente malattia infiammatoria cronica o da sindromi di affaticamento diverse dalla PASC. La fatica è stata classificata

come correlata a PASC invece che CFS da criteri anamnestici e sintomatologici da uno degli autori (UT), con rinomata esperienza nel campo, e seguendo anche ulteriori criteri pubblicati altrove in letteratura⁶.

In breve, una coorte di 100 pazienti caucasici ambulatoriali sono stati esaminati presso il Clinical Medical Group di Pordenone e dalla Cominian Clinics di Bergamo (età media 55,21 anni \pm 12,72, IC95 = 52,72-57,70). I pazienti hanno sperimentato COVID-19 nei precedenti 6 mesi e attualmente stavano soffrendo dalla stanchezza (fatigue) post-COVID-19. Essi sono stati valutati con un sistema a 7 punti noto come Fatigue Severity Scale (FSS) prima di sottoporsi alla terapia⁵ (Tabella IA). I pazienti hanno firmato un consenso informato, prima di entrare nello studio, seguendo qualsiasi criterio etico sotto la Dichiarazione di Helsinki. Al momento dell'iscrizione, i soggetti reclutati erano tutti SARS-CoV2 negativi, non avevano assunto farmaci terapeutici nelle precedenti 72 ore, non avevano mostrato né segni né sintomi o diagnosi di tumori e altre sindromi o disordini immunologici cronici o non correlate alla precedente COVID-19. Dopo il questionario FSS, i pazienti sono stati sottoposti a terapia canonica con minimo un trattamento di autoemoterapia O₂-O₃ (AHT).

Risultati

La tabella IB riassume i principali risultati ottenuti da questo studio preliminare. I pazienti sono stati tutti trattati, tranne tre di loro (con cambiamento molto modesto), tutti hanno fortemente migliorato il loro stato di salute. I pazienti con il punteggio FSS più alto prima del trattamento ha rappresentato il 74%, di cui 54/74 = 72,97% erano soggetti di sesso femminile. La percentuale di punteggio delta FSS più alto, calcolato come differenza tra FSS_{pre-trattamento} e FSS_{post-trattamento}, (Δ FSS = - 6), era del 36%, a seguito di O₂-O₃-AHT, mentre il più basso (Δ FSS = - 1), era pari al 3%, mentre con Δ FSS = - 2, era pari al 9%. L'85% dei pazienti ha riportato un miglioramento FSS da 7 ad almeno 3. Le statistiche hanno valutato che l'O₂-O₃-AHT riduceva i sintomi da PASC, cioè la fatigue o affaticamento, di almeno il 67% (in media), in tutta la coorte di pazienti investigata ($H = 148,4786$ $p < 0,0001$) (Figura 1). I pazienti dopo la terapia O₂-O₃-AHT, recuperavano abbastanza completamente la salute dalla fatica associata al PASC, che rappresenta una percentuale pari a circa i due quinti (circa 40%) dell'intera coorte sottoposta a trattamento con ozono e nonostante la maggior parte dei pazienti fosse di sesso femminile, l'effetto non è stato influenzato dal sesso ($H = 0,7353$, $p = 0,39117$). Questa evidenza frena ogni critica sulla possibilità di sentire diversi gradi di affaticamento a causa di diversi atteggiamenti psicologici legati al sesso verso il dolore o il disagio soggettivo.

Inoltre, gli effetti significativi non dipendevano dalla distribuzione per età, dato che in pazienti molto anziani (≥ 75 anni) o in più giovani (≥ 50 anni), le statistiche riportavano distribuzioni simili in FSS tra i pazienti prima e dopo l'O₂-O₃-AHT (Tabella I).

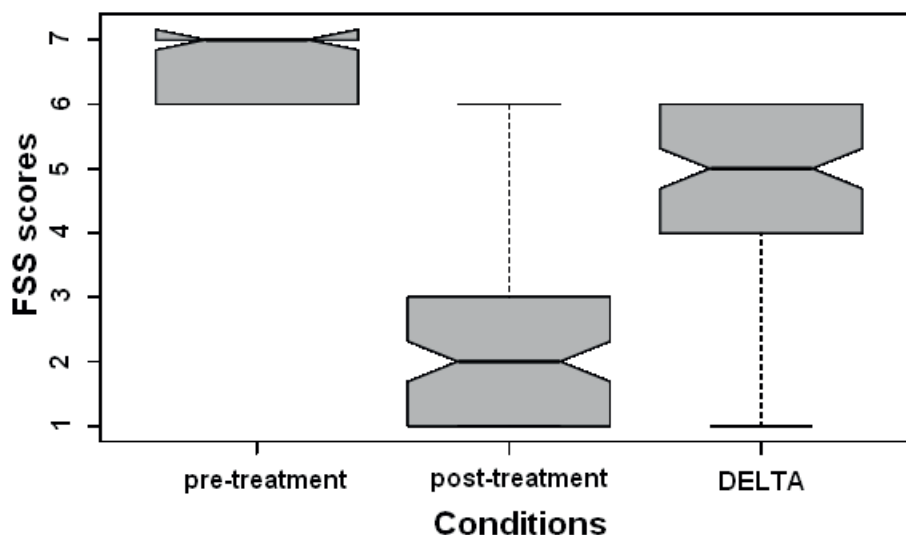


Figura 1. Diagrammi a scatola con tacche del punteggio FSS nei brevetti con stanchezza post-COVID prima e dopo ossigeno ozono terapia. ($H = 148,4786$ ($p < 0,0001$)) Il delta box plot mostra come la differenza tra prima e dopo i sintomi nel post-COVID siano molto alti.

Discussione

Il trattamento con O₂-O₃-AHT migliora la sindrome da fatica in tutti i pazienti testati, anche se con gradi diversi. L'effetto più alto è stato osservato in circa il 36% dei pazienti PASC ma almeno l'85% di loro ha avuto un miglioramento da FSS = 7 a FSS = 3. I risultati fin qui preliminari descritti in questo lavoro hanno mostrato che l'O₂-O₃-AHT allevia la fatica associata a PASC. La ripresa dal PASC, valutata come un miglioramento dello stato di salute e del benessere, con evidente riduzione della fatica e del disagio, è durata anche diversi mesi dopo la terapia. Al meglio delle nostre conoscenze nessun dato sull'effetto dell'ozono medico nella fatigue associata a PASC è mai stata segnalata prima. In questo lavoro circa due quinti della popolazione dei pazienti ha recuperato la loro sana funzionalità e si è sentito molto meglio di prima. L'ozono terapia ha avuto successo per trattare il COVID-19 nel nostro gruppo⁸, e il suo suggerimento terapeutico è stato inoltrato a partire da questa evidenza. Al giorno d'oggi, è particolarmente difficile per noi evidenziare e delucidare completamente quale meccanismo è alla base di questo incoraggiante risultato significativo, anche se qualche ipotesi può essere avanzata, recuperando dettagli da altre sindromi da stanchezza cronica.

Table I. Results of PASC-associated fatigue in patients treated with O₂-O₃ AHT.

Table IA. FSS questionnaire.		
Read and circle a number	Strongly disagree → Strongly agree	
1 My motivation is lower when I am fatigued	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
2 Exercise brings on my fatigue	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
3 I am easily fatigued	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
4 Fatigue interferes with my physical functioning	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
5 Fatigue causes frequent problems for me	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
6 My fatigue prevents sustained physical functioning	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
7 Fatigue interferes with carrying out certain duties and responsibilities	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
8 Fatigue is among my most disabling symptoms	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7
9 Fatigue interferes with my work, family and social life	<input type="checkbox"/> 1	<input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7

Table IB. Data about patients undergoing O ₂ -O ₃ -AHT		
Sex distribution	Age distribution	Kruskall-Wallis test (whole)
Males 30	< 30 yrs 4	H = (12/(N(N+1))) * (∑T ² /n) - 3(N+1)
Females 70	31<x<50 36	H = 0 * 2517453.38 - 603
	51<x<64 35	H = 148.4786 p< 0.0001 (Δ _{b-a})
	≥65 25	Fatigue reduction in PAS = 67%

Kruskall-Wallis test		
Age ≥ 75 yrs (very old)	Age ≤ 50 yrs (very young)	Incidence of sex ratio (F)
H = (12/(N(N+1))) * (∑T ² /n) - 3(N+1) H = 0.029 * 2675.45 - 63 H = 13.4414	H = [12/(N(N+1))] * (∑T ² /n) - 3(N+1) H = 0.002 * 188769 - 255 H = 62.2588	H = [12/(N(N+1))] * (∑T ² /n) - 3(N+1) H = 0.003 * 56039.267 - 183 H = 0.7353
The H statistic is 13.4414 (1, N = 20) p = 0.00025	The H statistic is 62.2588 (1, N = 84). p<0.00001	The H statistic is 0.7353 (1, N = 60).p = 0.39117

FSS questionnaire and the H statistics of the Kruskal-Wallis test; H = Kruskal-Wallis statistics. Under the null hypothesis the chi square distribution approximates the distribution of H.

Un articolo molto recente di Blauersteiner et al⁹, ha associato l'affaticamento causato dalla CFS con disfunzione endoteliale e alterazioni vascolari, spesso legati a disordini nel rapporto deacetilasi istoniche Sirt1 e ossido nitrico sintasi endoteliale (Sirt1/eNOS). In particolare, i microRNA miR-21, miR-34a, miR-92a, miR-126 e miR-200c sono risultati abbondanti nel plasma di pazienti con CFS rispetto ai controlli sani⁹. Mir-21 è coinvolto nella risposta immunitaria¹⁰ e mir-34a è coinvolto sia nella funzione endoteliale che in segnali infiammatori, anche durante il COVID-19, dato che la sua forma modificata mir-34a-5p è stata riscontrata come fattore associato alla disfunzione endoteliale (osservata in casi autoptici, cioè post mortem) di individui infetti da SARS-CoV2¹¹. Se la fatigue può dipendere da una disfunzione endoteliale, come osservato in CFS¹², l'ozono può esercitare un'azione fondamentale sull'attività dell'endotelio¹³. Mentre le evidenze più recenti¹⁴ valutano che COVID-19 ha un'eziopatogenesi di natura endoteliale e immuno-trombotica, il ruolo dell'ossigeno-ozono nella

regolazione dei meccanismi endoteliale-trombotico può essere particolarmente intrigante, meritevole di ulteriore attenzione da parte della ricerca clinica, in particolare per la sua azione sulla via dell'ossido nitrico (NO)¹³. Cosa interessante, è che l'O₂-O₃-AHT funziona perfettamente non solo nella CFS¹⁵ ma anche nella fibromialgia, dove il ruolo di NO sembra essere particolarmente rilevante^{16,17}. Fondamentalmente, l'ozono è stato utilizzato con successo per la sindrome da stanchezza cronica¹⁵, un disturbo patologico con diversi segni distintivi condivisi con la PASC e che coinvolgono molte funzioni multi-organo¹⁸⁻²⁰, ed è ipotizzabile che l'ozono-terapia possa offrire aspettative promettenti anche alla fatigue associata a PASC. Tuttavia, sono necessarie ulteriori ricerche. Questo studio preliminare presenta alcune limitazioni. un più profondo dei quali riguarda l'approfondimenti sui dati preclinici al fine di valutare le prove riportate e che possono essere particolarmente utili. I fattori confondenti, a causa dello stato clinico, dovrebbero essere statisticamente calcolati e riportati. La possibilità di incrementare la coorte di soggetti sottoposti allo studio è la prossima prospettiva di pianificazione progettuale.

Conclusioni

L'ozono-terapia è in grado di recuperare la normale funzionalità e di alleviare il dolore e il disagio nella forma di fatica (fatigue) associata a PASC in almeno il 67% di pazienti affetti da sequele post-COVID, a prescindere dalla distribuzione per sesso ed età. Questo studio preliminare incoraggia ulteriori ricerche ad andare avanti avanti nell'approfondimento dei meccanismi sottostanti questi risultati.

Bibliografia

- 1) Bonaventura A, Vecchié A, Dagna L, Martinod K, Dixon DL, Van Tassell BW, Dentali F, Montecucco F, Massberg S, Levi M, Abbate A. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2021; 21: 319-329.
- 2) Logue JK, Franko NM, McCulloch DJ, McDonald D, Magedson A, Wolf CR, Chu HY. Sequelae in Adults at 6 Months After COVID-19 Infection. *JAMA Netw Open* 2021; 4: e210830.
- 3) Hirschtick JL, Titus AR, Slocum E, Power LE, Hirschtick RE, Elliott MR, McKane P, Fleischer NL. Population-based estimates of post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection (PASC) prevalence and characteristics. *Clin Infect Dis* 2021; ciab408.
- 4) Karaarslan F, Demircioğlu Güneri F, Kardeş S. Postdischarge rheumatic and musculoskeletal symptoms following hospitalization for COVID-19: prospective follow-up by phone interviews. *Rheumatol Int* 2021; 8: 1-9.
- 5) Neuberger GB Measures of fatigue Arthritis and Rheumatisms (*Arthr Care Res*) 2003; 48: S175-S183.

- 6) Wong TL, Weitzer DJ. Long COVID and Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome (ME/CFS)-A Systemic Review and Comparison of Clinical Presentation and Symptomatology. *Medicina (Kaunas)*. 2021; 57: 418-431.
- 7) Izadi M, Cegolon L, Javanbakht M, Sarafzadeh A, Abolghasemi H, Alishiri G, Zhao S, Einollahi B, Kashaki M, Jonaidi-Jafari N, Asadi M, Jafari R, Fathi S, Nikoueinejad H, Ebrahimi M, Imanizadeh S, Ghazale AH. Ozone therapy for the treatment of COVID-19 pneumonia: A scoping review. *Int Immunopharmacol* 2021; 92: 107307.
- 8) Franzini M, Valdenassi L, Ricevuti G, Chirumbolo S, Depfenhart M, Bertossi D, Tirelli U. Oxygen-ozone (O₂-O₃) immunocellular therapy for patients with COVID-19. Preliminary evidence reported. *Int Immunopharmacol* 2020; 88: 106879.
- 9) Blauensteiner J, Bertinat R, León LE, Riederer M, Sepúlveda N, Westermeier F. Altered endothelial dysfunction-related miRs in plasma from ME/CFS patients. *Sci Rep* 2021; 11: 10604.
- 10) Abu-Izneid T, AlHajri N, Ibrahim AM, Javed MN, Salem KM, Pottou FH, Kamal MA. Micro-RNAs in the regulation of immune response against SARS CoV-2 and other viral infections. *J Adv Res* 2021; 30: 133-145.
- 11) Centa A, Fonseca AS, Ferreira SGDS, Azevedo MLV, Vaz de Paula CB, Nagashima S, Machado-Souza C, Miggiolaro AFRDS, Baena CP, de Noronha L, Cavalli LR. Deregulated miRNA expression is associated with endothelial dysfunction in post-mortem lung biopsies of COVID-19 patients. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021; 320: L405-1412.
- 12) Scherbakov N, Szklarski M, Hartwig J, Sotzny F, Lorenz S, Meyer A, Grabowski P, Doehner W, Scheibenbogen C. Peripheral endothelial dysfunction in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *ESC Heart Fail* 2020; 7: 1064-1071
- 13) Chirumbolo S, Valdenassi L, Simonetti V, Bertossi D, Ricevuti G, Franzini M, Pandolfi S. Insights on the mechanisms of action of ozone in the medical therapy against COVID-19. *Int Immunopharmacol* 2021; 96: 107777.
- 14) Bonaventura A, Vecchié A, Dagna L, Martinod K, Dixon DL, Van Tassell BW, Dentali F, Montecucco F, Massberg S, Levi M, Abbate A. Endothelial dysfunction and immunothrombosis as key pathogenic mechanisms in COVID-19. *Nat Rev Immunol* 2021; 21: 319-329.
- 15) Tirelli U, Cirrito C, Pavanello M. Ozone therapy is an effective therapy in chronic fatigue syndrome: result of an Italian study in 65 patients. *Ozone Ther Sept* 2018; 3. <https://doi.org/10.4081/ozone.2018.7812>.
- 16) Aguilar-Ferrándiz ME, Casas-Barragán A, Rus A, Tapia-Haro RM, Martínez-Martos JM, Molina F, Correa-Rodríguez M. Associations among nitric oxide and enkephalinases with fibromyalgia symptoms. *Nurs Res* 2021; 70: E11-E20
- 17) Tirelli U, Cirrito C, Pavanello M, Piasentin C, Lleshi A, Taibi R. Ozone therapy in 65 patients with fibromyalgia: an effective therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 1786-1788
- 18) Wang F, Kream RM, Stefano GB. Long-Term Respiratory and Neurological Sequelae of COVID-19. *Med Sci Monit* 2020; 26: e928996.
- 19) Poenaru S, Abdallah SJ, Corrales-Medina V, Cowan J. COVID-19 and post-infectious myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: a narrative review. *Ther Adv Infect Dis* 2021; 8: 20499361211009385.
- 20) Korompoki E, Gavriatopoulou M, Hicklen RS, Ntanasis-Stathopoulos I, Kastritis E, Fotiou D, Stamatelopoulos K, Terpos E, Kotanidou A, Hagberg CA, Dimopoulos MA, Kontoyiannis DP. Epidemiology and organ specific sequelae of post-acute COVID19: A Narrative Review. *J Infect* 2021; S0163-4453(21)00247-4.