

# Vantaggi dell'applicazione topica di Ozoile nella guarigione delle ulcere venose degli arti inferiori. Uno studio clinico randomizzato

Gaia Zagolin<sup>1</sup>, Greta Loss<sup>1</sup>, Matilde Tasinato<sup>1</sup>, Roberto Cassino<sup>1</sup>, Gaia Degli Angeli<sup>1</sup> e Rolando Tasinato<sup>1\*</sup>



<sup>1</sup>General and Vascular Surgery Department, AULSS 3, Mirano General Hospital (Venice) Italy

<sup>2</sup>RSA Korian Sacra Famiglia – Pieve del Cairo (Retorbido (Pavia) Italy

\*Autori corrispondenti: Rolando Tasinato MD, RSA Korian Sacra Famiglia – Pieve del Cairo (Retorbido (Pavia) Italy

## INFORMAZIONI ARTICOLO

**Ricevuto:** 📅 29 Novembre 2022

**Pubblicato:** 📅 08 Dicembre 2022

**Citazione:** Gaia Zagolin, Greta Loss, Matilde Tasinato, Roberto Cassino, Gaia Degli Angeli, et al. Advantages of the Topical Application of Ozone in the Healing of Venous Ulcers of the Lower Limbs. A Randomized Clinical Study. Biomed J Sci & Tech Res 47(3)-2022. BJSTR. MS.ID.007516.

## ABSTRACT

Questo lavoro riporta uno studio clinico randomizzato su 81 pazienti con ulcere flebostatiche degli arti inferiori sottoposti a trattamento con applicazione topica di Ozoile. I risultati sono stati confrontati con un gruppo di controllo che non ha ricevuto il trattamento. Il processo è durato complessivamente 9 mesi. In questo periodo di tempo, i pazienti trattati con Ozoile hanno mostrato una riduzione statisticamente significativa ( $P>0,007$ ) del tempo medio di riepitelizzazione rispetto al gruppo di controllo. Sono state eseguite biopsie del letto e dei margini delle ulcere trattate topicamente con Ozoile analizzate poi istologicamente e hanno dimostrato che l'applicazione topica di Ozonidi Stabili da olio di oliva biologicostimola la proliferazione dei fibroblasti e la neoangiogenesi. Tali meccanismi, combinati con il debridement e la terapia compressiva, costituiscono un'efficace strategia di trattamento delle ulcere flebostatiche, fornendo ai pazienti trattati una riduzione dei tempi di guarigione e una migliore qualità della vita.

**Keywords:** Wound care; Ulcere venose; Ozono Terapia; Olio Ozonizzato; batteri; Neoangiogenesi; cardiopatia cronica; Ipoclorito di sodio; Infezione; Flebostatico; Angiogenesi

## Introduzione

Negli ultimi anni sono state riportate nella letteratura scientifica diverse esperienze riguardanti l'applicazione topica dell'ozono per il trattamento delle lesioni cutanee croniche. Le proprietà antisettiche dell'ozono sono state sfruttate per ridurre la carica batterica e microbica principalmente nelle ferite infette da batteri e a livello del letto delle ulcere cutanee croniche, sia in fase acuta che cronica [1]. In dermatologia, l'ozono viene utilizzato per il trattamento delle infezioni della pelle, in particolare quelle causate da agenti patogeni che hanno sviluppato resistenza agli approcci terapeutici convenzionali con antibiotici o farmaci antimicotici [2,3]. Inoltre l'ozono stimola i processi rigenerativi che facilitano la riepitelizzazione delle ulcere cutanee croniche. Quando legato a sostanze arricchite di olio, rimane saldamente a contatto con i tessuti, rilasciando ossigeno

molecolare che può quindi esercitare la sua attività batteriostatica e antisettica sui batteri, e soprattutto sugli anaerobi [4]. È stato dimostrato che la presenza di ozono nei tessuti in coltura induce la produzione di fattori di crescita endoteliali, come il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), che portano alla formazione di nuovi vasi, che migliorano l'afflusso di sangue al letto e ai margini delle lesioni.

In vitro, è stato anche dimostrato che l'ozono induce la migrazione dei fibroblasti verso il pavimento dell'ulcera e facilita la neoangiogenesi. Diverse tecniche di miscelazione suggerite in passato, sebbene efficaci, spesso non erano in grado di fornire preparazioni stabili con rilascio progressivo e controllato di ozono. L'applicazione topica di preparati che rilasciano ozono ha catturato l'interesse di molti team che lavorano con lesioni cutanee acute e

croniche nel campo della wound care [5,6].

Recentemente, abbiamo valutato l'uso di Ozoile, un induttore biologico ottenuto da un processo di miscelazione brevettato in cui l'ozono è legato ai legami oleofinici degli acidi grassi formando ozonidi stabili. La formula che abbiamo utilizzato per lo studio è brevettata, prodotta e distribuita in Italia da Erbagil s.r.l.

## Materiali e Metodi

Tra agosto 2021 e maggio 2022 sono stati valutati un totale di 81 pazienti. Questi pazienti (43 uomini e 38 donne di età media 64,7 anni, in un range 49-83 anni) presentavano ulcere cutanee croniche degli arti inferiori di origine vascolare. Le ulcere erano attive da almeno 6 settimane e provenivano da vasi venosi. L'eziologia venosa delle lesioni è stata documentata in ciascun caso mediante esame clinico, imaging Color-Doppler e fotoplethismografia a riflessione. I criteri di inclusione comprendevano: avere più di 18 anni, soffrire di grave insufficienza venosa cronica di grado C6 nella classificazione CEAP e assenza di altre comorbidità rilevanti (come cardiopatia cronica di classe NYHA III o IV, diabete mellito insulino-dipendente, obesità con un BMI >40, neoplasia attiva, BPCO, trattamento concomitante con corticosteroidi o farmaci immunosoppressori, arteriopatia delle gambe con indice ABI <0,7). I pazienti sono stati successivamente randomizzati in due gruppi. I pazienti del gruppo A (41 pazienti) sono stati trattati seguendo il protocollo TIME secondo le indicazioni di EWMA (European Wound Management Association). Oltre al debridement dell'ulcera, i pazienti di questo gruppo sono stati sottoposti sia a terapia compressiva che all'applicazione di Ozoile spray e crema.

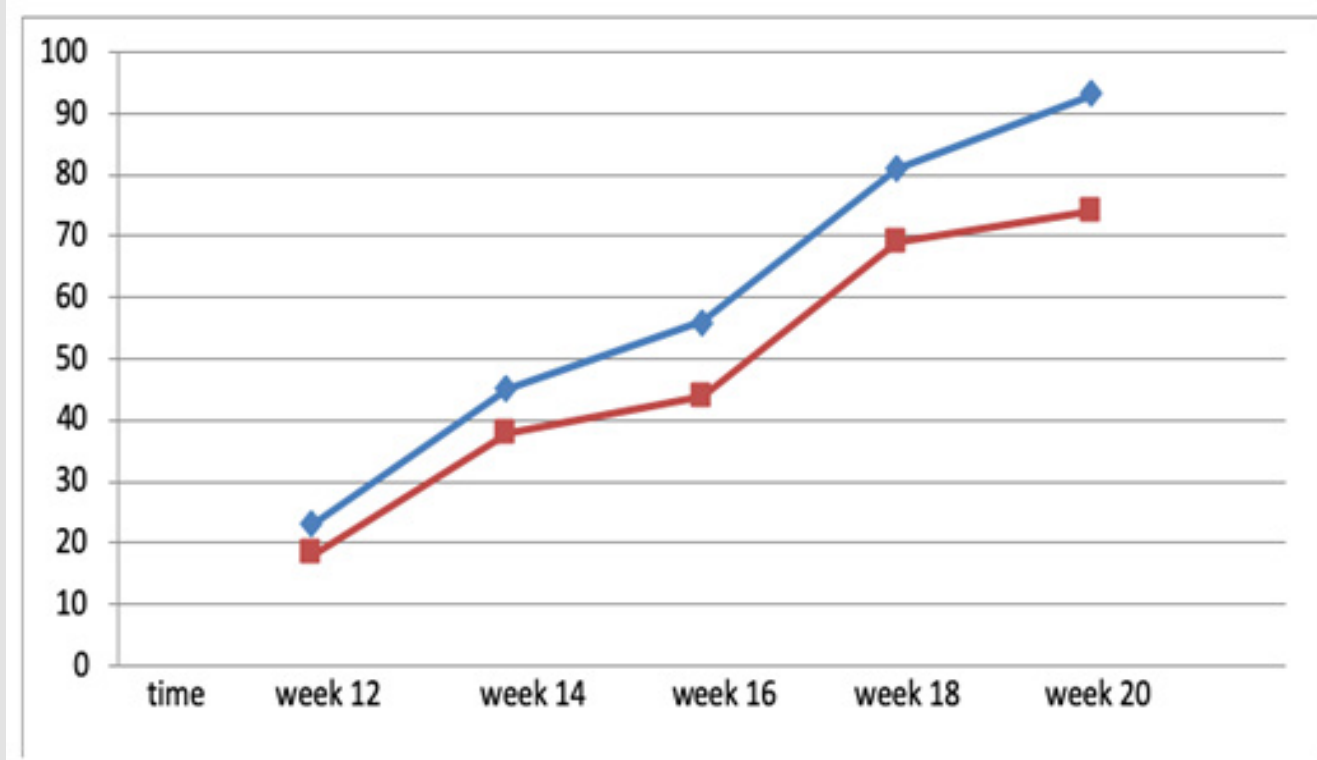
Ozoile spray è stato applicato sul letto dell'ulcera, mentre l'emulsione contenente Ozoile è stata applicata sulla cute perilesionale. Anche i pazienti del gruppo B sono stati trattati con debridement secondo il modello TIME e detersione con ripetuti lavaggi di soluzione fisiologica, seguiti da applicazione di soluzione di ipoclorito di sodio 0,05% per circa 3 minuti e terapia compressiva, ma non sono stati sottoposti ad applicazione dei prodotti a base di Ozoile.

Le medicazioni sono state eseguite in media ogni 3 giorni. Sono stati applicati bendaggi coesivi elastici a breve estensibilità, con tecnica multistrato, partendo dalla regione metatarsale e procedendo verso l'alto in direzione del ginocchio, escluso quest'ultimo. Dopo l'applicazione del bendaggio, a ciascun paziente è stato chiesto di camminare, senza alcuna limitazione funzionale alla sua attività motoria.

I due gruppi di pazienti sono stati trattati dalla stessa équipe, composta da due medici e tre infermieri. Dopo la somministrazione della medicazione di randomizzazione, sono state applicate bende elastiche utilizzando la stessa tecnica, senza differenze tra i gruppi A e B. La randomizzazione dei pazienti e la raccolta dei dati sono state eseguite in modo indipendente attraverso l'uso di un modulo di segnalazione elettronica dei casi di FH VMa (eCRF). Tutti i pazienti hanno acconsentito al trattamento e i due gruppi si sono rivelati omogenei nei caratteri antropologici e nei dati biografici all'analisi statistica. I pazienti randomizzati nello studio sono stati sottoposti in media a due valutazioni settimanali, ogni 3-4 giorni, per verificare lo stato del processo di cicatrizzazione della loro lesione e rinnovare medicazione e bende. Ogni settimana, per ogni paziente sono state misurate le dimensioni, la profondità e l'entità dell'essudato dell'ulcera e il set di dati acquisito è stato riportato nella cartella clinica. I risultati di queste misurazioni periodiche sono stati poi inseriti in un database elettronico corredato da prove fotografiche. Lo scopo dello studio è stato quello di indagare la presenza di differenze statisticamente significative nei tassi di guarigione dell'ulcera tra i due gruppi.

## Risultati

I pazienti sono stati osservati per un periodo complessivo di 10 mesi, durante i quali 2 pazienti hanno abbandonato lo studio a causa di un'infezione intercorrente da SARS-CoV-2. I dati definitivi si riferiscono a 79 pazienti (40 del gruppo A, 39 del gruppo B) che hanno concluso con successo il protocollo terapeutico mostrando guarigione dell'ulcera. L'andamento del tempo di riepitelizzazione osservato nei due gruppi è riportato nella Figura 1. Il tasso di guarigione dell'ulcera flebostatica è risultato più elevato nei pazienti del gruppo A (pazienti trattati con Ozoile) rispetto ai pazienti del gruppo B (gruppo di controllo). L'analisi statistica indipendente del set di dati mostra che a 12 settimane dopo T0 il tempo medio di guarigione è stato ridotto del 24,2%, a 16 settimane da T0 è stato ridotto del 26,3% e a 18 settimane del 15,1%. Rispetto al gruppo di controllo, i pazienti che hanno ricevuto sia la terapia compressiva che l'applicazione topica di Ozoile hanno registrato una riduzione media di circa il 23,8%. Nel gruppo A è stata osservata una lieve reazione atopica alla crema contenente Ozoile, ma non è stata necessaria la sospensione del trattamento. Inoltre, i pazienti del gruppo A hanno fatto affidamento su una terapia meno analgesica rispetto ai pazienti del gruppo B e il controllo dell'essudato è stato più efficiente. Questo aspetto ha portato i soggetti ad un più rapido ritorno alla propria attività lavorativa e ha consentito sia ai pazienti che ai caregivers una migliore percezione della propria qualità di vita.



**Figure 1:** Diagramma che analizza l'andamento della percentuale di ulcere venose croniche guarite confrontando il gruppo A e il gruppo B: pazienti del gruppo A trattati con Ozoile e pazienti del gruppo B trattati con trattamento standard

## Discussione

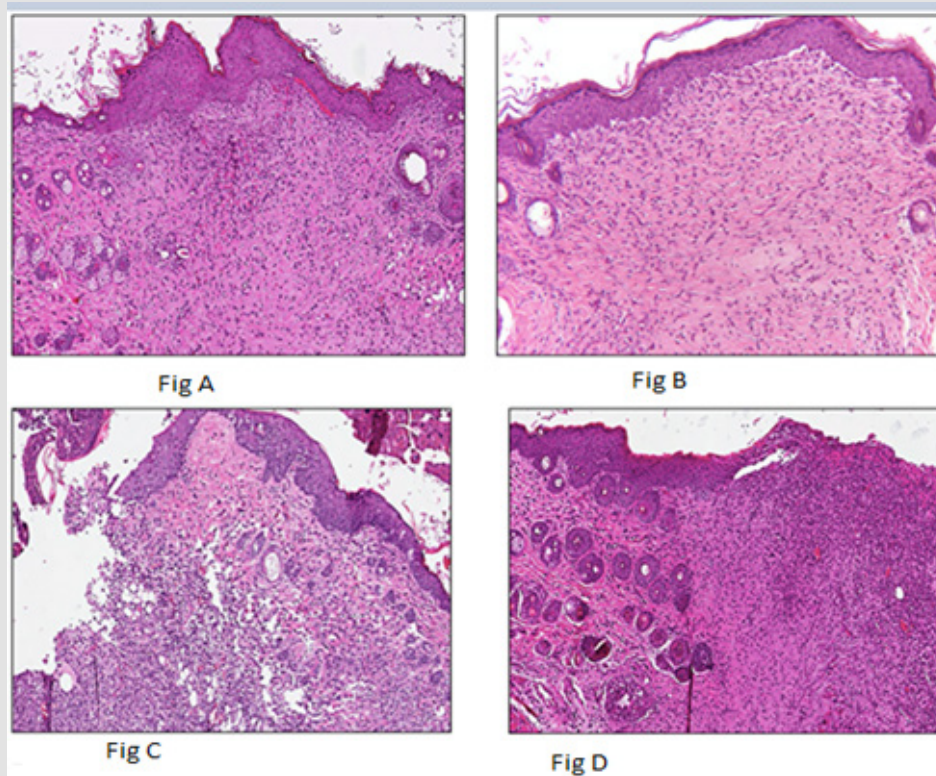
Nella prima fase, l'applicazione di Ozoile sul letto delle ulcere ha mostrato un debridement più rapido delle lesioni trattate. Il rilascio di ozono nel mezzo cellulare promuove la pulizia del letto dalle popolazioni batteriche e fungine nel biofilm, sia stimolando il debridement autolitico sia agendo come antisettico [7,8]. In questo studio, questa azione ha caratterizzato le prime 2-3 settimane di trattamento [Figura 2]. Alcuni pazienti sono stati sottoposti a esami istologici, che hanno incluso una biopsia da 5 mm del letto e dei margini della lesione. La microscopia ottica è stata poi utilizzata per dimostrare l'efficacia dei preparati contenenti Ozoile nel promuovere i processi riparativi, principalmente la formazione di tessuto di granulazione e la neoangiogenesi che accompagnano il processo di riepitelizzazione [9,10].

L'esame istologico ha rivelato che quando applicato al letto dell'ulcera e alla cute perilesionale, Ozoile è in grado di stimolare l'attivazione delle linee cellulari responsabili della riparazione dei tessuti nelle lesioni ulcerative croniche [11] (Figure 3). Inoltre, esami qualitativi e quantitativi delle popolazioni cellulari hanno rivelato attraverso la microscopia

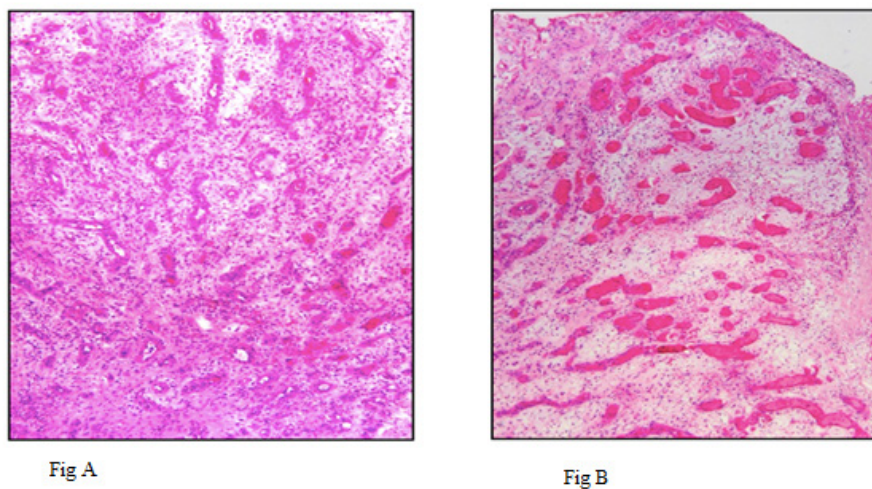
che l'applicazione progressiva della preparazione a base di Ozoile ha un effetto antinfiammatorio, seguito da una notevole riduzione del numero di cellule correlate alla risposta infiammatoria. Questo effetto può essere osservato in media a partire dalla terza settimana di applicazione e dura fino al completamento del processo di cicatrizzazione [12-14]. Stimolando i processi di riparazione, l'applicazione di Ozoile è responsabile di una temporanea riacutizzazione della lesione.

Questa trasformazione temporanea della lesione da cronica ad acuta apre la strada all'inizializzazione del processo di riepitelizzazione effettuato principalmente attraverso la migrazione dei fibroblasti e la successiva formazione di epitelio neovascolarizzato [15-19].

La stimolazione dei processi di riparazione è evidente anche negli esami istologici dei pazienti del gruppo B, che non sono stati trattati con Ozoile, ma le popolazioni cellulari coinvolte nella formazione della cicatrice e nella neoangiogenesi sono comparsi più tardi e in modo meno evidente rispetto al gruppo A. (Figure 4).



**Figure 2:** Immagini al microscopio ottico ottenute da biopsie incisionali della cute perilesionale di un paziente dopo 4 applicazioni di Ozoile spray sul letto della lesione e Ozoile crema sulla cute perilesionale. Le biopsie sono state eseguite 21 giorni dopo l'applicazione della medicazione (Figura A e B T0 - Figura C e D T1): dopo 3 settimane, l'epitelio appare più strutturato e stratificato e compaiono diversi piccoli vasi di nuova formazione nel tessuto connettivo sotto il derma, indicando la presenza di neovangiogenesi attiva.



**Figure 3:** Campione istologico con colorazione con ematossilina ed eosina. La biopsia è stata ottenuta dal letto di una lesione cutanea ulcerosa cronica di origine flebostatica. Il paziente (maschio, 63 anni) è stato trattato con applicazioni sequenziali di Ozoile Spray e Ozoile crema sulla cute perilesionale. L'osservazione a T0 è riportata in (a): oltre allo smantellamento dei tessuti, si può notare una notevole contaminazione batterica; (b) rappresenta una biopsia ottenuta dopo 4 settimane di trattamento, qui compaiono aree di tessuto di granulazione e neovangiogenesi.



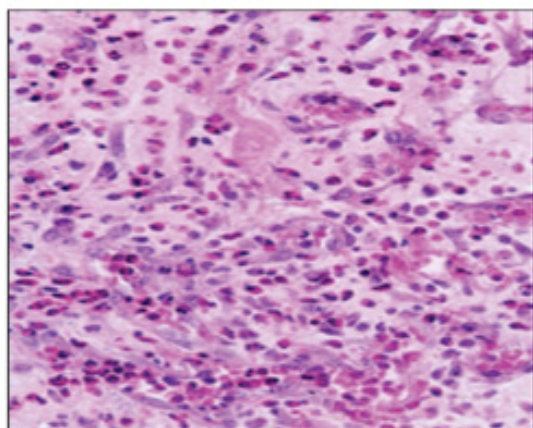


Fig A

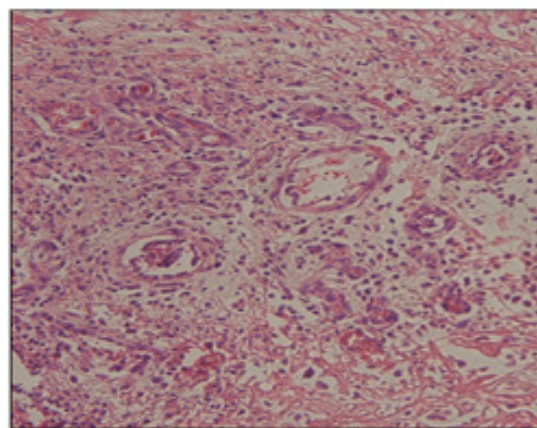


Fig B

**Figure 4:** Dettaglio di ingrandimento maggiore. Si possono osservare la proliferazione attiva dei fibroblasti e la neoangiogenesi.

## Conclusioni

Il debridement e la terapia compressiva sono considerati il trattamento gold standard per le ulcere venose croniche [20,21]. La durata del trattamento è influenzata dalla qualità della medicazione. Nella nostra esperienza, l'uso di preparati contenenti Ozonidi Stabili (Ozoile) offre notevoli vantaggi in quanto aumenta la riepitelizzazione dell'ulcera. Inoltre, Ozoile stimola i processi rigenerativi epiteliali [22,23] e riduce la carica batterica sul letto dell'ulcera.

## Riferimenti

- Fitzpatrick E, Holland OJ, Vanderlelie JJ (2018) Ozone therapy for the treatment of chronic wounds: A systematic review. *Int Wound J* 15(4): 633-644.
- Zeng J, Lu J (2018) Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. *Int Immunopharmacol* 56: 235-241.
- Lim Y, Lee H, Woodby B, Valacchi G (2019) Ozonated Oils and Cutaneous Wound Healing. *Curr Pharm Des* 25(20): 2264-2278.
- Borges GÁ, Elias ST, Da Silva SM, Magalhães PO, Macedo SB, et al. (2017) In vitro evaluation of wound healing and antimicrobial potential of ozone therapy. *Craniomaxillofac Surg* 45(3): 364-370.
- Krkl C, Yiğit MV, Özercan İH, Aygen E, Gültürk B, et al. (2016) The Effect of Ozonated Olive Oil on Neovascularization in an Experimental Skin Flap Model. *Adv Skin Wound Care* 29(7): 322-327.
- Kim HS, Noh SU, Han YW, Kim KM, Kang H, et al. (2009) Therapeutic effects of topical application of ozone on acute cutaneous wound healing. *J Korean Med Sci* 24(3): 368-74.
- Silva V, Peirone C, Amaral JS, Capita R, Alonso-Calleja C, et al. (2020) High Efficacy of Ozonated Oils on the Removal of Biofilms Produced by Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Infected Diabetic Foot Ulcers. *Molecules* 25(16): 3601.
- Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K, et al. (2017) Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci Rep* 37(6): BSR20170658.
- Izadi M, Kheirjou R, Mohammadpour R, Aliyoldashi MH, Moghadam SJ, et al. (2019) Efficacy of comprehensive ozone therapy in diabetic foot ulcer healing. *Diabetes Metab Syndr* 13(1): 822-825.
- Valacchi G, Zanardi I, Lim Y, Belmonte G, Miracco C, et al. (2013) Ozonated oils as functional dermatological matrices: effects on the wound healing process using SKH1 mice. *Int J Pharm* 458(1): 65-73.
- Monzillo V, Lallitto F, Russo A, Poggio C, Scribante A, et al. (2020) Ozonized Gel Against Four *Candida* Species: A Pilot Study and Clinical Perspectives. *Materials (Basel)* 13(7): 1731
- Solovăstru LG, Stîncanu A, De Ascentii A, Capparé G, Mattana P, et al. (2015) Randomized, controlled study of innovative spray formulation containing ozonated oil and  $\alpha$ -bisabolol in the topical treatment of chronic venous leg ulcers. *Adv Skin Wound Care* 28(9): 406-409.
- Zeng J, Lu J (2018) Mechanisms of action involved in ozone-therapy in skin diseases. *Int Immunopharmacol* 56: 235-241
- Xiao WR, Wu M, Bi XR (2021) Ozone oil promotes wound healing via increasing miR-21-5p-mediated inhibition of RASA1. *Wound Repair Regen* 29(3): 406-416.
- Pietrocola G, Ceci M, Preda F, Poggio C, Colombo M, et al. (2018) Evaluation of the antibacterial activity of a new ozonized olive oil against oral and periodontal pathogens. *J Clin Exp Dent* 10(11): e1103-e1108.
- Ugazio E, Tullio V, Binello A, Tagliapietra S, Dosio F, et al. (2020) Ozonated Oils as Antimicrobial Systems in Topical Applications. Their Characterization, Current Applications, and Advances in Improved Delivery Techniques. *Molecules* 25(2): 334.
- Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K (2017) Ozone oil promotes wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci Rep* 37(6): BSR20170658.
- Tualzik T, Chopra R, Gupta SJ, Sharma N, Khare M, et al. (2021) Effects of ozonated olive oil and photo biomodulation using diode laser on gingival depigmented wound: A randomized clinical study. *Indian Soc Periodontol* 25(5): 422-426.
- Cho KH, Kang DJ, Nam HS, Kim JH, Kim SY, et al. (2021) Ozonated Sunflower Oil Exerted Protective Effect for Embryo and Cell Survival via

- Potent Reduction Power and Antioxidant Activity in HDL with Strong Antimicrobial Activity Antioxidants (Basel) 10(11): 1651.
20. Zerillo L, Polvere I, Varricchio R, Madera JR, D'Andrea S, et al. (2022) Antibiofilm and repair activity of ozonated oil in liposome. Microb Biotechnol 15(5): 1422-1433.
21. Prządka P, Kuberka M, Skrzypczak P, Kiełbowicz Z (2022) Healing of a large skin defect in a dog with concurrent ozonated olive oil application. J Small Anim Pract 63(6): 492.
22. Cipriani F, Lucattelli E, De Rosa M, Di Lonardo A (2021) Effectiveness Of Reactive Oxygen Species In An Oil-Based Medication For Healing Burn Wounds: A Case Series. Ann Burns Fire Disasters 34(2): 170-174.
23. Wen Q, Liu D, Wang X, Zhang Y, Fang S, et al. (2022) A systematic review of ozone therapy for treating chronically refractory wounds and ulcers. nt Wound J 19(4): 853-870.

**ISSN: 2574-1241**DOI: [10.26717/BJSTR.2022.47.007516](https://doi.org/10.26717/BJSTR.2022.47.007516)

Rolando Tasinato. Biomed J Sci &amp; Tech Res



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 License

Submission Link: <https://biomedres.us/submit-manuscript.php>**Assets of Publishing with us**

- Global archiving of articles
- Immediate, unrestricted online access
- Rigorous Peer Review Process
- Authors Retain Copyrights
- Unique DOI for all articles

<https://biomedres.us/>