

Klinische Studie
über die Wirkung der
Großen Eigenblutbehandlung mit Ozon
auf die Befindlichkeit von Patienten
mit Chronischem Müdigkeitssyndrom

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

vorgelegt von
Wilfried Jürgen Müller
aus Essen

2007

Angefertigt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Bonn

1. Gutachter: Frau Prof. Dr. med. Karin Kraft, Klinik und Poliklinik für Innere Medizin,
Lehrstuhl für Naturheilkunde, Universitätsklinik Rostock
2. Gutachter: Herr Prof. Dr. med. Georg Nickenig, Direktor der Medizinischen Klinik und Poliklinik II,
Universitätsklinik Bonn

Tag der Mündlichen Prüfung: 09.07.2007

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Bonn
Direktor Prof. Dr. H. Vetter

meiner Frau
und meinen Kindern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Inhaltsverzeichnis.....	5
Abkürzungsverzeichnis.....	7
1 Einleitung.....	8
1.1 Grundlagen	
1.1.1 Geschichte der medizinischen Anwendung von Ozon.....	11
1.1.2 Verbreitung der Ozontherapie.....	12
1.1.3 Allgemeine Eigenschaften von Ozon.....	13
1.1.4 Herstellung von medizinischem Ozon.....	16
1.2 Medizinische Applikationsformen von Ozon.....	16
1.3 Wirkmechanismen und Effekte von Ozon	
1.3.1 Reaktionsmechanismen mit Olefinen in wässriger Lösung.....	19
1.3.2 Pharmakodynamische Effekte von Ozon in vitro.....	20
1.3.3 Ozoneffekte bei Erythrozyten und Endothelzellen.....	27
1.3.4 Immunologische in-vitro- und in-vivo-Effekte von Ozon.....	28
1.3.5 Arzneimittelinteraktionen mit Ozon.....	33
1.4 Klinische Studien mit Ozon	
1.4.1 Effekte bei viralen Erkrankungen.....	34
1.4.2 Effekte bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit.....	35
1.4.3 Antiinflammatorische Effekte von Ozon.....	38
1.4.4 Effekte von Ozon auf den Fettstoffwechsel.....	39
1.5 Akute und chronische Toxizität von Ozon.....	40
1.6 Unerwünschte Wirkungen und Zwischenfälle bei der therapeutischen O ₃ -Anwendung.....	41
1.7 Chronisches Müdigkeitssyndrom.....	43
1.8 GEBO bei Patienten mit chronischem Müdigkeitssyndrom.....	46
1.9 EMPHO-Messung im Rahmen der GEBO, Messprinzip und Vergleich mit anderen Messsystemen zur Erfassung der Oxigenierung.....	46
2 Fragestellung.....	48
3 Patienten, Methoden und Dokumentation	
3.1 Patienten und Basisdaten.....	49
3.2 Studiendesign.....	52
3.3 Studienmanagement.....	53
3.4 Technik der Großen Eigenblutbehandlung mit Ozon (GEBO).....	53
3.5 EMPHO-Messung im Rahmen der GEBO.....	54
3.6 Klinische Selbstbeurteilungsskalen zur Prüfung des Therapieerfolges	
3.6.1 Von-Zerssen-Befindlichkeitskala.....	61
3.6.2 Von-Zerssen-Beschwerdenliste.....	61

	Seite
3.7 EMPHO-Messung	
3.7.1 Prinzip der EMPHO-Messung.....	65
3.7.2 Messung von intrakapillärer Oxigenierung, Hb-Konzentration und intrakapillärem O ₂ -Gehalt.....	66
3.8 Laborwerte.....	69
3.9 Statistische Auswertung – Übersicht.....	70
4 Ergebnisse	
4.1 Klinische Selbstbeurteilungsskalen von von Zerssen.....	74
Vergleich der Test-Summen-Scores aus Befindlichkeitsskala und Beschwerdenliste.....	75
4.2 16-Punkte-Messung.....	86
4.2.1 Oxigenierung – Sitzung 1 vs 10 – Verum und Placebo.....	88
4.2.2 Relative Hb-Konzentration – Sitzung 1 vs 10 – Verum und Placebo.....	89
4.2.3 Intrakapillärer Sauerstoffgehalt.....	90
4.3 Oxigenierung und relative Hämoglobinkonzentration - Vergleich von Verum und Placebo.....	91
4.3.1 Ergebnistabelle: Blutentnahmephase – Verum vs Placebo.....	92
4.3.2 Ergebnistabelle: Transfusionsphase – Verum vs Placebo.....	93
4.3.3 Ergebnistabelle: Nachbeobachtung – Verum vs Placebo.....	94
4.3.4 Blutentnahme vs Nachbeobachtung – Verum und Placebo.....	96
4.3.5 Blutentnahme vs Transfusion – Verum und Placebo.....	97
4.3.6 Transfusion vs Nachbeobachtung – Verum und Placebo.....	98
4.4 Laborergebnisse.....	103
4.5 Unerwünschte Ereignisse.....	107
4.5.1 Zwischenfälle während der Sitzungen.....	108
4.5.2 Abbrüche.....	109
4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	109
5 Diskussion.....	113
6 Zusammenfassung.....	123
7 Anhang: von-Zerssen-Skalen.....	124
8 Literaturverzeichnis.....	136

Abkürzungsverzeichnis

ADC	Analog-Digital-Wandler
ÄGO ₃	Ärztliche Gesellschaft für Ozontherapie e.V.
AVK	Arterielle Verschlusskrankheit
BMI	Body Mass Index [Körpergewicht/(Größe) ²]
BUB-Richtlinien	Richtlinien über die Bewertung ärztlicher Untersuchungs- und Behandlungsmethoden
CMI	Cell-mediated Immunity
DPG	Diphosphoglycerat
EBOO	Extracorporeal Blood Oxigenation and Ozonation
EMPHO	Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer
FCS	Fetal Calf Serum
GEBO	Große Eigenblutbehandlung mit Ozon-Sauerstoff-Gasgemisch
GEBS	Große Eigenblutbehandlung mit reinem Sauerstoff
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor
GPx	Erythrozytäre Glutathion-Peroxidase
G3PDH	Glucose-3-Phosphat-Dehydrogenase
GSH	Glutathion (reduziert)
GSSH	Glutathion (oxidiert)
IFN	Interferon, z. B. IFN- γ
IL	Interleukin
HAM	Humane Alveolarmakrophagen
HBO	Hyperbare Sauerstofftherapie
HDL	High Density Lipoprotein
HNE	4-Hydroxynonenal
HSP	Hitze-Schock-Protein
KEBO	Kleine Eigenblutbehandlung mit Ozon-Sauerstoff-Gasgemisch
LDL	Low Density Lipoproteine
LOP	Lipid-Ozonisierungsprodukte
LPO	Plasma-Lipidperoxidation
MAK	Maximale Arbeitsplatzkonzentration
MCS	Multiple chemische Sensitivität
MDA	Malondialdehyd
NF κ B	Transkriptionsfaktor Kappa B (Gen-regulatorischer Zytokinaktivator)
Np	Neopterin
PAF	Platelet Activating Factor
PBMC	Peripheral Blood Mononuclear Cells
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
ppm	Parts per million
RES	Retikuloendotheliales System
ROS	Reaktive Sauerstoff Spezies (z. B. Aldehyde, Ozonide, Wasserstoffperoxid, Lipid-Hydroperoxide u.a.)
SOD	Superoxiddismutase
TBARS	Thiobarbituric Reactive Substances
TGF	Transforming Growth Factor
TNF	Tumor Necrosis Factor
UFA	Unsaturated Fatty Acids
VLDL	Very Low Density Lipoprotein
ZPD	Ca ⁺⁺ -Zitrat-Lösung, Zitrat-Phosphat-Dextrose

The acceptance of any complementary medical approach is conditioned by the results obtained after the same scientific scrutiny applied in orthodox medicine. Otherwise any claim of efficacy remains in the realm of fiction¹.“

Professor Victor Bocci, Ozonforscher am Institut für Physiologie der Universität von Siena, Italien

1 Einleitung

Seit 1954 wird in Zentraleuropa die Große Eigenblutbehandlung mit Ozon (GEBO), die eine Variante der Ozontherapie darstellt, als Therapieverfahren genutzt [WEHRLI & STEINBART 1954]. Als wichtige Indikationen der GEBO gelten periphere arterielle [VÁLDEZ ET AL. 1993] und venöse sowie zerebrale Durchblutungsstörungen, chronische und akute virale Erkrankungen und metabolische Störungen [DEHMLOW & JUNGSMANN 2000; KONRAD 1991; MATTASSI 1985; MATTASSI ET AL. 1983]. Als weitere Indikationen für die GEBO werden die Immunstimulierung und die so genannte Umstimmung genannt [WOLFSTÄDTER 1994]. Adjuvant wird die GEBO bei Neoplasien [RIVA SANSEVERINO ET AL. 1990; MATTASSI 1985; ROKITANSKI 1982], Allergien und Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis [COOKE ET AL. 1997; FAHMY 1991] sowie bei Patienten mit AIDS zur allgemeinen Immunstimulation [GARBER ET AL. 1991] und zur Behandlung von therapieresistenten Diarrhöen [CARPENDALE ET AL. 1993] eingesetzt. Eine 1980 von der Ärztlichen Gesellschaft für Ozontherapie e.V. (ÄGO₃) in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen durchgeführte retrospektive Analyse über „Zwischenfälle und typische Komplikationen in der Ozon-Sauerstoff-Therapie“ erfasste 644 von 2.815 angeschriebenen, der ÄGO₃ bekannten Ozontherapeuten (884 Ärzte und 1933 Heilpraktiker) im westlichen deutschsprachigen Raum. Diese 644 Therapeuten gaben an, mindestens 5.579.238 Ozonanwendungen an 384.775 Patienten durchgeführt zu haben [DEHMLOW & JUNGSMANN 2000; JACOBS 1982]. Von ihnen beurteilten über 90 % den Heilerfolg mit „sehr gut“ bzw. „gut“. Über 50 % der beteiligten Ärzte beurteilten ihren Behandlungserfolg mit „gut“, über 50 % der Heilpraktiker beurteilten ihren Erfolg mit „sehr gut“. Nur ein Therapeut gab an, mit mangelhaftem Erfolg zu arbeiten. Diese Darstellung einer subjektiven Beurteilung kann jedoch eine objektive, gemäß wissenschaftlichen Standards durchgeführte Erfassung der Wirksamkeit von Ozonbehandlungen bzw. der unerwünschten Wirkungen nicht ersetzen, sondern stellt lediglich eine erste Datenbasis dar. Neuere Untersuchungen zu dieser Thematik existieren nicht.

Die Wirksamkeit des 1839 entdeckten Ozongases ist bis heute umstritten. Zwar existieren zahlreiche unkontrollierte klinische Studien und Kasuistiken [VIEBAHN 1994; KONRAD 1991; WERKMEISTER 1991; DIEM & RECHTSTEINER 1988; MATTASSI 1985; O. ROKITANSKI ET AL. 1981; WERKMEISTER 1968; ZABEL 1960], jedoch wurden bislang weder die Wirkung noch Wirksamkeit für das oben genannte breite Spektrum von Krankheiten exakt ermittelt. Hinzu kommt die Diskussion um die Toxizität des Ozons.

¹ BOCCI, V. [1998]

Zwar bietet der so genannte Ozongürtel in der Stratosphäre einen lebensnotwendigen Schutz vor der schädlichen UV-Strahlung aus dem Weltall [NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1977], jedoch gehen von dem extrem reaktiven, toxischen Gas, wenn es sich in die Troposphäre gelangt, für alle Lebewesen schwerwiegende Gefahren aus [LIPPMANN 1989; DZIEDZIC & WHITE 1987; LEE ET AL. 1983; WHO-REPORT 1979; HOIGNE & BADER 1979]. Auch wegen einiger dokumentierter Zwischenfälle, wobei vereinzelt letale Ausgänge beschrieben wurden [DEHMLOW & JUNGSMANN 2000; JACOBS 1982], gilt die Ozontherapie als umstrittenes medizinisches Therapieverfahren. Seit 1990 ist deshalb europaweit die intraarterielle Injektion des O_2/O_3 -Gasgemisches als nebenwirkungsreichste Therapieform nicht mehr zulässig. Weltweit wird Ozon in Deutschland, Österreich, der Schweiz, Italien, Russland, auf Kuba und in einigen Staaten der USA medizinisch angewendet. In England und Frankreich ist der Gebrauch von Ozon auf die Aufbereitung von Trinkwasser beschränkt [BOCCI 1996].

In einer Studie über die Klassifizierung der so genannten Komplementärmedizin durch die Öffentlichkeit [FURNHAM 2000] wurden 39 häufiger verwendete komplementärmedizinische Therapiemethoden durch knapp 600 Erwachsene in vier verschiedene Dimensionen eingeordnet: Bekanntheitsgrad, Anwendungsmodus, Therapieerfahrung mit der jeweiligen Methode und Bewertung der Wirksamkeit auf einer 10-Punkte-Skala. Am bekanntesten waren Akupunktur, Aromatherapie, Kräutertherapie, Hypnose, Massage und Yoga, während zu den Therapieformen mit dem niedrigsten Rating für die Wirksamkeit der Reihenfolge nach autogenes Training, Ayurveda, Schüsslersalze, Chelattherapie und eben Ozontherapie gehörten.

In der folgenden Tabelle (Tab. 1) wird die Wirksamkeit der Therapie mit Ozon von den Befragten mit 2,82 [auf einer Skala von 1 = nicht effektiv bis 10 = sehr effektiv] niedrig eingeordnet und rangiert vergleichbar dem autogenen Training. Es hatten nur 7,3 % der Befragten von Ozontherapie gehört, Vorstellungen über die Wirkungsweise der Ozontherapie gaben lediglich 4,0 % an. Insgesamt nahmen 589 Personen (192 Männer, 387 Frauen, Durchschnittsalter 34,7 Jahre), überwiegend aus der Mittelschicht Südostenglands, teil. Es handelte sich um eine heterogen zusammengesetzte Gruppe, von der ein Drittel nicht mehr als den Hauptschulabschluss und unter 6 % eine akademische Ausbildung hatten.

Tabelle 1: Public classification of complementary therapies of medicine: Result from the 4 ratings of the 39 therapies (Furnham, 2000);

Therapie	davon gehört ja/nein	Wissen über Anwendung ja/nein	selbst ver- sucht ja/nein	wirksam 1=nicht wirksam 10=sehr wirksam	SD
1. Akupunktur	513/ 11	493/ 57	53/516	6,30	2,00
2. Akupressur	326/255	262/197	45/455	5,00	2,28
3. Alexander-Technik	252/332	190/264	43/450	4,91	2,72
4. Aromatherapie	563/ 19	443/108	292/271	5,71	2,40
5. Kunsttherapie	223/360	159/282	36/441	4,27	2,52
6. Autogenes Training	29/551	23/360	4/426	2,87	2,00
7. Ayurveda	63/520	45/343	19/417	3,20	2,21
8. Bachblütentherapie	191/391	119/302	81/382	3,91	2,57
9. Schüsslersalze	23/509	53/329	19/410	3,45	2,38
10. Biorhythmische Therapie	285/296	137/311	30/451	3,54	2,12
11. Chirotherapie	431/150	313/182	87/440	5,83	2,50
12. Chelattherapie	64/617	41/340	2/435	3,18	2,17
13. Colontherapie	428/158	276/219	19/513	4,42	2,41
14. Farbtherapie	254/327	152/280	34/437	3,60	2,32
15. Kristalltherapie	269/312	116/332	32/447	2,95	2,00
16. Tanztherapie	266/320	194/249	44/440	4,40	2,41
17. Healing außer Geistheilen	465/105	276/219	87/232	4,86	2,29
18. Phytotherapie	562/ 22	438/109	211/346	5,76	2,20
19. Homöopathie	506/ 74	71/162	164/392	5,64	2,38
20. Hypnose	559/ 21	418/126	103/461	5,71	2,34
21. Magnettherapie	165/419	80/337	18/447	3,57	2,40
22. klassische Massage	552/ 33	495/ 46	360/195	7,04	2,11
23. Meditation	545/ 40	429/100	193/357	6,05	2,26
24. Musiktherapie	324/260	241/224	76/422	5,07	2,54
25. klass. Naturheilverfahren	100/484	61/245	19/427	3,46	2,32
26. Ernährungstherapie	252/233	205/236	54/418	5,10	2,68
27. Osteopathie	423/161	309/180	86/419	5,83	2,57
28. Ozontherapie	43/539	24/362	7/426	2,82	2,14
29. Reiki	100/482	60/335	25/411	3,26	2,35
30. Reflextherapie	512/ 73	360/167	137/408	5,59	2,47
31. PMR (Jacobson)	540/ 39	460/ 78	297/249	6,42	2,42
32. Shiatsu	325/255	183/255	49/427	4,62	2,49
33. Geistheilen	450/105	228/263	67/446	4,45	2,68
34. Gesprächstherapie	495/ 88	416/114	162/378	6,31	2,53
35. Trad. Chinesische Medizin	487/ 96	289/217	62/472	5,24	2,40
36. Therapeutic touch	200/383	108/313	18/440	3,69	2,41
37. Visualisierungsübungen	184/400	122/298	55/405	3,99	2,58
38. Klangtherapie	150/432	82/332	19/430	3,62	2,39
39. Yoga	559/ 23	430/113	183/381	6,17	2,20

1.1 Grundlagen

1.1.1 Geschichte der medizinischen Anwendung von Ozon

Erste Beschreibungen der Wirkungen von Ozon gehen auf den Chemiker Christian Friedrich Schönbein² (1799-1868) zurück, der bereits bei der Entdeckung des Gases 1839 durch asthmaartige Beschwerden und starken Husten zu einer Unterbrechung seiner Arbeit mit der aggressiven Substanz gezwungen wurde³. Die industrielle Herstellung von Ozon wurde durch die Erfindung der Siemens-Röhre 1857 ermöglicht. 1865 wurde in der „TIMES“ der Brief eines Dr. T. Herbert Baker publiziert, in dem dieser Ozon als „nature's grand atmospheric disinfectant“ bezeichnete [SCHWEIZ RUNDSCH MED 1996]. Im Rahmen einer Publikation „über das unreine Blut und seine Reinigung durch negativ elektrischen Sauerstoff“ [LENDER 1870] wurde 1870 über die Applikation von ozonisiertem Olivenöl als Tuberkulostatikum berichtet. 1873 war die Abtötung von Mikroorganismen und die desodorierende Wirkung von Ozon durch Bindung von Geruchsstoffen [RILLING & VIEBAHN 1990] beobachtet worden. Bereits 1880 wurden jedoch in einem Handbuch der Arzneimittellehre ausdrückliche Zweifel am therapeutischen Nutzen der inhalativen oder inneren Ozonanwendung geäußert. Die stark oxidierende Wirkung von Ozongas im wässrigen Milieu wurde ab Ende des 19. Jahrhunderts zur Trinkwasserentkeimung genutzt. 1901 errichtete Wernher von Siemens in Wiesbaden das erste Wasserwerk, in dem Ozon verwendet wurde. Typhusepidemien, wie sie noch 1893 und 1896 beobachtet wurden, traten fortan nicht mehr auf.

Im Ersten Weltkrieg profitierte man von den Erfahrungen mit Ozon bei der Trinkwasseraufbereitung und setzte es vereinzelt als bakterizides Agens zur topischen Begasung von Wunden und Fisteln experimentell ein, da wirksame Antiseptika nicht verfügbar waren.

In den Dreißiger Jahren unterzog sich der Leipziger Chirurg E. Payr bei dem Zahnarzt E. A. Fisch einer Wurzelbehandlung mit Ozon wegen einer Zahngangrän, die daraufhin rasch abheilte. Fortan setzte Payr die Therapie mit Ozon bei verschiedenen Infektionskrankheiten ein [FISCH 1948]. Als Indikationen für die externe Ozonapplikation galten bei ihm Weichteilinfektionen [RODIEK 1977] und Gangrän, die parenterale Applikation hielt er bei rheumatischen Erkrankungen und Gefäßverschlüssen für indiziert und die Insufflation bei Erkrankungen der Nasensinus und des Colons. Mit Ozon therapierte er zudem Pleuraempyeme, biliäre Fisteln, paranephritische Abszesse, septische Arthritiden und chronische Osteomyelitiden [FÜEBL 1991; PAYR 1935].

1914 wurde von Knox ozonbehandelte Rizinussäure als Laxans mit bakterizider Wirkung gegen pathogene Mikroorganismen zum Patent angemeldet. Dünnschichtchromatographisch und mit anderen Methoden wurde eine Anzahl von Reaktionsprodukten aus ozoniertem Olivenöl identifiziert, u.a. Pelargonaldehyd, Malondialdehyd, Pelargonsäure und Capronsäure [RAINBAUER 1979].

1938 erschien der erste Bericht über die klinische Anwendung ozonisierten Olivenöls [BENDER & BLANCHARD 1938].

² Im Namen und zu Ehren von Christian Friedrich Schönbein fand zu seinem 200. Geburtstag (18. Okt. 1999) im Oktober 1999 das Internationale Ozon-Symposium in Basel statt.

³ "When I began my researches on the chemical generation of ozone about ten years ago, I frequently inhaled strongly ozonized air, and the consequence was really painful affection of the chest, a sort of asthma, connected with a violent cough, which forced me to discontinue, for a time, my investigations." (Aus: SCHÖNBEIN, C.F.: On Some Secondary Physiological Effects Produced by Atmospheric Electricity. Med Chir Trans 34, 205-220, 1851)

Als therapeutische Externa werden mittlerweile neben ozonisiertem Olivenöl [SCHULZ 1982, SCHULZ ET AL. 1982] auch ozonisiertes Rizinusöl, Sorbinsäure und Leinöl verwendet. Berichtet wird auch über „bemerkenswerte pharmakologische Eigenschaften“ der Ozonide aus Oliven-, Nuss- und Maisöl [THORP 1979]. Dass bei deren externer Anwendung polymere Ozonide und deren Spaltprodukte, Dimere, Ketoperoxide, Keto- und Hydroxyfettsäuren sowie Epoxide entstehen [SCHULZ 1982], wurde postuliert, aber bisher analytisch nicht ausreichend gesichert.

Bei der so genannten Großen Eigenbluttherapie mit Ozon, die erstmals 1954 erwähnt wurde [WEHRLI & STEINBART 1954], konnte wegen der definierten Relationen von Ozon und Blutvolumen erstmals eine gewisse methodische Reproduzierbarkeit erreicht werden. Die Entwicklung eines zuverlässigen Ozongenerators durch Hänslers erlaubte ab 1957 die Herstellung exakt definierter Mengen von Ozongas aus medizinischem Sauerstoff und damit eine breitere Anwendung von O₃ in den verschiedenen Therapieformen [ERFAHRUNGSGEILKUNDE 5/1975].

Entsprechend dem modernen Standard der Medizingeräteverordnung müssen O₃-Generatoren genau definierte Mengen O₃ abgeben, das nicht verbrauchte O₃ muß in einem geschlossenen System mittels eines Destruktors wieder reduziert werden.

1.1.2 Verbreitung der Ozontherapie

Nach einer Erhebung über die Verbreitung der Ozontherapie im Auftrag des Bundesministeriums für Forschung und Technologie [ROSSLENBROICH 1995] führten 1992 nach Angaben der ärztlichen Gesellschaft für Ozontherapie in der Bundesrepublik ca. 8.000 Ärzte in der ärztlichen Praxis, in Privatkliniken und in Sanatorien die verschiedenen Formen der Ozon-Sauerstoff-Therapie durch, zudem ca. 2.000 Heilpraktiker. Im europäischen Ausland (insbesondere Österreich, Schweiz, Belgien, Niederlande, UdSSR) wurde die Zahl der Ozontherapeuten auf insgesamt ca. 1.000, in den USA und in Kanada dagegen auf lediglich ca. 50 Ärzte geschätzt. Als Begründung für diese unterschiedliche Verbreitung wurde angegeben, dass die Ozontherapie in Deutschland entwickelt worden sei und dass in den USA und Kanada besondere gesetzliche Auflagen zu erfüllen sind. Zudem wurde erwähnt, dass diese Therapieform nicht patentierbar ist, und dass daher kein finanziell begründeter Forschungsanreiz besteht⁴ [SHALLENBERGER 1998; ROGERS 1993]. Im Internet finden sich z. B. unter dem Suchbegriff „ozone therapy“ weltweit hunderte von kommerziellen, oft dubiosen Anbietern vielfältiger Formen der Ozonanwendung, die Indikationen reichen von der adjuvanten Krebstherapie über AIDS-Therapie bis zur Gewichtsreduktion. Darüber hinaus werden zahlreiche Seminare und Bücher für Anwender komplementärmedizinischer Heilmethoden von der Akupunktur bis zur Behandlung mit Yoga sowie Zubehör für die verschiedenen therapeutischen Ozonapplikationen angeboten⁵.

⁴ Horst Kief, M.D., a pioneer in the use of clinical ozone, when asked why this treatment is virtually unknown outside of Germany, responded by saying: „Nobody in the pharmaceutical industry can sell ozone. When we can find a way to sell ozone, I'm sure that ozone will be the most important drug in the world.“

⁵ Internetadresse: z. B.: <http://www.t-online.de/sitemap/infosek.htm> „ozone therapy“;

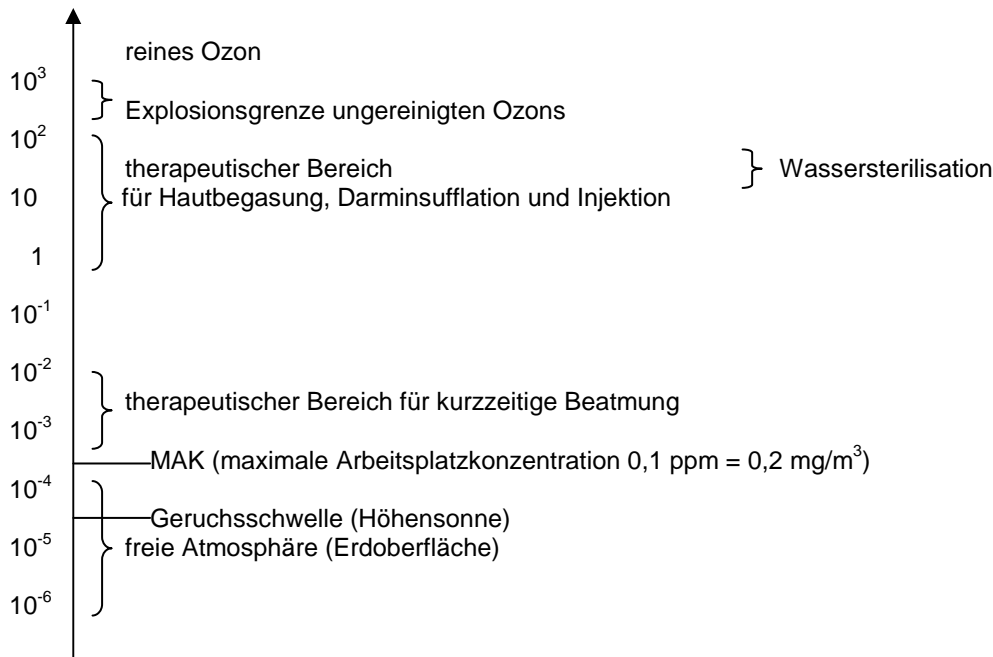
1.1.3 Allgemeine Eigenschaften von Ozon

Ozon (O_3 ; MG 48,00; MG von $O_2=32,00$) ist ein bläuliches Gas von konzentrationsabhängig nelken-, heu- oder chlorartigem bzw. stechendem Geruch (Ozon; griechisch ozein: riechen), dessen Geruchsschwelle ohne Adaptation bei 0,020-0,025 ppm (40-50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) liegt. Möglicherweise wird der charakteristische Ozongeruch jedoch erst durch einen seiner Metaboliten nach Reaktion mit dem Luftstickstoff hervorgerufen. Die äußerst aggressive Substanz reiht sich in der Gruppe photochemischer Oxidanzien neben Peroxiacetylnitrat und die Peroxide ein. Ihr relatives spezifisches Gewicht beträgt 1,65 (Luft = 1). Sie bildet im festen Aggregatzustand schwarzviolette Kristalle und schmilzt bei $-192,5^\circ\text{C}$ zu einer tiefblauen Flüssigkeit. Ihr Siedepunkt liegt bei $-111,9^\circ\text{C}$.

Der olfaktorische Eindruck einer Verbesserung der Luftqualität durch Ozonierung der Raumluft beruht wahrscheinlich auf einer direkten Beeinflussung der Geruchsnerve [GILGEN & WANNER 1967] und nicht auf einer Oxidation der in der Luft schwebenden Geruchspartikel. Letztere würde eine Ozonkonzentration erfordern, wie sie unmittelbar vor einer UV-Lampe gemessen wird ($10^{-2} \mu\text{g}/\text{ml}$).

Mit einem Normalredoxpotential von +2,07 V erweist sich Ozon nach Fluor (F_2) als zweitstärkstes Oxidationsmittel und kommt dem OH^\cdot -Radikal gleich. Ozon oxidiert die meisten Metalle zu ihrer höchsten Oxidationsstufe (Oxide und Peroxide). Es oxidiert alle Arten von organischen Molekülen [PRYOR 1991(D); GIAMALVA ET AL. 1988; RAZUMOVSKIJ & ZAIKOV 1984; PRYOR ET AL. 1984; BAILEY 1978(A, B)] und baut sie u.a. zu CO_2 , H_2O und NO_3 ab. In Konzentrationen ab 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ tötet es alle Mikroorganismen - Viren ebenso wie Bakterien und Pilze - ab. Äther, Ethanol und Leuchtgas explodieren bei Kontakt mit Ozon [SCHERRER 1996; WERNICKE & MAYER 1981; MEYERS ENZYKL. LEXIKON 1978; RÖMPP 1966]. Angesichts dieser hohen Reaktivität ist nicht zu erwarten, dass Ozon tief in organische Substrate eindringt.

Als Raumdesinfiziens [DYAS ET AL. 1983; RAPPOLT 1972; CONSUMERS' ASSOCIATION 1967; GILGEN & WANNER 1967; WANNER & GILGEN 1966] hat sich Ozon nicht bewährt: Die Ozonkonzentration reicht erst bei mehreren ppm für eine effiziente Keimabtötung aus, einer für den Menschen bereits hochtoxischen Konzentration. Daneben spielen die relativ hohen Kosten ebenso wie auch bei der Wasserentkeimung durch Ozon eine nicht unwesentliche Rolle. Die Entkeimung [CLARKE & BREMAN 1983] durch Ozonierung ist erheblich teurer als die Chlorierung. Daher wird O_3 zur Entkeimung von Abwässern in Kläranlagen und zur Trinkwasseraufbereitung heute zumeist in Kombination mit Chlorgas eingesetzt [WICKRAMANAYAKE ET AL. 1984; HÄUFELE & SPROCKHOFF 1973; ROSEN 1973; HAVEMEISTER & JENTSCH 1971]. Bei der Wasseraufbereitung in öffentlichen Hallenbädern und Badeanlagen mittels O_3 sind tägliche Kontrollen der O_3 -Konzentration über der Wasseroberfläche vorgeschrieben [BRÜGGER 1985; DER BUND 1985; WANNER 1971].

Ozonkonzentrationen in $\mu\text{g/ml}$ LuftAbb 1: Darstellung der O_3 -Konzentration in $\mu\text{g/ml}$ Luft (nach HÄNSLER UND BERGER, aus WOLFF 1979A, B)

Die im Vergleich zu molekularem Sauerstoff bessere Wasserlöslichkeit von Ozon beruht auf seiner ionischen Grenzstruktur und ist abhängig vom pH-Wert:

Das Ozonmolekül neigt infolge seiner Dipolstruktur bei pH-Werten $< 7,5$ zu ganz überwiegend ionischen Reaktionen (Ozonolyse). In Anwesenheit überschüssiger OH^- -Ionen, d.h. bei pH-Werten ≥ 8 findet dagegen die Bildung von Radikalen statt.

Tabelle 2: Für die medizinische Anwendung wichtige physikalische Daten von Ozon und Sauerstoff

	O z o n	S a u e r s t o f f
g Litergewicht (t_1 ; d)	2,143 g/l	1,429 g/l (Luft = 1,129 g/l)
Löslichkeit in 100 ml H_2O (t_1 ; d)	49,4 ml	4,91 ml
MAK-Wert	200 $\mu\text{g}/\text{m}^3 = 0,1 \text{ ppm}$ (1994)	-
Geruchsschwelle	40-50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	-

d = 101,3 kPa (1 atm); $t_1 = 0 \text{ }^\circ\text{C}$; $t_2 = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; modifiziert nach: DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT 1994;

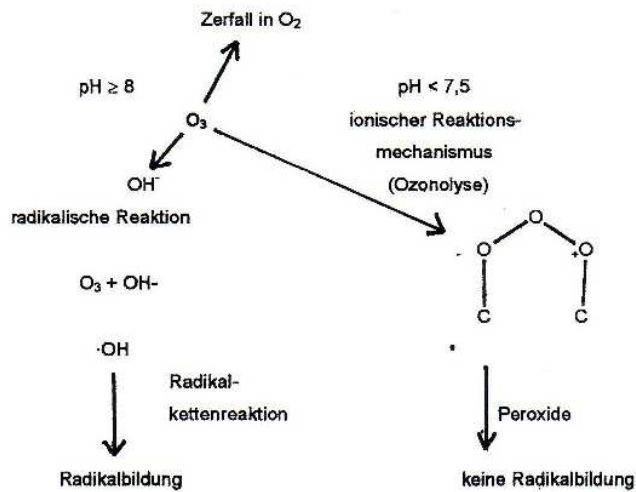


Abb. 2 : Reaktionsmechanismus des Ozons in wässrigem Medium (VIEBAHN-HÄNSLER, Ozon-Handbuch, 1995, VII 1.1.3)

Die Sättigungskonzentration von Ozon in einer Phosphatpufferlösung ist wesentlich niedriger als in Aqua bidest. (200 ml H₂O; Ozonkonzentration im Gasgemisch $c = 60 \text{ mg/l}$, $T = 20 \text{ °C}$, ca. 15 cm Wassersäule, Durchperlen des Gasgemisches durch die Wassersäule (Ozonisierungszeit, jeweils 10 min). So wird in 20%iger Amyloselösung eine Sättigungskonzentration von 22 mg O₃/l angegeben, in einer 10%igen Dextranlösung (MG=40.000) beträgt sie mehr als 40 mg/l O₃/l.

Tabelle 3: Löslichkeit von Ozon in wässrigen Lösungen

Medium	Sättigungskonzentration
Aqua bidest.	19,1 mg O ₃ / l H ₂ O
Phosphatpufferlösung (Na ₂ HPO ₄ / NaH ₂ PO ₄ , pH = 6,9)	12,7 mg O ₃ / l Lösung

aus: VIEBAHN-HÄNSLER 1995

Gleichzeitig weist Ozon in Amylose- und Dextranlösungen eine längere Beständigkeit auf. Als eine Erklärung dafür bieten sich starke intermolekulare Wechselwirkungen an:

Sowohl die helixartigen Strukturen der Amylose als auch die Wasserstoffbrückenbindungen in den verzweigten Dextranmolekülen sind zahlreiche potenzielle Bindungsstellen für das Ozonmolekül [VIEBAHN 1992].

Bei Einstrahlung von ultraviolettem Licht (300-315 nm) reagiert Ozon mit Wasserdampf unter Bildung von 2 ·OH-Radikalen. In der Troposphäre beträgt die mittlere Halbwertszeit für den Zerfall von Ozon 7 min. In wässrigen Medien hängt sie maßgeblich von der Temperatur, dem Reinheitsgrad und dem pH-Wert ab.

Tabelle 4: Ozonzerfall (Halbwertszeiten: $t_{1/2}$)

Medium	$t_{1/2}$
Aqua bidest. (Leitfähigkeit 0,05 $\mu\text{S}/\text{cm}$)	10 h
Aqua demin. (Leitfähigkeit 1,35 $\mu\text{S}/\text{cm}$)	80 min
Aqua dest.	20 min

aus: VIEBAHN-HÄNSLER 1995; S = Siemens (Leitwert)

Ozon wird in der Stratosphäre aus Sauerstoff unter UV-Einstrahlung generiert. In Gegenwart von nitrosen Gasen (NO_x) und Kohlenwasserstoffen entsteht unter Einstrahlung von Sonnenlicht auch in der Troposphäre in einer komplizierten Reaktionskette Ozon. So lassen sich in bewaldeten Reinluftgebieten häufig erhöhte Ozonkonzentrationen messen, die durch den Schadstoffeintrag aus Gebieten mit hohem Umsatz fossiler Brennstoffe und durch Kohlenwasserstoffe (z. B. α -Pinen), die durch die Wälder selbst freigesetzt werden, in Verbindung mit dem Sonnenlicht entstehen. Die Ozonkonzentrationen in Wohnräumen liegen deutlich unter denen im Freien. Hauptquellen für die Ozonexposition am Arbeitsplatz sind Schutzgasschweißgeräte mit O_3 -Spitzenkonzentrationen in unmittelbarer Umgebung von $> 2000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (1 ppm).

In geschlossenen Räumen mit UV-Lampen, Kopiergeräten, Luftfilter- und UV-Entkeimungsanlagen werden Werte von $< 100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ gemessen [SCHWARZBACH 1977].

1.1.4 Herstellung von medizinischem Ozon

Medizinisches Ozon ist ein Gemisch aus Ozon und Sauerstoff. In modernen Ozongeneratoren [z. B. OZONOSAN[®], DR. HÄNSLER GMBH/IFFEZHEIM] wird es nach dem Prinzip der stillen elektrischen Entladung aus reinem Sauerstoff erzeugt, der dazu zwei in Reihe geschaltete Hochspannungsröhren mit einer anliegenden Spannung von 4.000 bis 14.000 V durchströmt. Die Ozonkonzentration ist, abhängig von der angewandten Therapieform, einstellbar im Bereich zwischen 1 und $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ (= mg/l). Dabei ist die hergestellte Ozonmenge direkt proportional zur anliegenden Spannung und umgekehrt proportional zum Gasfluss.

1.2 Medizinische Applikationsformen von Ozon

Ozon und seine Reaktionsprodukte werden gegenwärtig in verschiedenen Applikationsformen medizinisch genutzt, so als Ozon-Sauerstoff-Gemisch zur Begasung äußerer oder innerer Körperoberflächen oder zur intravenösen, intramuskulären, subkutanen oder intraartikulären Applikation, als ozonisiertes Wasser, das zur Spülung von Harnblase, Vagina und Colon oder in Form oraler Einzeldosen zur adjuvanten Therapie von Erkrankungen des oberen Verdauungstraktes bzw. als Desinfiziens in der Zahnheilkunde verwendet wird, in Form von ozonisiertem Eigenblut als GEBO nach Wolff [WOLF 1979(A)] oder KEBO (s. u.) nach Windstosser [WINDSTOSSER 1977], zur externen Applikation als ozonisiertes Öl, z. B. als chirurgische Wundtoilette und bei Mykosen. Bei der so genannten minimal invasiven Therapie lumbaler Bandscheibenvorfälle wird O_2/O_3 -

Gasgemisch CT- oder fluoroskopisch gesteuert perkutan intradiskal bzw. periganglionär injiziert [COSMA ET AL. 2003].

Für die verschiedenen Applikationsmodi der Ozontherapie werden reiner Sauerstoff und Ozon als Gase in variablen, durch Erfahrung vorgegebenen Verhältnissen gemischt. Andere Gase wie z. B. toxische Stickoxide, die sich bei Verwendung von Raumluft zur Herstellung von Ozon bilden, kommen in dem hochreinen Ozon-Sauerstoff-Gemisch praktisch nicht vor. Therapeutisch genutzt werden O₃-Konzentrationen von 1 µg/ml bis zu 100 µg/ml, entsprechend 0,05 Vol% bis 5 Vol% Ozon bzw. 99,5 bis 95 Vol% Sauerstoff. Hinsichtlich der therapeutischen Dosierung gilt allgemein der Grundsatz, dass die applizierte O₃-Dosis die Kapazität der antioxidativen Enzyme Superoxiddismutase (SOD), Glutathion-Peroxidase und intrazelluläre Katalase nicht übersteigen darf.

Tabelle 5: Applikationsformen von Ozon und typische Indikationen

Applikationsform	Indikationen
systemisch	
große Eigenblutbehandlung (GEBO) = Autohämotherapie mit ex vivo ozonisiertem venösen Vollblut	arterielle Durchblutungsstörungen, chronische Virusinfektionen, bakterielle Infektionen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Allergien, zur unspezifischen Immunstimulation, als Adjuvans bei Karzinomen und bei Asthma bronchiale
kleine Eigenblutbehandlung (KEBO) = intravenöse Reinjektion von ex vivo ozonisiertem venösen Vollblut	als Adjuvans bei Karzinomen, zur unspezifischen Immunstimulation, bei Asthma bronchiale, Rhinitis vasomotorica, Abszessen
topisch	
Ozon-Wasser (oral, nasal, intra-aurikulär)	Gingivitis, Stomatitis, frische Traumata und Entzündungen im Gesicht und im Nasen-Rachen-Raum, Herpes zoster, Otitis externa und media
Ozon-Quaddeln (subkutan)	Reflextherapie
Ozon-Begasung (Kunststoffbeutel)	Fisteln, Decubitus, Ulcus cruris, Dermatosen
Unterdruckbegasung (Saugglocke, Unterdruckstiefel)	Decubitus, Strahlenschäden, Fisteln, schlecht heilende Wunden, diabetische Gangrän
subkutane Injektion	Varikosis
intravenöse Injektion	venöse Durchblutungsstörungen
intraartikuläre Injektion	rheumatischer Formenkreis
intramuskuläre Applikation	entzündliche Affektionen
rektale, vesikale, vaginale Ozon-Sauerstoff-Insufflation	Colitis ulcerosa (nicht im akuten Schub); Fisteln, Proktitis (Stadium I), Immunstimulation, als Adjuvans bei Karzinomen
Ozon-Olivenöl	(Anal-)Fisteln, Analfissuren, Decubitus, Ulcera cruris, Fluor genitalis
Körperhöhlenbegasung	Entzündungen, Fisteln, Karzinome, Ulcera

modifiziert nach RILLING & VIEBAHN 1990;

Die kutane Ozonbegasung mit Kunststoffbeutel oder Saugglocke zur Behandlung vaskulär bedingter nekrotischer Läsionen und Ulcera soll weitgehend frei von unerwünschten Wirkungen sein und gilt insbesondere in Kombination mit der Ozon-Autohämotherapie als wirksam [WERKMEISTER 1991; MIAN & AGOSTINI 1988; MATTASSI 1985; WERKMEISTER 1968]. Als effektiv bei verhältnismäßig einfacher Durchführbarkeit gilt die kolorektale Insufflation [CARPENDALE ET AL. 1993; KNOCH ET AL. 1987 (A, B)].

Bocci und Mitarbeiter schlagen bei nicht anämischen Patienten für die Autohämotherapie mit Ozon einen Konzentrationsbereich von 50-80 µg/ml vor. In diesem Bereich blieb eine Methämoglobinbildung aus, Hämolyse und das intraerythrozytäre reduzierte Glutathion stiegen nur gering an, bei der elektronenmikroskopischen Analyse ließen sich keine morphologischen Zellschäden nachweisen [Bocci 1996].

1.3 Wirkmechanismen und Effekte von Ozon

1.3.1 Reaktionsmechanismus von Ozon mit Olefinen in wässriger Lösung

Der Reaktionsmechanismus von Ozon mit Olefinen ist inzwischen gut untersucht. Zunächst erfolgt die elektrophile Addition des Ozons an die Doppelbindung des Olefins (z. B. der ungesättigten Fettsäuren der Phospholipidschicht in der Erythrozytenmembran) (1) → (2). Das entstehende 1,2,3-Trioxolan zerfällt rasch zu Carbonyloxid und einem Aldehyd (3). Carbonyloxid reagiert nun in wässriger Lösung zu Hydroxyhydroperoxid (4) oder mit einem Aldehyd zu Crigéeschem Ozonid (5). Hydroxyhydroperoxid hydrolysiert aufgrund seiner Metastabilität in wässriger Lösung (6) zu Wasserstoffperoxid und einem zweiten Molekül Aldehyd.

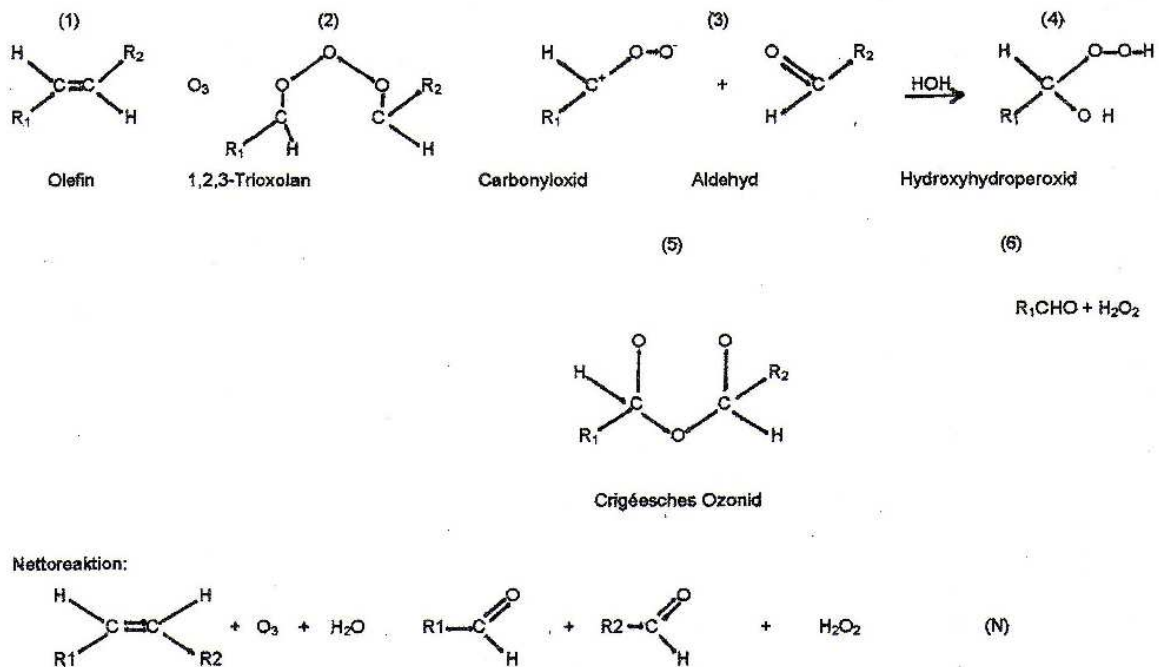
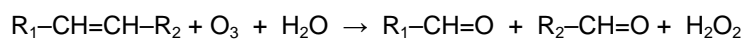


Abb. 3: Peroxidbildung aus Ozon und ungesättigten Fettsäuren [modifiziert nach VIEBAHN & WASHÜTTL 1986]. Der obere Teil dieser Abbildung zeigt den Mechanismus der Ozonierung eines Olefins (1) wie z. B. einer ungesättigten Fettsäure, das eine cis-Doppelbindung enthält. Ozonierung führt entweder zur Entstehung des Crigéeschen Ozonids (5) oder, in Gegenwart von Wasser (4), zu je einem Molekül Aldehyd und Hydroxyhydroperoxid. Letzteres ist im Gleichgewicht mit je einem weiteren Molekül Aldehyd und Hydroxyhydroperoxid. In der Nettogleichung (N) ergeben sich zwei Mol Aldehyd und ein Mol Wasserstoffperoxid pro Mol verwendetem Ozon und Olefin.

Die Reaktion von Ozon mit ungesättigten Fettsäuren (UFA) in wässriger Lösung liefert 1 Mol_{equiv} Wasserstoffperoxid und 2 Mol_{equiv} Aldehyde pro Mol Ozon und UFA [PRYOR ET AL. 1991(B)]:



Bei der Autohämotherapie wird in Analogie zu diesem Modell postuliert, dass Ozon beim Einperlen in die mit Blut partiell gefüllte Glasflasche, d.h. in vitro, mit den ungesättigten Fettsäuren aus Plasmatriglyzeriden, den Phospholipiden und den Cholesterinestern reagiert. Dabei entstehen organische Radikale und H_2O_2 , welche diverse Peroxidationsschritte initiieren [PRYOR ET AL. 1982]. Da Ozon zwischen 20°C und 37 °C mit hoher Geschwindigkeit reagiert, kommen für die Reaktionsabläufe in vivo nach Re-Infusion des ozonisierten Blutes nur noch seine Oxidationsprodukte in Betracht [PRYOR ET AL. 1992; PRYOR ET AL. 1984].

Als reaktiv gegenüber Ozon gelten [nach PRYOR 1993] folgende Biomoleküle:

- Moleküle mit C=C-Doppelbindungen sowie Cholesterin und seine Derivate [Pryor et al. 1992],
- reaktive Aminosäuren [MADDEN ET AL. 1987], d.h. schwefelhaltige Aminosäuren (Cystein, Cystin, Methionin) sowie Tyrosin, Tryptophan und Histidin [KNIGHT & MUDD 1984],
- Radikalfänger [GIAMALVA ET AL. 1985] wie Ascorbinsäure, Vitamin E und Urat.

Kriterien für die Reaktion von Ozon an Biomembranen

Infolge der hohen Reaktivität von O_3 kann allenfalls ein geringer Anteil des zugeführten O_3 die Membranedoppelschicht ohne Reaktion passieren [PRYOR 1993]. Schäden an inneren Organen und innerhalb von membranumgebenen Blutbestandteilen durch Ozon selbst sind daher äußerst unwahrscheinlich. Auch sind die strukturellen Gegebenheiten in der Umgebung des Zielmoleküls von Bedeutung. So unterscheiden sich die Fettsäuren in Lipiddoppelschichten von solchen in homogener Lösung hinsichtlich ihrer Reaktivität [GIAMALVA 1988; UPPU & PRYOR 1993].

1.3.2 Pharmakodynamische Effekte von Ozon in vitro

Nach der Hypothese verschiedener Autoren [SANTROCK ET AL. 1992; PRYOR ET AL. 1991(A); TEIGE ET AL. 1974] oxidiert O_3 Phospholipide durch Ozonolyse von Doppelbindungen in Fettsäuren. Es entstehen H_2O_2 , kurzkettige Aldehyde und Phospholipide, die durch Verkürzungen der Fettsäure an der sn-2-Position modifiziert sind.

Bisher sind zwei Hauptreaktionswege von Ozon mit den Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren gesichert:

- a) Bildung von Crigéeschen Ozoniden und ggf. Aldehyden auf der Lungenoberfläche mit dem Surfactant in Gegenwart von Wasser,
- b) Bildung freier Radikale, die die Autooxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren einleiten [PRYOR & CHURCH 1991]. Die bei diesem Prozess potenziell entstehenden Lipid-Hydroperoxide können die durch Ozon ausgelösten direkten Schäden verstärken.

Zu den sekundären und tertiären Reaktionsprodukten zählen z. B. Wasserstoffperoxid, Aldehyde, Crigéesche Ozonide [BAILEY 1978(A)], Hydroxy-Hydroperoxide, Produkte der Proteinoxidation und Lipidhydroperoxide. Aldehyde, die durch Ozoneinwirkung auf im Zytoplasma bzw. an Biomembranen befindliche ungesättigte Fettsäuren gebildet wurden, können Enzymaktivitäten verändern [PRYOR 1993; SANTROCK ET AL. 1992; PRYOR ET AL. 1991(A, B)].

Ozon wirkt *in vitro* stark antiviral. Da Viren organotrop sind und nur zu einem geringen Teil im zirkulierenden Blut auftreten, ist ein Ozoneffekt über direkte Einwirkung auf zirkulierende virale Partikel schon angesichts der Instabilität von Ozon sehr unwahrscheinlich. Als Wirkmechanismus wird vielmehr eine Immunmodulation mit der Aktivierung der Produktion von bestimmten Zytokinen postuliert [BOCCI 1994(B)].

In vitro führte eine Ozondosis von 0,5 ppm zu einer signifikanten Abnahme des Wachstums von Tumorzelllinien, hatte jedoch keine toxischen Effekte auf Fibroblasten [SWEET ET AL. 1980]. 5-Fluorouracil-resistente Tumorzelllinien von Colon- und Mammakarzinomen reagierten *in vitro* empfindlich gegenüber einer Kombination von 5-FU mit niedrig dosiertem Ozon [ZÄNKER & KROCZEK 1990].

Während der Ozonisierung von autologem Blut *ex vivo* reagiert O_3 mit Blutbestandteilen unter kurzzeitiger Bildung des Superoxid-Anions zu O_2^- , H_2O_2 , Hydroxylradikalen ($\cdot OH$) und Singulett-Sauerstoff (1O_2) [PRYOR 1993]. Diese reaktiven Sauerstoffspezies mit kurzer Halbwertszeit führen vermutlich zur Freisetzung von Tumornekrosefaktor alpha (TNF α), Interferonen und Interleukinen aus immunkompetenten Zellen [BOCCI & PAULESU 1990]. Bei *in-vitro*-Studien mit Lymphozyten- und Monozytensuspensionen, aber auch mit Vollblut stieg bei niedrigen bis mittleren Ozonkonzentrationen (2,2–42 $\mu g/ml$) die Interleukinfreisetzung signifikant an. Dieser Anstieg war vergleichbar mit der Freisetzung von Interleukinen nach Provokation durch Staphylokokken-Enterotoxin B [PAULESU ET AL. 1991].

Die von BOCCI [1992] aufgestellte Hypothese über Ozon als „Cytokine inducer“ wurde durch die Entdeckung bestätigt, dass im Blut nach Ozonexposition *in vitro* zeit- und konzentrationsabhängig (22 bis 156 $\mu g O_3/ml$) kleine Mengen von Interferon (IFN)- α und - γ , Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- α), den Interleukinen 1 α , 2, 4, 6, 8 und 10, von Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierendem Faktor (GM-CSF) und vom aktivierten Transformierenden Wachstumsfaktor (TGF)- α_1 freigesetzt werden [PAULESU ET AL. 1994; BOCCI ET AL. 1994; BOCCI ET AL. 1993(A, B); PAULESU ET AL. 1991; BOCCI & PAULESU 1990]. Nach Einwirken von Ozon auf Vollblut gesunder Probanden *in vitro* wurde TGF- α_1 , nicht jedoch TGF- α_2 dosisabhängig freigesetzt [BOCCI ET AL. 1994(B)]. In diesen Untersuchungen wurde auch gezeigt, dass humane Blutzellen nach Exposition gegenüber verschiedenen Ozonkonzentrationen *in vitro* IL-2, IFN- γ , IL-1, IL-6, TNF- α und GM-CSF in unterschiedlicher Menge ausschütten. Bei Anwendung sehr hoher Ozonkonzentrationen (Maximalkonzentration 100 $\mu g/ml$) fällt die Zytokinausschüttung aufgrund zytotoxischer Effekte wieder ab [BOCCI ET AL. 1994].

Stickoxid und Ozon

Stickoxid (NO) spielt eine große Rolle als Mediator bei bedeutenden biologischen Funktionen [FORSTERMANN ET AL. 1991; MONCADA ET AL. 1991; KNOWLES & MONCADA 1994]. Es dient u. a. als Neurotransmitter und wirkt relaxierend auf glatte Muskelzellen [DTSCH ÄRZTEBL 2000]. Die Abnahme der Freisetzung von NO aus stimulierten Makrophagen um 47% *in vitro* bei Ozonkonzentrationen von 20 µg/ml und um 77% bei 100 µg/ml kann als Regulationsmechanismus der Makrophagen interpretiert werden, da NO ebenfalls zu den Oxidanzien gehört, die ansonsten im Überschuss vorhanden wären [CARDILE ET AL. 1995]. Ozon greift bevorzugt mehrfach ungesättigte Fettsäuren sowie Thiole, Amine und Proteine an und oxidiert die freien Bindungsstellen der Substrate direkt [MYRON & BOREK 1987]. Die Synthese von NO ist hingegen ein aktiver enzymatischer Prozess [MONCADA ET AL. 1991].

Der Antagonismus zwischen der Konzentration freier Radikale (O_2^- , H_2O_2 , OH^-) und der Biosynthese von NO konnte an Astrozytenkulturen nachvollzogen werden, in denen die induzierbare Freisetzung von NO durch den Zusatz von Superoxiddismutase in der Spülflüssigkeit signifikant gesteigert werden konnte [SIMMONS & MURPHY 1992]. Eine direkte Schädigung der NO-Synthase durch Ozon, die zur Verminderung der Biosynthese von NO hätte führen können, wurde ausgeschlossen, da in Makrophagen bei zwei Testsystemen in Dosen bis 20 µg/ml Ozon keine nennenswerte Beeinträchtigung der Biosyntheseleistung auftrat [SIMMONS & MURPHY 1992].

Antivirale Aktivität von Ozon

Zu den antiviralen Effekten von Ozon zählen die Aufspaltung viraler Partikel, die Inaktivierung der reversen Transkriptase und/oder die Behinderung der Bindung von Zielzellen an die entsprechenden Virusrezeptoren. Viren mit Lipidhülle sind dabei empfindlicher gegenüber Ozon als hüllenlose Viren [AKEY & WALTON 1985; BOLTON ET AL. 1982; ROY ET AL. 1981].

Wirksamkeitsmodell des Ozons bei viralen Erkrankungen [nach VIEBAHN-HÄNSLER]

Die folgende Darstellung beschränkt sich im Wesentlichen auf die für die Wirkung der GEBO wichtigen Reaktionswege des Ozons [ERFAHRUNGSHILFEN 4/1991], die aus den bisher vorliegenden *in vitro*-Untersuchungen abgeleitet wurden:

a) extrazellulär

- Inaktivierung durch Oxidation und Blockierung der Virusspikes bzw. der Zellrezeptoren
- Abnahme der Infektiosität

b) intrazellulär

- Einschleusen von Peroxiden in die (infizierte) Zelle
- Synergistische Wirkung mit dem intrazellulär gebildeten H_2O_2 (Makrophagen / Granulozyten)
- Aktivierung der Phagozytose
- Peroxidintoleranz der Zellen über verstärkten „oxidativen Stress“
- Zerstörung der infizierten Zellen

FREEBERG & CARPENDALE [1988] untersuchten *in vitro* die Fähigkeit von Ozon, auf intrazellulärer Ebene die Bildung von HIV zu blockieren. Dazu wurde die Menge des mit HIV infizierte Zellen gebildeten Virusproteins (p24) in Gewebekulturen mit bzw. ohne Ozontherapie gemessen (gereinigtes HIV im menschlichen Serum; freie O_3 -Konzentration $4\mu g/ml$). Ozon reduzierte im Vergleich mit den nicht behandelten Zellen die Bildung virusspezifischer Proteine um durchschnittlich 46 %. WAGNER ET AL. [1989] beschrieben Ozoneffekte (20, 40 und $60\mu g/ml$) auf Lymphozytenpopulationen jeweils eines gesunden und eines HIV-infizierten Spenders. Auch mit zunehmender O_3 -Konzentration traten nur bei den Lymphozyten des HIV-Infizierten Veränderungen auf.

Mögliche Wirkmechanismen von Ozon in der kapillären Endstrombahn

Nach VIEBAHN-HÄNSLER [1991] werden folgende Wirkmechanismen postuliert:

- Erhöhung der Glykolyserate im Erythrozyten
- Enzyminduktion
- Veränderung der Flexibilität der Erythrozyten
- Verbesserung der O_2 -Transportmechanismen
- Verschiebung des HbO_2 -Gleichgewichts
- Verbesserung der O_2 -Utilisation durch Beeinflussung der mitochondrialen Atmungskette
- Peroxidbildung durch Ozonolyse mit ungesättigten Fettsäuren der Phospholipide von Zellmembranen und Veränderung des intrazellulären pH-Wertes
- Einschleusung kurzlebiger Peroxide in die Zelle
- Beeinflussung des Zellstoffwechsels über das Glutathionsystem
- Kapilläre Dilatation durch Freisetzung von Adenosin, Stickoxid und Prostaglandinen
- Umverteilung des Blutflusses von gut zu weniger gut oxigeniertem Gewebe

Die Zusammenhänge lassen sich folgendermaßen erläutern: Über das Glutathionsystem wird die Glykolyserate im Erythrozyten erhöht und eine erhöhte Enzymaktivität induziert. Der Anstieg von 2,3-Diphosphoglycerat (DPG) führt über eine Aktivierung des Pentose-Phosphat-Weges des Glucose-Metabolismus zu einer vermehrten Bildung von Ribose-5-Phosphat und reduziertem NADPH, das als Protonendonator für NAD^+ und oxidiertes Glutathion dient, welches in reduzierter Form ein potentes Antioxidans ist. Durch die Änderung der Flexibilität

der Erythrozytenmembran werden die erythrozytären Transporteigenschaften modifiziert. Nach diesem Modell resultiert aus dem Anstieg des DPG eine Rechtsverschiebung der Sauerstoffbindungskurve. Die damit einhergehende Affinitätsabnahme von O₂ zum Hämoglobin führt dann über dessen Desoxygenierung zu einer vermehrten Diffusion von O₂ ins Gewebe [BAILEY 1978(A); MUDD & FREEMAN 1977].

Als weitere Mechanismen werden postuliert:

- Die unspezifische Oxidation von Kohlenhydraten an der Zelloberfläche, z. B. von Galaktose [NOVOGRODSKY ET AL. 1977; DIANZANI ET AL. 1981], durch Ozon führt vermutlich zur Ankopplung an Transducer-Proteine und damit zu einem erhöhten Kalziumeinstrom in die Zelle.
- Intermediärprodukte (reaktive Sauerstoffspezies: ROS) diffundieren passiv durch die Zellmembran und aktivieren bei humanen T-Lymphozyten und Monozyten *in vitro* den Transkriptionsfaktor NF-κB und damit die Produktion verschiedener Zytokine [LENARDO & SIEBENLIST 1994; SUZUKI ET AL. 1994; ISRAEL ET AL. 1992; SCHRECK ET AL. 1991]. Daraus lässt sich ableiten, dass bereits ein kurzfristiger Anstieg reaktiver Sauerstoffspezies zur Induktion einer Gen-Expression ausreicht. Der Hauptanteil der ROS wird allerdings bereits durch Antioxidantien im Plasma neutralisiert bzw. durch die Membranphospholipide der Erythrozyten gebunden (siehe auch S. 27: Ozoneffekte bei Erythrozyten). Bei einer Relation der Monozyten zu den Erythrozyten von 1:3.000 im Vollblut ist für die Kopplung von ROS an NF-κB im Zytoplasma deshalb ein erhebliches Überangebot an ROS erforderlich. Die hierfür experimentell ermittelte Schwelle für H₂O₂ beträgt bei homogener Verteilung 30 μmol [SCHRECK ET AL. 1991]. Intrazellulär wirken zudem Katalase, Superoxiddismutase und andere reduzierende Enzyme und Komponenten antioxidativ [MEISTER 1994; O'NEILL ET AL. 1993; CROSS ET AL. 1992; HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990].
- Bei humanen T-Lymphozyten führte eine langfristige Exposition gegenüber einem geringgradigen oxidativen Stress zur Suppression der Transduktion nukleärer Signale [FLESCHER ET AL. 1994].

Ozon generiert somit eine Kaskade von ROS, die - für wenige Sekunden bis Minuten - die Balance zwischen oxidativen und antioxidativen Komponenten nach links verschieben können (Abb. 5). Bei einer sehr niedrigen Ozondosis überwiegen die genannten antioxidativen Komponenten, und eine Wirkung bleibt wahrscheinlich aus, bei sehr hohen Ozondosen führt hingegen der oxidative Stress zu Nekrosen [BUTTKE & SANDSTROM 1994].

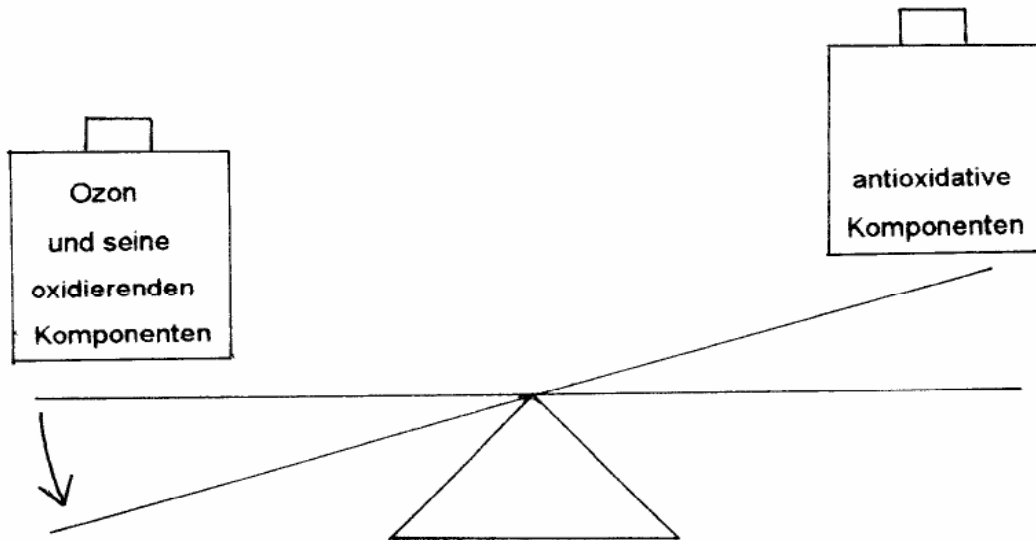
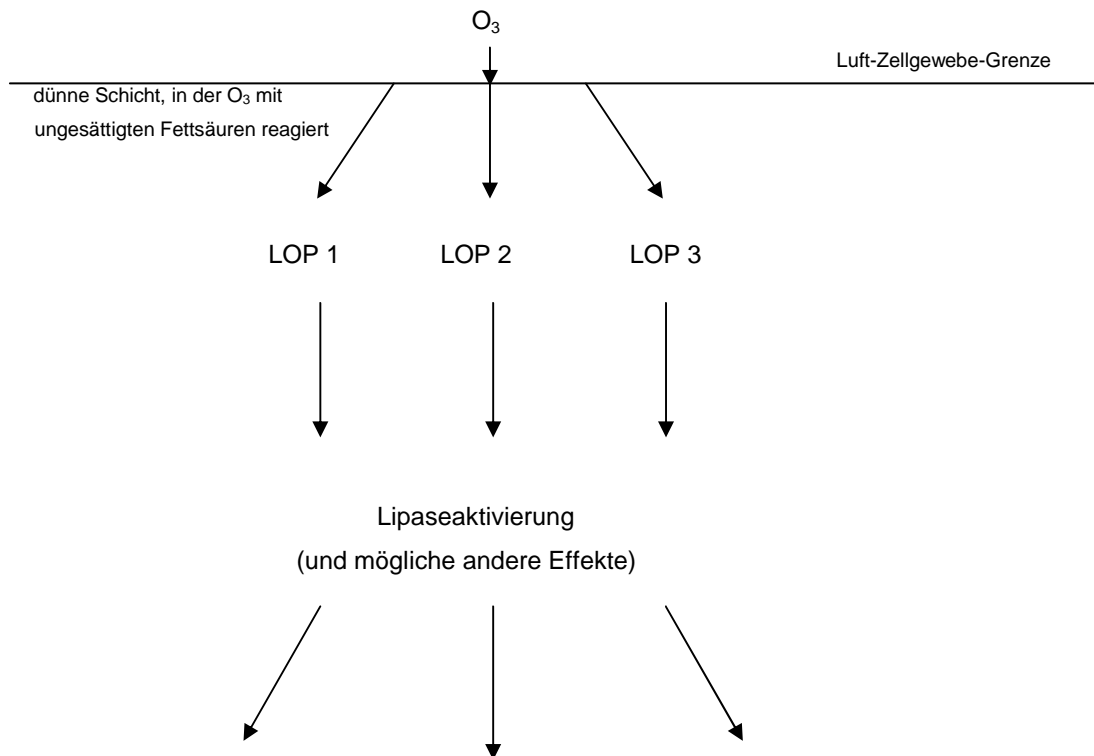


Abb. 4: Die biologischen Aktivitäten des Ozons als Ergebnis eines dynamischen Gleichgewichts zwischen Ozon, Ozonderivaten und Antioxidantien [aus VIEBAHN-HÄNSLER 1996, VII-2.3, S. 2]

Zum Wirkmechanismus von Ozon bei der therapeutischen Anwendung

Bei der therapeutischen Einwirkung von Ozon auf menschliches Blut ex vivo wird der Therapieerfolg trotz eines festgelegten stöchiometrischen Verhältnisses von Ozon und Blut durch eine Reihe schwer kalkulierbarer Faktoren beeinflusst wie z. B. inter- und intraindividuell unterschiedliche Konzentrationen [BOCCI ET AL. 1993 (A, B)] antioxidativer Komponenten [BOCCI 1996; MEISTER 1994; HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990] und intrazellulärer reduzierender Enzyme [MEISTER 1994; VAN DER ZEE ET AL. 1987].

Kaskade von Ozonisierungseffekten



Freisetzung endogener Entzündungsmediatoren (z. B. Platelet Activating Factor (PAF))

Abb. 5: Kaskadenmechanismus der Ozonwirkung. Ozon reagiert mit Lipiden zu Lipid-Ozonisierungsprodukten (LOPs). Diese LOPs aktivieren dann Lipasen, wodurch endogene zelluläre Signaltransmitter freigesetzt werden wie z. B. Eicosanoide oder PAF [PRYOR ET AL. 1995].

Nach O_2/O_3 -Exposition *ex vivo* ist nach 5 min im Vollblut praktisch kein Ozon mehr enthalten. Damit lässt sich das Blut re-infundieren, ohne direkte toxische Effekte zu verursachen. Der pO_2 -Druck im zirkulierenden Blut steigt auf 33-40 mmHg an, erreicht binnen weniger Minuten ein Plateau von 400 mmHg, um - offensichtlich nach dem Gasaustausch im kapillären Stromgebiet - wieder zu seinem Ausgangsniveau zurück zu kehren. Die Lipid-Hydroperoxide im Plasma steigen unmittelbar nach der Ozonisierung ebenfalls bis auf das Dreifache ihres Ausgangswertes, sinken jedoch *in vivo* binnen 5 min wieder auf das Ausgangsniveau ab [BOCCI 1996].

1.3.3 Ozoneffekte bei Erythrozyten und Endothelzellen

In bisherigen Untersuchungen haben sich widersprüchliche Effekte gezeigt:

Erythrozyten bieten infolge ihrer hohen Zahl eine große Angriffsfläche (beim gesunden Erwachsenen ca. 70 m² in 100 ml Vollblut) [BOCCI 1994(A)]. Unmittelbar nach dem Kontakt von Ozon mit Blut entstehen aus dem Ozon die ROS, die, wenn sie nicht sofort von antioxidativen Plasmabestandteilen metabolisiert werden, Membranphospholipide, Glycolipide und Glycoproteine von Blutzellen oxidieren. Intrazellulär werden die ROS durch Enzyme oder DNA-Reste nach Erschöpfung des intrazellulär vorhandenen reduzierten Glutathions abgefangen. Die ältesten Erythrozyten sind besonders empfindlich gegenüber Ozon und werden nach Kontakt im retikuloendothelialen System (RES) abgefangen [BOCCI 1981], während die jüngeren im Blutkreislauf verbleiben. Man nimmt auch an, dass die Reaktion von Ozon und seinen Intermediärprodukten mit Lipiden der Zellmembran zur Hämolyse führt [HART 1987].

Von VIEBAHN & WASHÜTTL [1986] wurde beobachtet, dass die bekannte Geldrollenbildung von Erythrozyten bei arterieller Verschlusskrankheit unter Ozon-Sauerstoff-Therapie durch Ladungsveränderung auf der Erythrozytenmembran aufgehoben wurde. Diese Ladungsveränderung soll auch die erhöhte Flexibilität bedingen, welche sich wiederum positiv auf Fließeigenschaften und Sauerstofftransport auswirken soll. Durch die bereits beschriebenen Wirkmechanismen soll zudem der Erythrozytenstoffwechsel aktiviert werden. Es wird jedoch in dieser Arbeit nicht angegeben, ob die Untersuchung *in vivo* oder *in vitro* durchgeführt wurde und wie lange die Wirkung der Ozon-Sauerstoff-Therapie anhielt.

In älteren Arbeiten wurden nach Ozonexposition von humanen Erythrozyten (0,5 ppm O₃ für 2 h) erhöhte Aktivitäten der Glutathionreduktase und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase gemessen [BUCKLEY ET AL. 1975]. Auch wurden nach Einwirkung höherer Ozonkonzentrationen auf Erythrozyten eine erhöhte Fragilität und eine Potenzierung komplementabhängiger Membranschäden beobachtet [GOLDSTEIN ET AL. 1974].

In einer neueren Arbeit zur Prüfung des Einflusses von Ozon und seiner Intermediärprodukte auf das Enzymsystem der Erythrozyten unter therapeutischen Bedingungen wurde EDTA-Blut von vier gesunden Probanden *in vitro* entweder mit 50 ml O₃/O₂ in einer für die Autohämotherapie üblichen Dosis von 30 µg/ml oder mit 50 ml Luft behandelt. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der verschiedenen Enzymaktivitäten [ZIMRAN ET AL. 1999], (Tab. 6). Demnach wird das erythrozytäre Enzymsystem durch die übliche Autohämotherapie mit Ozon nicht beeinflusst. Die in dieser Studie durch die Ozonapplikation von 30 µg/ml hervorgerufene Hämolyserate entsprach der bei der Herstellung und Lagerung von Blutkonserven üblichen Hämolyserate [BEUTLER & WEST 1983, ZELLER ET AL. 1985].

Tabelle 6: Einfluss von Ozon auf das erythrozytäre Enzymsystem und seine Metabolite unter therapeutischen Bedingungen: EDTA-Blut vier gesunder Probanden, behandelt entweder mit 50 ml O₃/O₂ (übliche Dosis von 30 µg/ml bei der Autohämotherapie oder mit 50 ml Luft (Kontrolle)). Mittlere Konzentrationen vor und nach Ozonapplikation [nach ZIMRAN ET AL. 1999];

Erythrozytäre Enzyme und Metabolite	Konzentrationen in IU/g Hämoglobin		
	Kontrolle	Ozon	Normbereich
Pyruvat-Kinase	9,20	9,47	7,3 - 16,0
Lactat-Dehydrogenase	134,75	135,93	60,4 - 214,0
Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase	11,46	11,57	9,3 - 14,20
6-Phosphogluconyl-Dehydrogenase	7,61	7,95	6,8 - 10,70
Adenylat-Kinase	140,30	164,43	87,7 - 241,0
Glutamyloxalacetyl-Transaminase	5,73	5,64	2,2 - 5,20
Reduziertes Glutathion	7,28	7,22	4,5 - 8,70
2,3-Diphosphoglycerat (µmol/g Hämoglobin)	12,34	13,36	8,5 - 16,0

In einer kontrollierten *in-vitro*-Studie untersuchten VALACHI & BOCCI [2000] die biologischen Effekte von ozonisiertem humanen Blutserum auf menschliche Endothelzellen. Erfasst wurden die Relevanz der Peroxidation und die Freisetzungen von NO und von drei Zytokinen: Endothelin-1 (ET-1), E-Selektin und Interleukin-8 (IL-8). Ozon als Gasgemisch (O₂/O₃) in Konzentrationen von 20-80 µg/ml wurde mit Humanserum 1:1 gemischt und anschließend bei Zellkulturen aus humaner Nabelschnurvene appliziert. Die Behandlung der Endothelzellen mit dem ozonisiertem Serum führte zu einem dosisabhängigen Anstieg von Thiobarbitursäure-reaktiven Substanzen (TBARS) und von H₂O₂ sowie zu einem Abfall von Protein-Thiol-Gruppen (PTG). Zudem stieg die NO-Produktion signifikant und kontinuierlich an. Dies wurde durch den Zusatz von L-Arginin (20 µM) verstärkt bzw. in Anwesenheit des NO-Inhibitors L-NAME (20 mM) inhibiert. Der Hauptmediator der Ozonwirkung war H₂O₂, wie sich entweder durch direkte Messung oder durch Zugabe von 20, 40 oder 100 µg H₂O₂ zeigte. Während einer 24-stündigen Inkubation mit dem ozonisierten Serum stieg IL-8 an, die E-Selektin wurde inhibiert, während die Produktion von ET-1 unverändert blieb. Die Autoren folgerten, dass die Re-Infusion von ozonisiertem Blut durch die verstärkte NO-Ausschüttung eine Vasodilatation in Ischämiegebieten induzieren und damit die Hypoxie reduzieren kann.

1.3.4 Immunologische *in-vitro*- und *in-vivo*-Effekte von Ozon

In einer *in-vitro*-Studie [CARDILE ET AL. 1995] mit humanen mononukleären Blutzellen und Thymusepithelzellen, Mausmakrophagen und anderen Zellen wurden biologische und mögliche toxische Effekte von Ozon untersucht. So wurde mit verschiedenen Ozondosen die Induktion von Hitze-Schock-Proteinen der 70 kDa-Familie (HSPs70) gemessen. Ozon kann wie andere Stress auslösende Agenzien die Biosynthese von Hitze-Schock-Proteinen induzieren. In anderen Modellen, z. B. 2-deoxy-D-[1-³H]-Glucose-Uptake, Freisetzung von NO, Tetrazoliumsalz-(MTT)-Metabolismus, Lymphozytenstimulation durch TPA-Ionomycin und Messung der Aufnahme von [³H]-Thymidin und Neutralrot-Uptake, wirkte Ozon bei einer Dosis von 20 µg/ml nicht zytotoxisch.

Tumorzelllinien wie das B16-Melanom (in-vitro-Zelllinie von C57BL/6-Mäusen) scheinen jedoch weniger Ozon-resistent zu sein [NANNI ET AL. 1983]).

HSPs70 sind für die Immunabwehr und den Schutz normaler Proteinstrukturen bedeutsam [WELCH 1992]. Sie binden sich an durch Stress denaturierte Proteine und erleichtern ihre Reparatur oder Entfernung [PELHAM 1986]. Darüber hinaus sind HSPs 70 in verschiedene immunologische Vorgänge involviert [LIU ET AL. 2002, KAUFMANN 1990]. So erhöht die funktionelle Aktivierung von Lymphozyten und Makrophagen durch Interleukine die Biosynthese von HSPs70). Humane Monozyten konnten bis zu einer O₃-Dosis von 20 µg/ml (Dosis-äquivalent der Ozon-Autohämotherapie) intaktes HSP70 synthetisieren. Erst bei supratherapeutischen Dosierungen von 40 µg/ml und - weiter ausgeprägt - bei 100 µg/ml zeigten sich nukleäre und zytoplasmatische Schäden [CARDILE ET AL. 1995].

In vitro führt Ozon bei humanen Lymphozyten [BOCCI & PAULESU 1990] konzentrationsabhängig zur Ausschüttung von IFN-γ (S. 30, Abb. 7). Dazu wurden in einer der GEBO entsprechenden Versuchsanordnung jeweils 100 ml Vollblut (daneben auch resuspendierte Buffy coats und gereinigte Monozyten) mit den therapieüblichen O₃-Konzentrationen durchperlt und zeit- und konzentrationsabhängig die Interferonaktivität gemessen. Es wurden O₃-Konzentrationen von 2,2 über 11 und 42 bis zu 108 µg/ml für 30 s appliziert. Bei Applikation der geringen Dosis von 2,2 µg Ozon pro ml wurden weder im Vollblut noch im 1:1 verdünnten Vollblut noch in resuspendierten Buffy coats Interferone freigesetzt. Wurde die Ozonkonzentration jedoch über 11 µg/ml gesteigert, stieg die IFN-γ-Freisetzung zunehmend an (S. 30, Abb. 6). Bei einer weiteren Steigerung der O₃-Konzentration nahm die IFN-γ-Aktivität wieder deutlich ab. Die maximale IFN-γ-Freisetzung ergab sich 72-96 h nach Ozon-Exposition und verlief ähnlich wie die Freisetzung nach Zusatz von Staphylokokken-Enterotoxin B. Die Autoren postulieren, dass die lymphozytäre γ-Interferonproduktion durch O₃ erheblich gesteigert werden kann [BOCCI & PAULESU 1990].

In derselben Arbeit wurde an isolierten Leukozyten die Freisetzung von IFN-γ in Abhängigkeit von der O₃-Konzentration untersucht. Im Gegensatz zum Vollblut führten bei isolierten Leukozyten bereits O₃-Konzentrationen von 2 µg/ml zur Zunahme der Konzentration von IFN-γ. Bei 11 µg/ml nahm die Freisetzung von IFN-γ bereits deutlich ab, und bei 42 bzw. 100 µg/ml war eine Zunahme nicht mehr nachweisbar (S.30, Abb. 7).

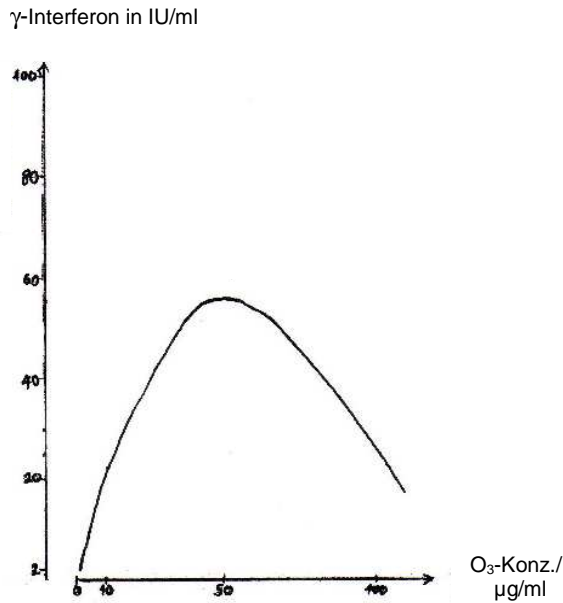


Abb. 6: Die Freisetzung von γ -Interferon an menschlichen Leukozyten im Vollblut in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration (nach 72 h Inkubation bei 37 °C; nach BOCCI bzw. VIEBAHN)

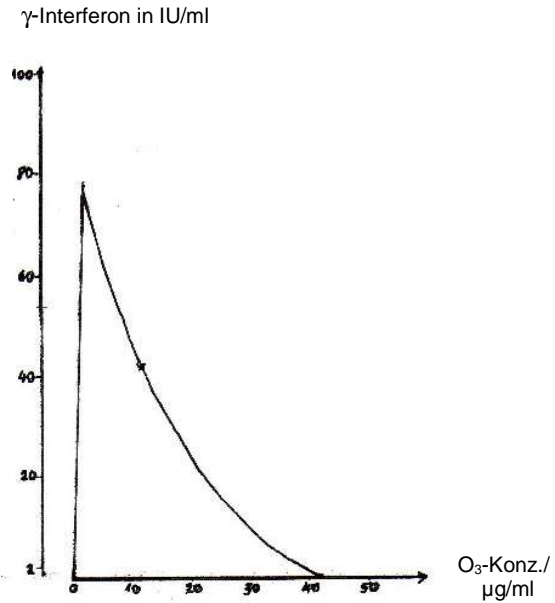


Abb. 7: Die Freisetzung von γ -Interferon an isolierten Leukozyten in Abhängigkeit von der Ozonkonzentration (nach einer Inkubationszeit von 96 h bei 37 °C, nach BOCCI bzw. VIEBAHN)

Ozon stimuliert auch die Freisetzung von TNF- α bei humanen Monozyten *in vitro* [PAULESU ET AL. 1991]. In Vollblut stieg bei O₃-Konzentrationen zwischen 30 und 54 µg/ml die TNF- α -Freisetzung an, während bei 100 µg/ml die Freisetzung wieder abnahm. Die höchsten TNF- α -Werte wurden unmittelbar nach Ozonbehandlung gemessen. Bei isolierten Leukozyten zeigte sich ein Maximum der Ausschüttung von TNF- α bereits bei 2 µg Ozon pro ml Zellsuspension. Die demgegenüber auch zeitabhängig verminderte Freisetzung bei 11 µg/ml wurde im Sinne einer Suppression gedeutet [PAULESU ET AL. 1991].

Die Effekte von Ozon *in vivo* und *in vitro* sind sehr unterschiedlich, entsprechende Studien sind nur bedingt vergleichbar: Eine kontrollierte *in-vitro*-Studie [BECKER ET AL. 1991] untersuchte die Veränderung der Funktion humaner Alveolarmakrophagen (HAM) von gesunden Nichtrauchern (25 und 35 Jahre) nach Ozon-Exposition (0,1-1,0 ppm für 2-4 h). Die Freisetzung von Prostaglandin E₂ (PGE₂), einem wichtigen Modulator von Entzündung und Phagozytose, stieg konzentrationsabhängig an. Obwohl die Phagozytose bestimmter Immunkomplexe durch O₃ vermindert wurde, veränderte sich die Anzahl von Fc- und Komplementrezeptoren auf der Oberfläche der Alveolarmakrophagen nicht. Die Produktion von Superoxid (O₂⁻) nach Stimulation mit Phorbol-13-Myristat-12-Acetat (PMA) und anschließender O₃-Exposition war signifikant vermindert (p=0,002), während die basale O₂⁻-Freisetzung infolge Plastikadhärenz nicht beeinträchtigt war.

Die Inhibition des Wachstums von *Cryptococcus neoformans* durch HAM wurde durch Ozon ebenfalls nicht beeinflusst. Auch induzierte O₃ nicht die Produktion von Entzündungsmediatoren und Immunmodulatoren wie

TNF- α , Interleukin 1 und Interleukin 6. Hingegen produzierten, verglichen mit den Kontrollen, die O₃-exponierten HAM signifikant geringere Mengen dieser drei Zytokine (TNF: $p = 0,005$; IL-1: $p = 0,003$; IL-6: $p = 0,026$) nach Stimulation durch bakterielle Lipopolysaccharide (LPS). Eine gel-elektrophoretische Analyse von Proteinen, die von HAM synthetisiert wurden, zeigte bei 11 Proteinen eine signifikant veränderte Syntheserate nach O₃-Exposition.

In einer *in-vivo*-Studie [DEVLIN & KOREN 1990] atmeten 8 gesunde Probanden gefilterte ozonisierte (0,4 ppm Ozon) oder nicht ozonisierte Luft für 2 h ein und führten in dieser Zeit sportliche Übungen durch. 18 h nach Expositionsende wurden Alveolarmakrophagen mittels bronchioalveolärer Lavage gewonnen und die Veränderungen der von den Makrophagen synthetisierten Proteine mittels zweidimensionaler Gel-Elektrophorese quantitativ erfasst. Von den annähernd 900 analysierten Proteinen wurden nach Ozon-Exposition *in vivo* 45 (5,1 %) signifikant vermehrt produziert, während die Syntheserate bei 78 (8,8 %) Proteinen signifikant abnahm. *In vitro* war die relative Syntheserate von 11 (1,2 %) von 900 gemessenen Proteinen signifikant verändert (Synthese von 9 Proteinen sowohl in luft- als auch in O₃-exponierten HAM in jeweils unterschiedlichen Raten quantitativ verändert, die Syntheserate von je einem Protein nicht messbar in O₃- bzw. luftexponierten HAM).

Die *in-vivo*-Exposition von HAM gegenüber Ozon induziert somit eine deutlich höhere relative Proteinsyntheserate als die *in-vitro*-Exposition. Dies ist möglicherweise die Folge einer komplexen Reaktion auf die Gewebeschädigung in den Atemwegen nach Einwirkung des Ozons und der dadurch bedingten Entzündungsreaktion und weniger ein direkter Effekt des O₃ auf die HAM [BECKER ET AL. 1991].

In der *in-vitro*-Studie (zweidimensionale Gelelektrophorese) wurde an HAM hinsichtlich der Membrandurchgängigkeit auch 48 Stunden nach Ozon-Exposition kein Unterschied zur Kontrolle beobachtet (Exposition gegenüber gereinigtem Luftgemisch). Folglich resultieren die beobachteten Veränderungen der HAM-Eigenschaften eher aus einer Induktion intrazellulärer Vorgänge auf molekularer Ebene als aus einer direkten Zytotoxizität.

In der Studie von [BECKER ET AL. 1991] wurde darüber hinaus eine vermehrte Freisetzung von Arachidonsäure und Prostaglandin E₂ (PGE₂) aus HAM nach Exposition gegenüber Ozon gemessen. Dies steht im Einklang mit Beobachtungen bei ozonexponierten Alveolarmakrophagen von Ratten [MADDEN ET AL. 1990] und Kaninchen [DRISCOLL & SCHLESINGER 1986] *in vitro* und *in vivo*. Als Ursache für den Arachidonsäure-Anstieg wird eine Stimulation der Phospholipaseaktivität diskutiert [BECKER ET AL. 1991], wie dies bereits für andere freie Sauerstoffradikale nachgewiesen werden konnte [AU ET AL. 1985]. Ebenfalls denkbar wäre die Aktivierung der Cyclooxygenase durch O₃ über einen Prozess, bei dem H₂O₂ über eine Membranlipid-Ozonisierung produziert wird [BAILEY 1978].

Die inflammatorischen Effekte von ozonisierter Luft auf die menschliche Lunge wurden von KOREN ET AL. [1989] untersucht. Nach Exposition gegenüber 0,4 ppm Ozon oder gefilterter Luft über 2 h während intermittierender Körperübungen wurde die bronchoalveoläre Flüssigkeit (BAL) gesunder Probanden auf eine Reihe von Entzündungsmediatoren analysiert: Es zeigten sich verschiedene Veränderungen bei der Anzahl der untersuchten Zelltypen und bei den Immunmodulatoren in der gesamten Zellpopulation, die summatorisch zu einer erhöhten vaskulären Permeabilität der Lunge führten [KOREN ET AL. 1989].

Auch in der BAL-Flüssigkeit von Ozon-exponierten gesunden Nichtrauchern ließ sich eine im Vergleich zum Einatmen von gefilterter Luft vermehrte Freisetzung von Immunmodulatoren aus Alveolarmakrophagen nachweisen [DEVLIN ET AL. 1991]: Es ergaben sich signifikante Anstiege von Neutrophilen, PGE₂, IL-6, LDH und α 1-Antitrypsin sowie ein signifikanter Abfall der Fähigkeit von Alveolarmakrophagen, Mikroorganismen über den Komplementrezeptor zu phagozytieren [DEVLIN ET AL. 1991].

BOCCI und Mitarbeiter [1994(A)] untersuchten die Effekte der Eigenblutbehandlung mit Ozon an vier gesunden männlichen Probanden: Es wurden einzelne oder wiederholte Autohämotransfusionen von 250 ml ozonisiertem Blutes (54 μ g Ozon/ml Blut; bei einem Probanden alle 96 h) mit Gaben von Eigenblut verglichen, das zuvor mit steriler Luft behandelt worden war. Das Eigenblut enthielt entweder Ca⁺⁺-Zitrat-Lösung (Zitrat-Phosphat-Dextrose, ZPD (0,14 %)) oder Heparin + Ca⁺⁺ (25 U/ml Blut). Das Intervall zwischen der Behandlung mit Ozon bzw. Luft betrug 7 Tage. Blutproben wurden vor sowie 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72 und 96 h nach Behandlung entnommen und auf Zytokinplasmaspiegel, Neopterin (Np), β ₂-Mikroglobuline (β ₂-M) und akute-Phase-Proteine untersucht:

Die anschließende Inkubation des heparinisierten Blutes vor und nach Ozonisierung ergab, dass Ozon die erhöhte Freisetzung kleiner Mengen aller untersuchten Zytokine (siehe Tabelle 7) induzierte. Nach Antikoagulation mit ZPD und Ozonbehandlung (54 μ g/ml Blut) betrug die Zytokinfreisetzung nur etwa ein Fünftel der Zytokinmenge, die aus heparinisiertem Blut (nicht dargestellt) ausgeschüttet wurde, was nach Ansicht der Autoren die korrekte Stimulation der Blutproben bestätigt.

Tabelle 7: Durchschnittliche Ausschüttung von Zytokinen in vitro nach achtstündiger Inkubation heparinisierten (Zugabe von 5 mmol Ca⁺⁺) menschlichen Vollblutes vor (Kontrolle) und nach Ozonisierung;

	IL-1 β pg/ml	IL-2 IU/ml	IL-6 pg/ml	TNF- α pg/ml	IFN- β IU/ml	IFN- γ IU/ml	GM-CSF pg/ml
Kontrolle	61	0,8	17	14	2	1	108
O ₃ (54 μ g/ml)	157	1,8	36	52	27	3,3	265

Der Hämolyseanteil des heparinisierten Blutes unmittelbar vor Re-Infusion lag zwischen 1,6 und 3,0%. 24 und 48 h nach Ozonbehandlung fanden sich keine Veränderungen von Standardlaborparametern. Die Körpertemperatur der Probanden wurde durch die einmalige bzw. wiederholte Autohämotherapie nicht verändert. Bis auf ein für wenige Tage nach der Autohämotherapie anhaltendes Wohlbefinden und eine leichte Euphorie bei einem Probanden ergaben sich keine weiteren subjektiven oder objektiven Nebenwirkungen.

Nach Injektion von von Endotoxin (gereinigte Lipopolysaccharide von *Salmonella abortus equi*, 4 ng/kg KG) bei Patienten mit Malignomen wurden hohe Konzentrationen pyrogener Zytokine wie IL-1, IL-6 und TNF- α mit einem Maximum wenige Stunden nach Applikation freigesetzt [MACKENSEN ET AL. 1991]. Nach BOCCI ET AL. [1994(A)] fällt die Zytokinfreisetzung nach der Aktivierung durch Ozon im Vergleich zu den klassischen Mitogenen wesentlich schwächer aus. Folglich dürften die nach Ozon-Behandlung freigesetzten Zytokine eher in der zellulären Umgebung aufgebraucht werden und nicht über das lymphatische System in den Blutkreislauf

gelangen [BOCCI ET AL. 1993 (A, B)]. Tatsächlich ist das Mx-Protein [TOWBIN ET AL. 1992], das als guter Indikator für die Freisetzung von Interferon (IFN) gilt, 48 bis 72 h nach GEBO in Monozyten und Lymphozyten auf das Drei- bis Vierfache erhöht, wobei eine beträchtliche inter-individuelle Variabilität beobachtet wurde, jedoch die durchgeführten Kontrollen keinen Anstieg von Mx-Protein zeigten. Bei einem Probanden dieser Studie wurde die Mx-Protein-Konzentration im Vollblut über 20 Tage während einer alle 96 h wiederholten Autohämotherapie gemessen. Hier zeigten sich die Spitzenwerte bereits jeweils nach 48 h und nur nach der letzten GEBO verzögert nach 72 h [BOCCI ET AL. 1994(A)].

1.3.5 Arzneimittelinteraktionen mit Ozon

Die extrakorporale Ozonisierung von Vollblut erfordert eine Inhibition der Gerinnung des entnommenen Blutes. Diese erfolgt üblicherweise entweder durch Zusatz von Heparin oder von Zitrat. Eine verminderte Zytokinfreisetzung zeigt sich insbesondere bei Anwendung ozonisierten Blutes in herkömmlicher Ca^{++} -Zitrat-Lösung (ZPD) und bei Inkubation in Abwesenheit von extrazellulärem Kalzium. Die Beteiligung extrazellulären Kalziums an der Zytokininduktion wurde bei heparinisiertem Blut (in einer Konzentration von 25 U/ml Blut) untersucht: Bis zu einer Ca^{++} -Konzentration von 5 mmol wurden vermehrt Zytokine induziert, einem weiteren nur geringen Anstieg der Zytokinproduktion bis zu 50 mmol Ca^{++} stand dann jedoch eine deutlich zunehmende Hämolyse gegenüber [BOCCI ET AL. 1993(A)].

Die Beobachtung, dass die Zytokinproduktion von ozonisiertem Blut in Ca^{++} -Zitratlösung (ZPD), inkubiert in Abwesenheit extrazellulären Kalziums, deutlich vermindert ist, hatte weitere Untersuchungen zur Folge [BOCCI 1996]. Dabei zeigte sich, dass zuvor heparinisiertes, mit ZPD versetztes und ozonisiertes Blut nach Rekalzifikation im physiologischen Bereich die Zytokinproduktion wieder aufnimmt, während ohne Kalziumzugabe die Zytokinfreisetzung inhibiert bleibt.

Nach Ozonisierung *in vitro* setzt venöses Blut vergleichbare Zytokinmengen frei, unabhängig davon, ob die Antikoagulation zuvor mit Zitrat oder Heparin erfolgte. Dies wurde in einer Studie von BOCCI ET AL. [1998(A)] gezeigt. Venöses Blut gesunder Probanden wurde entweder heparinisiert (Kalziumsalz, 30 U/ml Blut) oder mit 0,14 % ZPD versetzt. Die Ozonisierung von mit Heparin oder mit ZPD vorbehandeltem Blut hat stets die Bildung von Lipid-Peroxidationsprodukten (TBARS) zur Folge. Ihre Konzentration erreicht ein Plateau bei einer Ozon-Konzentration von 70 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pro g Blut. Bei Inkubation *ex vivo* für bis zu 9 h bleibt die Konzentration der TBARS stabil, bei Re-Infusion in den Spender wie z. B. bei der GEBO nimmt sie infolge des Verdünnungseffektes wie auch der Aufnahme in die Zellen rasch ab. Im therapeutischen Bereich der Ozontherapie (30-80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ pro g Blut entsprechend 0,63-1,66 mmol) bleiben Zellschäden insgesamt vernachlässigbar. Die Hämolyse als einfachster Marker oxidativer Schäden ist unerheblich, andere biochemische Parameter mögen in einer reversiblen Weise beeinflusst werden [ZIMRAN ET AL. 1999]. Thrombozyten jedoch scheinen empfindlich gegenüber ansteigenden Ozonkonzentrationen (70-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) zu sein, insbesondere in Gegenwart von Heparin. Bei hohen Heparindosen (bis zu 30 IU/ml Blut), nicht jedoch bei ZPD, wurde gelegentlich die Formierung einer kleinen Zahl von Klumpen, die im Filter des Transfusionsbestecks zurückgehalten wurden,

beobachtet [BOCCI ET AL. 1998(A)]. Die Aggregationstendenz von heparinisierem Blut bei Exposition gegenüber einer Ozonkonzentration von 100 µg/ml wurde ultramikroskopisch bestätigt [BOCCI ET AL. 1998]. Daher wird empfohlen, bei der Autohämotherapie mit heparinisierem Blut das Blut nicht höheren Ozon-Konzentrationen als 40 µg/ml auszusetzen und Patienten unter Therapie mit Antikoagulanzen oder Azetylsalicylsäure, mit der Neigung zum hämorrhagischen Syndrom, zu Thrombozytopenie oder bei hepatischer Dysfunktion nur noch ZPD-behandeltes Blut zu re-infundieren, um ein Blutungsrisiko auszuschließen [BOCCI 1996].

Hinweise auf sonstige Arzneimittelinteraktion sind aus der Literatur nicht bekannt.

1.4 Klinische Studien mit Ozon

1.4.1 Effekte bei viralen Erkrankungen

Die Behandlung mit Ozon wurde bei einer Vielzahl viraler Erkrankungen wie Herpes simplex, Herpes zoster [DORSTEWITZ 1989; KONRAD 1983], akute Hepatitis [MATTASSI 1983] und chronische Hepatitis [KIEF 1983] eingesetzt, wobei Kontrollen und Randomisierungen zur Beurteilung des Therapieerfolgs jedoch fehlen.

Eine nicht kontrollierte Pilotstudie [Shallenberger 1993] untersuchte die möglichen Effekte von Ozon auf die funktionellen Merkmale der zellvermittelten Immunität (cell-mediated immunity, CMI). Dazu wurde bei 4 Patienten mit AIDS (Phase II) über 5-10 Tage täglich 200 ml heparinisieretes, mit 200 ml Ozon-Sauerstoffgemisch (Konzentration 80 µg/ml) versetztes Blut re-infundiert. Es zeigte sich im Mittel ein Anstieg der immunologischen Antwort auf alle drei untersuchten Mitogene: Phytohämagglutinin (+22%), Concanavalin (+41%), Pokeweed-Mitogen (+101%). Subjektiv gaben alle 4 Patienten eine Besserung ihrer Beschwerden an. Die Aussagekraft der Studie ist jedoch wegen des variablen Spontanverlaufs und der niedrigen Probandenzahl stark eingeschränkt. Zudem wird nicht erwähnt, ob ein validierter Fragebogen zur Befindlichkeit eingesetzt wurde und wie lange der positive Effekt anhält. Auch nach Ansicht des Autors sind daher kontrollierte Studien dringend geboten [SHALLENBERGER ET AL. 1996].

Von [KNOCH ET AL. 1987] wurde der therapeutische Effekt einer kolorektalen Ozoninsufflation auf Patienten mit Hepatitis B in einer randomisierten, einfachblinden Studie beschrieben. Von den 16 mit Ozon behandelten Patienten zeigten 12 (75%) innerhalb von zwei Wochen eine ausgeprägte klinische Besserung. Es wurden signifikante Abfälle des Bilirubins, der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase beobachtet. Als mögliche Ursache für diese Veränderungen wurde der Anstieg des pO₂ in der Pfortader und im Leberparenchym unter der Ozontherapie, der in tierexperimentellen Untersuchungen durch direkte Messung in Venen und Arterien des Mesocolons, der Vena portae und im Leberparenchym belegt wurde, angesehen: In diesen Untersuchungen wurde ein Anstieg des pO₂ um bis zu 250% in der Darmwand und bis zu 130% im Pfortadersystem [KNOCH ET AL. 1988; KLUG ET AL. 1987] angegeben. Die Autoren spekulieren, dass durch die Therapie das Kolon-assoziierte Lymphsystem aktiviert worden sein könnte [BOCCI 1996]. Auch die Oxygenierung des peri-

phenen Blutes nahm zu. Angaben über eine Veränderung des Antigen- und Antikörperstatus im Hinblick auf das Stadium der Hepatitis finden sich nicht. Aufgrund der bisher vorliegenden in vitro-Daten postuliert BOCCI [1996], dass bei einer Reihe von chronischen viralen Erkrankungen oder pathologischen Zuständen, die von Immunschwäche oder Immundysregulation begleitet werden, die GEBO einen Therapieansatz bieten könnte.

1.4.2 Effekte bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit

Bei arterieller Verschlusskrankheit wird die Ozontherapie in der Praxis relativ häufig eingesetzt. In einer nicht kontrollierten, retrospektiven Studie bei 445 Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) im Stadium II nach Fontaine [ROKITANSKY 1988] wurde das Ergebnis lokaler und systemischer Therapie mit Ozon (kutane Ozonbegasung, GEBO) dargestellt: In 79,9% wurde Beschwerdefreiheit erreicht, bei 12,4% Besserung. Im Stadium III sei die Rate an Oberschenkelamputationen auf 8,9% gegenüber einem zu erwartenden Anteil von 15% ohne Therapie gesunken. Im Stadium IV habe die üblicherweise bei ca. 50% liegende Amputationsrate im Bereich des Oberschenkels mit Ozontherapie auf 23,3% gesenkt bzw. die Gewebsperfusion so weit verbessert werden können, so dass Zehen- und Vorfußamputationen hinreichten.

Zum möglichen Wirkmechanismus der GEBO bei arterieller Verschlusskrankheit wurde 1995 eine randomisierte, kontrollierte Studie publiziert [VERRAZZO ET AL. 1995]. Eine Verblindung war aufgrund der gewählten Therapieformen nicht möglich. 30 Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK, Stadien II bis IV nach Fontaine) wurden entweder einer hyperbaren Sauerstofftherapie (HBO, n = 15) oder einer O₂/O₃-Therapie (GEBO) zugeführt. Jeder Zyklus beider Therapieformen bestand aus 5 Anwendungen mit jeweils eintägigen Pausen zwischen den Anwendungen. Bei der HBO-Therapie atmeten die Patienten in einer Druckkammer 100% Sauerstoff bei 202,6 kPa über 60 min ein. Die Ozontherapie bestand in der langsamen Autohämotransfusion von 100 ml venösen Blutes, welches gegenüber einem O₂/O₃-Gasgemisch mit einer Konzentration von 32 µg Ozon/ml, entsprechend insgesamt 6.000 µg Ozon, exponiert worden war.

Bestimmt wurden Blutviskosität, Erythrozytenverformbarkeit, Hämatokrit, Plasma-Fibrinogen-Konzentration und Thrombinzeit jeweils 30 min vor (T₀) und 15 min nach der ersten (T₁) sowie 24 h nach der letzten Anwendung (T₂) jeder Therapieform. Unter Ozontherapie zeigte sich ein signifikanter (p nicht angegeben) Anstieg der Erythrozyten-Verformbarkeit (Permeabilität durch ein Spezialfilter [REID ET AL. 1976], mit 5 µm Porendurchmesser) und ein signifikanter Abfall der Blutviskosität (p < 0,001 [T₁]; p < 0,005 [T₂]). Bei der HBO-Therapie waren keine derartigen Veränderungen nachweisbar. Der inhibitorische Ozoneffekt auf die Plasma-Fibrinogen-Konzentration (p < 0,05) und der signifikante Anstieg der Thrombinzeit (p < 0,05) wurden lediglich bei T₁, nicht jedoch bei T₂ beobachtet und scheinen somit zeitlich begrenzt zu sein. Die Autoren ziehen den Schluss, dass bei der Autohämotherapie der pAVK mit Ozon in erster Linie hämorrheologische Parameter günstig beeinflusst werden. Im Gegensatz zur HBO-Therapie bewirkte die Ozonanwendung bei den pAVK-Patienten auch einen signifikanten Anstieg (p < 0,001) von Malonyldialdehyd im Plasma (MDA), einem etablierten Marker für die Lipid-Peroxidation. Der Anstieg war auch in T₂, also 24 h nach der 5. Behandlung, noch signifikant. Daraus leiten die Autoren ab, dass die beobachteten rheologischen Effekte der Autohämotherapie möglicherweise auch auf der Bildung freier Radikale beruhen [VERRAZZO ET AL. 1995].

Zu dieser Arbeit ist kritisch anzumerken, dass verschiedene klinische Studien der AVK einbezogen wurden und dass die GEBO gegenüber einem bei AVK ebenfalls nicht dem Therapiestandard entsprechenden Verfahren geprüft wurde.

DIEHM & RECHTSTEINER [1988] postulierten dagegen, dass durch Ozon die O₂-Versorgung des Gewebes ungünstig beeinflusst werde, da es zu einer Desoxygenierungshemmung des Hämoglobins käme. Darüber hinaus meinten die Autoren, durch Peroxidierung von Membranlipiden werde die Flexibilität der Erythrozytenmembran vermindert. Entsprechende experimentelle Befunde liegen jedoch nicht vor, so dass diese häufig publizierten Ansichten durch die experimentellen Befunde von VERRAZZO ET AL. [1995] zumindest partiell widerlegt worden sind.

Eine andere kontrollierte klinische Studie über Patienten mit pAVK zeigt, dass Autohämotransfusion mit Ozon die hämorrheologischen Parameter und das periphere Sauerstoffangebot bessert [GIUNTA ET AL. 2001]: 27 Patienten (15 männlich, 12 weiblich, mittleres Alter 66 ± 11 Jahre) mit pAVK im klinischen Stadium II bis III nach Fontaine unterzogen sich einer Autohämotherapie mit Ozon (absolute Menge 3,6 mg Ozon als O₂/O₃-Gasgemisch in 100 ml venösem Blut gelöst). 20 gematchte, gesunden Probanden dienten als Kontrolle. Das ozonisierte Eigenblut wurde mit einer Fließgeschwindigkeit von 5 ml/min über 20 min retransfundiert. Vollblutviskosität, Filtrierbarkeit der Erythrozyten, Hämatokrit und Fibrinogen wurden initial und 30 min nach Reinfusion des ozonisierten Blutes bestimmt. Darüber hinaus wurden der p 50 Standard (p 50 Std) als Indikator für die Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität und die Plasmawerte von MDA als Indikator von Lipidperoxidation und 2,3-Diphosphoglycerat (2,3-DPG) ermittelt. p 50 Std ist definiert als Sauerstoffspannung in mm Hg bei 50% Sauerstoffsättigung, pH 7,4, 37° C und pO₂ von 40 ± 2 mmHg. Er zeigt die Position in der Sauerstoff-Hämoglobin-Sättigungskurve an. 2,3-DPG gilt als wichtiger Regulator der Sauerstoffentladung von Hämoglobin.

Im Vergleich zur Kontrollgruppe waren die Basalwerte der Vollblutviskosität, MDA und p 50 Std bei der pAVK-Gruppe signifikant höher ($p < 0,05$ - $p < 0,001$), die der Erythrozyten-Filtrierbarkeit signifikant niedriger ($p < 0,01$). 30 min nach Ende der Eigenblutbehandlung mit Ozon war die Vollblutviskosität der pAVK-Gruppe signifikant abgefallen ($p < 0,01$). Zudem wurde ein signifikanter Abfall des Plasmafibrinogens ($p < 0,01$) beobachtet, der Hämatokrit blieb hingegen unbeeinflusst. Gleichzeitig waren die Filtrierbarkeit, MDA im Plasma und p 50 Std signifikant angestiegen ($p < 0,01$ - $0,005$). Der 2,3-DPG-Wert zeigte keine signifikante Änderung. Keine signifikanten Änderungen wurden gemessen, als dieselben Patienten eine Autohämotransfusion ohne Ozonisierung erhielten (Kontrolltest). Die Patienten gaben nach der Eigenbluttherapie einen Rückgang des Ruheschmerzes und eine Verbesserung der Übungskapazität an.

Die Autoren folgern, dass die Eigenbluttherapie mit Ozon die hämorrheologischen Parameter bei Patienten mit pAVK günstig beeinflussen kann, da sowohl die Vollblutviskosität und Plasmafibrinogenkonzentration als auch die Erythrozyten-Filtrierbarkeit 30 min nach Ozontherapie zur Normalisierung neigten. GIUNTA und Mitarbeiter [2001] stellen ferner die Hypothese auf, dass die Autotransfusion ozonisierten Blutes den Sauerstoffstrom zum Gewebe verbessert. Dies werde unterstützt durch einen signifikanten Anstieg des p 50 Std, welches eine Rechtsverschiebung in der Sauerstoff-Hämoglobin-Dissoziationskurve bedeute.

Das Fehlen signifikanter Veränderungen bei den Kontrollen (Retransfusion nicht ozonisierten Blutes) schließt aus, dass die Ergebnisse Folge der Autotransfusion allein seien. Der erhöhte oxidative Stress und die vermehrte Lipidoxidation (ausgedrückt durch die Freisetzung von MDA) könnten, zumindest teilweise, für die Effekte von Ozon auf die hämorrheologischen Parameter und die Hämoglobin-Sauerstoff-Affinität verantwortlich sein.

Die Autoren mutmaßen, dass *in vivo* eine sehr selektive zelluläre Lyse von alten und rigiden Erythrozyten während der O₂/O₃-Therapie auftreten. Dadurch könnten sich die Vollblutviskosität und die Erythrozyten-Filtrierbarkeit sogar ohne einen signifikanten Abfall des Hämatokritwertes verbessern.

Andererseits könnte die Ozon-induzierte Lipidperoxidation der Erythrozytenmembran den intrazellulären pH verändern und durch Wechselwirkung mit transmembranösen Pumpen zu einer Rechtsverschiebung der Sauerstoff-Hämoglobin-Dissoziationskurve (Bohr-Effekt) führen. Jedenfalls zeigt die Konzentration von 2,3-DPG, dem anderen primären Regulationsmechanismus der Sauerstoffabgabe, 30 min nach Ozontherapie keine signifikante Veränderung. Offen bleibt allerdings, wie lange der Effekt auf die gemessenen Parameter über 30 min hinaus anhält.

In einer prospektiven, einfach blinden Studie erhielten 12 Patienten mit pAVK (Stadium II-IV nach Fontaine) und terminaler Niereninsuffizienz unterschiedlicher Ätiologie eine Autohämotherapie mit Ozon (O₃-AHT) und mit Sauerstoff (O₂-AHT) [Tylikki et al. 2003]. Studiendesign: Initial erhielten die Patienten zunächst 9 Sitzungen Autohämotherapie mit reinem medizinischen Sauerstoff, gefolgt von 9 Sitzungen Autohämotherapie mit O₃ (jeweils 3/Woche vor Hämodialyse). Dazu wurden 250 ml venöses Vollblut entnommen (sterile, transparente Glasflasche, Natriumzitrat) und das Blut gegenüber Ozon (Kontrolle O₂) exponiert. Das Gas wurde in vier programmierten Zyklen in einer Konzentration von 50 µg/ml pro g Blut mit einer Gesamtdauer von 5 min angewendet.

Gemessen wurden Marker der Lipidperoxidation (LPO): Plasmakonzentration von Malondialdehyd und 4-hydroxy-Alkenal), Marker der Proteinperoxidation (PP): Plasmakonzentration von Carbonylgruppen, reduziertes Glutathion (GSH) in Erythrozyten und die Plasmakonzentration von freiem Hämoglobin (FHP) vor der ersten AHT-Sitzung, nach 9 Sitzungen O₂-AHT und nach 9 Sitzungen O₃-AHT. Es wurden auch Blutproben vor und 20 min nach der ersten O₃-AHT entnommen.

Die GSH-Konzentration in Erythrozyten war nach 9 Sitzungen mit O₃-AHT niedriger ($p > 0,05$) als initial (-64,51 %). Nach O₂-AHT (Kontrolle) zeigte sich ein nicht signifikanter Abfall des GSH-Wertes (-42,27 %). Der LPO-Plasmaspiegel war nach O₃-AHT um 33,6 % höher als initial (statistisch nicht signifikant). Die GSH- und LPO-Spiegel waren jedoch 20 min nach der 1. O₃-AHT-Sitzung im Vergleich zum Ausgangswert unverändert. Die Marker der Proteinperoxidation und der FHP-Spiegel wurden nicht beeinflusst.

Die Autoren folgerten aus dem Abfall des GSH-Spiegels auch in der Kontrollgruppe (O₂-AHT), dass ein Teil der oxidativen Stimulation durch O₃-AHT nicht allein aus der Ozonexposition, sondern bereits aus den Prozeduren, die mit der Autohämotherapie verknüpft sind, resultieren könnte: Die Blutmanipulation, der Kontakt des Blutes mit Kunststoffschläuchen und die Lichtexposition führten zur Induktion von ROS.

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass O₃-AHT mit einer Ozonkonzentration von 50 µg/ml, dreimal wöchentlich angewendet, bei Patienten mit Niereninsuffizienz im Endstadium keine messbaren oxidativen Zellschäden an den Erythrozyten verursachte. Der erhöhte Verbrauch von GSH weist darauf hin, dass das antioxidative Schutzsystem aktiviert wurde. Den Autoren erscheint die O₃-AHT als sichere Therapiemethode, die bei Dialysepatienten mit pAVK wegen der Verbesserung des Blutflusses in hypoxischem Gewebe und der Abmilderung ischämischer Symptome als sinnvolle Therapieergänzung dienen könnte.

In einer prospektiven, nicht kontrollierten Studie an 23 Patienten (keine Angabe zur Erkrankung) und 3 Probanden wurde der Effekt der Autohämotherapie mit Ozon auf die Oxigenierung von Skelettmuskeln in Ruhe gemessen [CLAVO ET AL. 2003]. Sie erhielten eine dreimalige Autohämotherapie mit Ozon in einer Konzentration von 60 µg/ml (alternierende Tage) innerhalb einer Woche. Die Gewebeoxigenierung (in mmHg) wurde direkt im M. tibialis anterior mittels polarographischer Nadelelektroden vor und nach der ersten und der dritten Therapiesitzung gemessen. Die Messung des pO_2 im M. tibialis anterior gilt als Standard. Der mittlere pO_2 -Wert vor Therapie (Baseline) lag bei 23,9 mmHg und damit im Normbereich bei gesunden Probanden (16,2 bis 27,2 mmHg) [HEINRICH ET AL. 1990].

Ergebnisse: Die Unterschiede in der Oxigenierung waren nicht statistisch signifikant, jedoch resultierte ein signifikanter prozentualer Abfall niedriger Oxigenierungswerte ($pO_2 < 5$ mmHg) im Anschluss an die Ozontherapie ($p < 0,02$). Bei dieser Veränderung der Oxigenierung nach O_3 -AHT war eine inverse Korrelation mit dem Alter ($r = -0,398$; $p = 0,044$) und mit den Baselinewerten der Muskeloxigenierung ($r = -0,644$; $p < 0,001$) nachweisbar. Die initial am geringsten oxigenierten Muskeln profitierten am meisten von der O_3 -AHT; hier wurde 48 h nach der 2. Therapiesitzung eine signifikant höhere Oxigenierung ($p = 0,031$) gemessen.

Die Autoren schliessen daraus, dass O_3 -AHT die Oxigenierung in ruhendem Muskelgewebe, insbesondere bei hochgradiger Hypoxie verbessern kann. Sie empfehlen die Ozontherapie zur komplementären Behandlung hypoxischer und ischämischer Syndrome.

1.4.3 Antiinflammatorische Effekte von Ozon

In einer prospektiven, nicht randomisierten Multicenterstudie bei 600 Patienten (20-80 Jahre) mit klinischen Zeichen einer lumbalen Nervenwurzelkompression durch einen Prolaps des Nucleus pulposus [ANDREULA ET AL. 2003] wurde in jeweils einer Einzelsitzung der Hälfte der Patienten (Gruppe A) eine intradiskale (4 ml) und periganglionäre (8 ml) Injektion eines O_2/O_3 -Gemisches mit einer Konzentration von 27 µg/ml verabreicht. 300 Patienten (Gruppe B) erhielten anschließend zusätzlich eine periganglionäre Injektion eines Kortikoids und eines Lokalanästhetikums.

Bei allen Patienten wurde nach 2 Wochen, 2 Monaten und 6 Monaten einer follow-up-Untersuchung mit Fragebogen und Interviews hinsichtlich des Therapieergebnisses durchgeführt, der Behandlungserfolg anhand eines Kriterienkatalogs festgelegt.

Die Behandlung war bei 70,3 % der Patienten der Gruppe A und bei 78,3 % der Gruppe B erfolgreich ($p < 0,05$). Komplikationen traten bei 2 Patienten der Gruppe B auf: Es kam zu einer unterschiedlichen Sensibilität in den Unterschenkeln ipsilateral der Injektion, die sich binnen 2 Stunden vollständig zurückbildete.

Empirische Studien, durchgeführt *in vivo* an Hasen und *in vitro* an resezierten menschlichen Bandscheibenpräparaten haben gezeigt, dass bei einer intradiskalen Ozonanwendung (27 µg Ozon pro ml O_2) ein direkter Effekt auf die Proteoglykane des Nucleus pulposus ausgeübt wird. Ozon setzt Wassermoleküle aus Zytolysen in der Matrix frei, innerhalb von 5 Wochen wird das zugrunde gegangene Gewebe durch Bindegewebe und Blutzellen ersetzt. Es resultiert ein vermindertes Diskusvolumen [ILIAKIS ET AL. 2001].

Das spezifische Merkmal der intradiskalen O₂/O₃-Therapie in diesen Gewebeproben war die Dehydratation der fibrillären Matrix des Nucleus pulposus, welche zur Freilegung von Kollagenfasern und Zeichen der Regression führte (Formation von Vakuolen und Fragmentation), einer Art Bandscheiben-„Mumifizierung“ [LEONARDI ET AL. 2001].

Eine Reduktion des Diskusvolumens ist eines der therapeutischen Motive bei der intradiskalen Anwendung von medizinischem Ozon, da durch die Reduktion des Diskusausmaßes die Nervenwurzelkompression vermindert werden kann. Der Ozonwirkung liege die Hemmung der Synthese proinflammatorischer Prostaglandine und die vermehrte Freisetzung von Antagonisten oder löslichen Rezeptoren zugrunde, mit der Fähigkeit, proinflammatorische Zytokine wie Interleukin (IL)-1, IL-2, IL-8, IL-12, IL-15, Interferon- α und TNF- α zu neutralisieren. Als weiterer Effekt wird die vermehrte Freisetzung von Immunrezeptor-Zytokinen wie TGF- β 1 und IL-10 postuliert [ILIAKIS ET AL. 2001, BOCCI ET AL 1993].

1.4.4 Effekte von Ozon auf den Fettstoffwechsel

In einer prospektiven, nicht kontrollierten Studie bei 22 männlichen Patienten (46-76 Jahre) mit Zustand nach Herzinfarkt wurde der Effekt einer Autohämotherapie mit Ozon nach 0, 5 und 15 Anwendungen (jeweils 200 ml Eigenblut ozonisiert mit 50 mg Ozon/l Gasmischung; 5 Anwendungen /Woche über 3 Wochen) auf Serumlipide und das Glutathion-Redoxsystem untersucht [HERNÁNDEZ ET AL. 1995].

Vollblut wurde unmittelbar vor und unmittelbar nach Ozonisierung (in vitro) untersucht. Die Konzentrationen von Gesamtcholesterin, LDL, HDL und Triglyzeriden wurden durch die einzelne Ozonbehandlung nicht verändert, Gesamtcholesterin und LDL fielen nur geringfügig ab.

Das Glutathion-Redoxsystem zeigte folgende Veränderungen: Plasma-Lipidperoxidation (LPO) und erythrozytäre Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase-Aktivität (G6PDH) stiegen nach Exposition signifikant an ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,05$), reduziertes Glutathion (GSH) fiel signifikant ($p < 0,01$) ab, die erythrozytäre Glutathion-Peroxidase-Aktivität (GPx) blieb unverändert.

Nach 0, 5 und 15 Sitzungen Ozontherapie wurde ebenfalls Blut entnommen, die entsprechenden Werte jedes einzelnen Patienten nach 5 und 15 Sitzungen wurden mit den Ausgangswerten verglichen: Das Gesamtcholesterin fiel nach 5 bzw. 15 Behandlungen signifikant ($p < 0,05$) ab (5,5 bzw. 9,7%). Ein signifikanter Abfall ergab sich auch für LDL (15,4 bzw. 19,8%). HDL und Triglyzeride veränderten sich nicht.

Die G6PDH stieg nach 5 Sitzungen Ozontherapie um 22% an ($p < 0,05$), nach 15 Sitzungen war der Anstieg nicht mehr signifikant (13,4%). Die GPx-Aktivität stieg um 41,8% nach 5 und um 78,9% nach 15 Therapiesitzungen an. Wegen erheblicher Schwankungen bei jedem einzelnen Patienten war dieser Anstieg statistisch nicht signifikant. Erythrozytäre GSH und Plasma-LPO zeigten keine Veränderungen.

Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu einer randomisierten placebokontrollierten doppelblinden Crossover-Studie von STENKAMP ET AL. [1997]. Diese Studie zeigte bei Patienten mit milder arterieller Hypertonie einen fehlenden bzw. eher ungünstigen Einfluss der GEBO auf die Serumlipidkonzentration (2 Anwendungen/Woche,

Anwendungsdauer 5 Wochen je Studienarm; statistisch signifikanter HDL-Abfall, $p < 0,05$). Bei diesen Patienten lag die Gesamtcholesterinkonzentration im mittleren bis oberen Normbereich.

Weitere Erkrankungen

Es gibt eine Vielzahl von unkontrollierten Studien und Kasuistiken mit den verschiedenen Formen der Therapie mit Ozon bei vielen verschiedenen Krankheiten. Die Aussagekraft hinsichtlich der Wirksamkeit ist wegen der fehlenden Standards wie Randomisierung, Fallzahl, Kontrollgruppe, Beobachtungszeitraum usw. im Sinne der evidenzbasierten Medizin äußerst gering. Deswegen werden sie hier nicht aufgeführt.

1.5 Akute und chronische Toxizität von Ozon

Im Bereich saurer pH-Werte entstehen in Gegenwart von Ozon freie Radikale sowohl *in vitro* als auch *in vivo* [PRYOR 1994]. In der Extremsituation Smog, in der Ozon mit anderen säurebildenden Gasen der Luft reagiert, beruht die toxische Wirkung auf den Respirationstrakt vor allem auf dem Unvermögen der Alveolarflüssigkeit (surfactant factor), die Mischung ständig neu entstehender Radikale zu neutralisieren [O'NEILL ET AL. 1993]. Konzentrationen von $1,5-3 \times 10^3 \mu\text{g O}_3/\text{ml}$ eingeatmeter Luft bewirken nach 1-2 h Exposition sowohl beim Menschen als auch im Tierversuch massive Verletzungen der Alveolarschleimhaut und zentralnervöse Störungen [RIECHE ET AL. 1942]. Bei noch höheren Konzentrationen tritt ein tödliches Lungenödem auf.

Bei der Vielzahl bisheriger parenteraler (intravenös, intraarteriell, intramuskulär, subkutan und intraartikulär) oder lokaler Anwendungen (nasal, oral, vaginal, vesikal, kolorektal und kutan) [VIEBAHN-HÄNSLER 1995] überrascht die vergleichsweise geringe Anzahl dokumentierter unerwünschter Wirkungen (ausgenommen die direkte intraarterielle und intravenöse Ozonapplikation). Als eine mögliche Erklärung dient das Modell vom antioxidativen Reservoir des Körpers, welches das oxidative Potenzial und damit die direkte Toxizität neutralisiert.

Mutagene/kanzerogene Effekte

Ozon kann *in vitro* Chromosomenbrüche verursachen [BOREK 1988, BRINKMANN UND LAMBERTS 1958] und scheint ein schwaches bakterizides Mutagen zu sein. In besonders belasteten Berufsgruppen, wie bei Schutzwasserschweißern, wurden bösartige Neubildungen jedoch nicht gehäuft beobachtet. Auch epidemiologische Studien bei besonders belasteten Berufsgruppen ergaben keine Hinweise auf eine erhöhte Tumorraten [LIPPMANN 1989, UMWELTBUNDESAMT BERICHT 3/90].

In einer Studie zur Teratogenität von Ozon [METKA ET AL. 1988] wurden 60 trächtige Ratten in drei Gruppen eingeteilt: Gruppe I erhielt während der gesamten Tragzeit von durchschnittlich 22 Tagen täglich 2 ml eines

Sauerstoff-Ozongases mit der extrem hohen O₃-Konzentration von 75 µg/cm³ tief intramuskulär in den hinteren Wadenmuskel. Bei Gruppe II wurde die gleiche Injektion vom 10. bis zum 22. Tag der Gestation appliziert. Gruppe III erhielt 2 ml Sauerstoff in den hinteren Wadenmuskel während der gesamten Tragzeit. Teratogene Effekte traten nicht auf, bei den Muttertieren und ihren Nachkommen fand sich keine erhöhte Tumorrates.

1.6 Unerwünschte Wirkungen und Zwischenfälle bei der therapeutischen Ozonanwendung

Die intraarterielle Ozonanwendung ist wegen der erhöhten Embolierate seit 1990 obsolet [BOCCI 1996]. Bis 1986 waren beim Menschen 14 schwere Zwischenfälle nach intravenöser und intraarterieller Applikation des Gases bekannt, sieben davon mit tödlichem Ausgang [EISENMENGER 1986; HESS ÄRZTEBL 6/1985; OEPEN ET AL. 1983; SCHMITT 1982].

Mehrfach bekannt wurden Hepatitis-C-Infektionen nach Ozon-Eigenblutbehandlungen [DASCHNER 1989, OEPEN UND NEIDEL 1996, SLENCZKA 1990 & 1991], die auf mangelnde Hygienemaßnahmen zurückzuführen waren.

Von WOLFSTÄDTER [1994] werden folgende gelegentliche unerwünschte Wirkungen der Ozontherapie aufgelistet (Tab. 8).

Tabelle 8: Unerwünschte Wirkungen verschiedener Applikationsmodi von Ozon modifiziert nach Wolfstädter [1994]:

Applikationsart	unerwünschte Wirkung
GEBO	Müdigkeit, die bis zu einigen Stunden anhalten kann; Venenreizungen bei Re-Infusion des Eigenblutes; hypotensive Reaktionen mit Kopfschmerzen, Übelkeit, Hypoglykämie (sehr selten) allergische Reaktionen bis hin zum anaphylaktischen Schock (sehr selten) [JACOBS 1982]
KEBO	Schmerzen bei der Injektion durch fehlerhafte, meist zu schnelle Injektion
lokale Begasung	ekzematöse Hauterscheinungen
GEBO, KEBO	tetanoide Reaktionen auf Natriumzitrat (Antikoagulans)

Eine schriftliche Befragung aller im Jahre 1980 bekannten in Deutschland (nur alte Bundesländer) als Ozontherapeuten tätigen Ärzte und Heilpraktiker ergab bei den verschiedenen Arten der Therapie mit Ozon folgende Auswirkungen von Zwischenfällen (Tab.8, aus DEHMLOW & JUNGSMANN 2000):

Fehlerhafte Technik bei der therapeutischen Ozonanwendung:

Von den 336 registrierten Zwischenfällen bei 5.579.238 Ozonanwendungen an 384.775 Patienten sind 190 (56,5%) eindeutig auf fehlerhafte Techniken zurückzuführen. Bei der GEBO wurden insgesamt 113 (33,6%) der Zwischenfälle registriert.

Die für die GEBO relevanten technischen Fehler waren:

- Infusion von Luft (z. B. fehlerhafte Entlüftung des Infusionsbesteckes)
- zu schnelle Infusion
- zu hohe Ozonkonzentration
- fehlerhafte Dosierung des Gerinnungshemmers (z. B. Natriumzitrat, Heparin)
- mangelhafte Sterilisation oder Desinfektionsmittelreste

Studien über Zwischenfälle bei der GEBO finden sich in der Literatur nicht. Aus der Studie von DEHMLOW & JUNGMANN [2000] können folgende aufgeführten unerwünschten Wirkungen für die GEBO genannt werden:

Hypokalzämische Reaktionen, retrosternaler Druckschmerz, Dyspnoe, Angina-pectoris-Anfall, Kreislaufdepression, Hustenreiz, Kreislaufaktivierung/Flushsyndrom, Sehstörung, Miktionsstörung, Exitus letalis, allgemein ungünstige Reaktionen wie Schüttelfrost, Fieber, Übelkeit, Schwindel, Kopfschmerzen, Schlafstörungen, motorische Unruhe, Hämatom, Thrombophlebitis, Unterbauchschmerzen, Hepatitis.

Zu einer Kasuistik wird berichtet [MARCINETTI & LA MONACA 2000], dass eine 20jährige Frau während einer Sitzung mit einer Ozon-Autohämotherapie plötzlich das Bewusstsein verloren hatte. Reanimationsmaßnahmen waren erfolglos geblieben. Eine Röntgenaufnahme des Thorax 24 h post mortem zeigte Gas in beiden Herzkammern und den großen Gefäßen. Bei der Autopsie ergab sich als Todesursache eine paradoxe Luftembolie infolge eines offenen Foramen ovale.

Die nachträgliche Untersuchung des Falls erbrachte zwar nicht die für eine abschließende Beurteilung erforderliche Information über das applizierte Gasvolumen oder die Fließgeschwindigkeit des retransfundierten Blutes, jedoch wurde die Anwendung medizinischen Ozons bei diesem Zwischenfall als inkorrekt gewertet.

Technische Empfehlungen für die Autohämotherapie finden sich z. B. in „Therapy guidelines der Italian Scientific Association for Oxygen-Ozone“ [MARCINETTI & LA MONACA 2000].

1.7 Chronisches Müdigkeitssyndrom

Das chronische Müdigkeitssyndrom (chronic fatigue syndrome, CFS) ist durch eine meist akut beginnende, über mehr als sechs Monate anhaltende, ausgeprägte Schwächeperiode gekennzeichnet, die sich durch Erholungsphasen nicht bessern lässt und den Betroffenen in seinen Aktivitäten deutlich limitiert [STOUTEN 2005, KOMAROFF ET AL. 1996; BUCHWALD ET AL. 1996]. Nach Anstrengung treten zusätzlich unspezifische Symptome wie Konzentrations- und Gedächtnisstörungen, Halsschmerzen, empfindliche Hals- und Achsellymphknoten, Myalgien, Arthralgien, Kopfschmerzen, Schlafstörungen Nachtschweiß, Sensibilitätsstörungen und Krankheitsgefühl auf. Personen im mittleren Lebensalter sind bevorzugt betroffen.

Auf Konsensuskonferenzen wurden international einheitliche Diagnosekriterien entwickelt und 1994 von der „International Chronic Fatigue Syndrome Study Group“ veröffentlicht [FUKUDA ET AL. 1994].

Tabelle 9: Die Diagnosekriterien des CSF (nach FUKUDA ET AL. 1994)

Hauptkriterien

- persistierende Müdigkeit oder leichte Ermüdbarkeit
- mindestens 6 Monate andauernd
- neu aufgetreten
- nicht durch andere Erkrankung erklärbar
- nicht Folge einer chronischen Belastungssituation
- durch Bettruhe nicht zu beheben
- deutliche Reduktion der Leistungsfähigkeit

Nebenkriterien (mindestens 4)

- Halsschmerzen
- schmerzhafte zervikale oder axilläre Lymphknoten
- Muskelschmerzen
- Arthralgien
- neu aufgetretene Kopfschmerzen
- Konzentrations- und Gedächtnisstörungen
- fehlende Erholung durch den Schlaf
- verlängerte, mehr als 24 h dauernde Müdigkeit nach früher tolerierten Beanspruchungen

Analog zu diesen Diagnosekriterien wurde als Ausschlusskriterium festgelegt, dass das CFS durch keine andere Erkrankung erklärbar sein dürfe. Dies gilt sowohl für organische als auch für psychische Störungen, die mit dem CFS einhergehen können. Erfüllt z. B. der Patient die klinischen Kriterien einer Depression, soll die CSF-Diagnose nicht gestellt werden [CSEF 2001]. Entsprechendes gilt auch für die in Tabelle 10 genannten internistischen Erkrankungen.

Tabelle 10: somatische Differenzialdiagnosen der chronischen Müdigkeit (aus CSEF 2001)

- maligne Tumoren
- hämatologische Grunderkrankungen
- Autoimmunerkrankungen
- lokalisierte und systemische Infektionen
- endokrine Erkrankungen
- Vitaminmangelsyndrom oder Mangel an Spurenelementen
- Schlaf-Apnoe-Syndrom
- schweres Übergewicht
- Intoxikationen
- Nebenwirkungen von sedierenden Medikamenten

Medizinhistorisch geht das CMS auf die epidemische Neuromyasthenie zurück, die 1957 und 1959 im „New England Journal of Medicine“ zitiert wurde. In den folgenden zwei Jahrzehnten wurde als Ursache eine protrahierte Infektion mit dem 1964 entdeckten Epstein-Barr-Virus angenommen [Csef 2001]. Später wurden ätiologisch auch das menschliche Herpesvirus Typ 6 (HHV 6) und die klinisch inapparente Borrelieninfektion diskutiert [TREIB ET AL. 2000]. Rheumatologen vermuten einen Zusammenhang zwischen CSF und Fibromyalgie. Möglich sind auch diätetische Faktoren wie Mangel an B-Vitaminen, Vitamin C, Magnesium, Natrium, Zink, L-Tryptophan, L-Carnitin, Coenzym Q10 [WERBACH 2000]. Als Beispiel der Dysregulation verschiedener Hormonachsen beim CSF sei der Hypokortisolismus genannt (zitiert in CSEF 2001). Wegen der häufigen Assoziation mit depressiven Symptomen kommt auch ein primär psychiatrisches Geschehen ursächlich in Betracht. Die „International Classification of Diseases“ (ICD 10) führt in ihrer aktuellen Fassung unter der Ziffer F48.0 für Neurasthenie explizit das Erschöpfungssyndrom auf. In der Umweltmedizin wird CSF auf exogene Ursachen wie Umweltgifte zurückgeführt. Dabei wird ein enger Zusammenhang zwischen CFS und MCS (multiple chemische Sensitivität) hergestellt [AARON 2000, CSEF 1999].

Die häufigsten psychischen Störungen, die mit dem Symptom „chronische Müdigkeit“ diagnostiziert werden, sind Depressionen, somatoforme Störungen, Angststörungen und Neurasthenie [CSEF 1999, FRIEDBERG & JANSEN 1998, FRIEDBERG ET AL. 2000]. Chronische Müdigkeit kann auch die Folge eines Lebensstils sein, in dem kräftezehrende Elemente überwiegen und Erholung, Regeneration und Entspannung zu kurz kommen. Charakteristisch für die westlichen Zivilisationsländer scheinen dabei erhöhter Konsum von Alkohol, Zigaretten und Genussmitteln ebenso wie einseitige Ernährung, Übergewicht, Schlaf- und Bewegungsmangel und viele Formen von Stress zu sein [CSEF 2001]. Bei Verdacht auf CFS ist eine Stufendiagnostik auch aus gesundheitsökonomischen Gründen sinnvoll.

Das Bundesministerium für Gesundheit hat 1991 durch eine Arbeitsgruppe Vorschläge zur Diagnostik und Klassifikation des CFS unter besonderer Berücksichtigung von klinischer Relevanz und Kosten-Nutzen-Verhältnis erarbeiten lassen [FOCK & KRUEGER 1994; Tabelle 11].

Tabelle 11: diagnostisches Procedere bei Verdacht auf CFS:

1.) Basisdiagnostik

- Anamnese
- körperliche Untersuchung

2.) weiterführende Untersuchungen

- klinische Chemie: BSG, Elektrophorese, Leberwerte, Blutzucker, Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat, Eisen, Magnesium, Selen, Ferritin, Harnstoff, Kreatin
- Hämatologie: Differenzialblutbild
- Immunologie: Multitest Merieux, Immunglobuline, CRP, Autoantikörper
- Endokrinologie: D3, TSH
- Serologie: relevante Virustiter

3.) Zusatzuntersuchungen nur nach gezielter Indikation, z. B.

- rheumatologische Diagnostik bei Arthralgien
- neuromuskuläre Diagnostik bei Myalgien

Die Therapie ist bislang nur symptomatisch und besteht in einer allgemeinen Unterstützung des Immunsystems, vitamin- und mineralstoffhaltigen Ernährungszusätzen, einer Stressvermeidung und Schaffung von Erholungsphasen. Zudem können bei der hohen Prävalenz psychischer Störungen eine psychosomatische Betreuung, therapeutische Gespräche und Entspannungsübungen (wie z. B. autogenes Training) von Nutzen sein.

1.8 GEBO bei Patienten mit chronischem Müdigkeitssyndrom

Unter den Ozonanwendern verbreitet ist die Therapie hypoxämischer Zustände älterer Patienten [STEFFEN 1977]. Es wird u. a. berichtet über Besserung des Hör- und Sehvermögens sowie der Merkfähigkeit und über das Verschwinden von Schlaflosigkeit, Nervosität und depressiver Verstimmung [PAVLACOVIC 1975]. Die allgemein roborierende Wirkung der Ozontherapie in der Geriatrie wird verschiedentlich mit einem Anstieg der arteriovenösen Sauerstoffdifferenz bzw. einer Erhöhung der kapillären O_2 -Konzentration erklärt [WOLFF 1979(A); ROKITANSKI 1984; BALTIN 1983], ohne dass dies bisher objektiv belegt werden könnte. Die genannten Beobachtungen, insbesondere der Eindruck einer Steigerung der Leistungsfähigkeit älterer Patienten durch die GEBO können prinzipiell auch aus eigenen Erfahrungen bestätigt werden. Um den Einfluss der GEBO auf die kapilläre Durchblutung messen zu können, erschien uns nach einem Vergleich der verschiedenen Verfahren zur Messung der intrakapillären Oxygenierung, des O_2 -Gehaltes und der Hämoglobinkonzentration die Messung mit dem Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer (EMPHO, ausführliche Darstellung Kap. 3.7, S. 66) am ehesten geeignet. Das Verfahren der EMPHO-Messung wird im Folgenden kurz dargestellt und anschließend mit der Makro-Lichtleiter-Spektrophotometrie und der transkutanen Oximetrie verglichen.

1.9 EMPHO-Messung im Rahmen der GEBO, Messprinzip und Vergleich mit anderen Messsystemen

Das Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer (EMPHO) ist vom Prinzip her ein Computer-Colorimeter [FRANK ET AL. 1991]. Es wurde entwickelt, um über die Messung der intrakapillären Hämoglobinoxigenierung (HbO_2) [FRANK ET AL. 1990] ein engmaschiges klinisches Monitoring lokaler vaskulärer Regulationsmechanismen zu ermöglichen. Die physiologische Basis der EMPHO-Messungen ist das kapilläre Netz, durch welches das Organgewebe, im vorliegenden Fall die Haut, mit Sauerstoff versorgt wird. Dieses Netz lässt sich in interaktive Einheiten mit je einer terminalen Arteriole und ihren Kapillaren unterteilen. Während die kapilläre Perfusion innerhalb einer Einheit relativ homogen ist, kann sie sich in benachbarten Einheiten deutlich unterscheiden [PIPER & MAYER 1984]. Zudem konnten morphologisch anhand von Untersuchungen an der Skelettmuskulatur zwei Arten von Kapillaren unterschieden werden: so genannte low-flow- und so genannte high-flow-Kapillaren [HARRISON ET AL. 1988]. Die low-flow-Kapillaren sind länger, haben einen geringeren Durchmesser und dienen in erster Linie der Versorgung des Gewebes mit Nährstoffen, die kürzeren, weiteren high-flow-Kapillaren dienen der Sauerstoffversorgung [HARRISON ET AL. 1989].

Das venöse Ende von low-flow-Kapillaren zeigt gegenüber einer reduzierten O_2 -Versorgung die größte Empfindlichkeit und wird daher auch als „early warning unit“ bezeichnet [KESSLER & HÖPER 1992].

Darüber hinaus lassen sich im Versorgungsgebiet einer Kapillare zwei pO_2 -Gradienten aufspannen:

- 1.) entlang dem Verlauf der Kapillare, in dem der pO_2 abhängig vom O_2 -Verbrauch im versorgten Gewebe sinkt,
- 2.) radiär von der Kapillare ins Gewebe.

Es besteht eine direkte Korrelation zwischen dem pO_2 -Gradienten entlang einer Kapillare und der entsprechenden Hämoglobinsättigung (Hämoglobin-Dissoziationskurve) [Modell nach Krogh, KROGH 1919(A, B)].

Die routinemäßig erhobenen Messgrößen zur Erfassung kardiovaskulärer Funktionen (z. B. mittlerer arterieller Blutdruck, arterielle O_2 -Sättigung) zeigen lediglich globale Veränderungen an, zumeist erst, wenn die lokalen Regulationsmöglichkeiten bereits ausgeschöpft sind [ZÜNDORFF 1992]. Durch das EMPHO lässt sich dagegen eine Zentralisation bereits in einem frühen Stadium an Veränderungen der Hautdurchblutung erfassen, d.h. bevor größere Organsysteme (Darm, Leber, Nieren) betroffen sind [KUCHENREUTHER ET AL. 1996; HÖPER ET AL. 1992].

Beim Makro-Lichtleiter-Spektrophotometer (z. B. PHOTAL MCPD-1000 SYSTEM/OTSUKA ELEKTRONICS, OSAKA, JAPAN) wird Licht einer 150-Watt-Quarz-Halogenlampe über 18 Quarzfasern (innerer Durchmesser jeweils $200\ \mu\text{m}$, Querschnittsfläche $6,14 \times 10^5\ \mu\text{m}^2$) im Gewebe reflektiert und über 12 weitere Quarzfasern (Querschnittsfläche $4,1 \times 10^5\ \mu\text{m}^2$) einem Spektralanalysesystem zugeführt. Die transmittierenden und empfangenden Fasern sind in dem Faserbündel zufällig verteilt. Ihre gesamte Querschnittsfläche beträgt mit $1,0 \times 10^6\ \mu\text{m}^2$ das Dreizehnfache des EMPHO-Lichtleiterquerschnittes. Somit werden im zu messenden Gewebavolumen auch Arteriolen und Venulen erfasst, die Sensitivität dieses Systems ist damit gegenüber dem EMPHO-System deutlich geringer [FRANK ET AL. 1989; HANNA ET AL. 1995].

Die transkutane Oximetrie (z. B. TCM3, RADIOMETER, COPENHAGEN, DÄNEMARK) erfordert ein Anwärmen der Messregion. Die dadurch bedingte lokale Vasodilatation führt zu systematischen Abweichungen der zu bestimmenden Messgröße. Als weiterer Nachteil gilt die zeitintensive Stabilisierungsphase der Temperatur. Dem gegenüber ist die EMPHO nicht invasiv, erfasst lediglich das kapilläre Netz, erfordert keine Erwärmung der Messregion, ermöglicht Messungen in zeitlich sehr geringem Abstand ($< 1\ \text{s}$) über – je nach Speicherkapazität – mindestens 15 min, wobei größere Veränderungen auch online sofort zu erkennen sind.

2 Fragestellung

Unter den vielen unterschiedlichen Applikationsarten des Ozons im medizinischen Bereich ist die Autohämotherapie in Form der so genannten Großen Eigenblutbehandlung (GEBO) immer mehr in den Vordergrund gerückt. In den letzten Jahren wurden einige wissenschaftliche Untersuchungen durchgeführt, in denen pharmakologische, biochemische und immunmodulatorische Effekte einer Ozonwirkung vorwiegend *in vitro* im Mittelpunkt standen, und die auch zu neuen Erkenntnissen über den Wirkmechanismus medizinisch angewendeten Ozons führten. Dennoch steht einer breiten empirischen Anwendung nach wie vor nur eine sehr geringe Anzahl zumeist älterer klinischer Studien gegenüber, in denen klinisch relevante Effekte dokumentiert werden konnten, die aber in der Regel weder kontrolliert noch randomisiert durchgeführt wurden.

Die Ziele der vorliegenden kontrollierten, randomisierten, doppelblinden Cross-over-Studie waren:

1. Die Prüfung des Einflusses der GEBO auf die allgemeine Befindlichkeit und das Ausmaß körperlicher Beschwerden bei Patienten, die über chronische Müdigkeit ohne erfassbares organisches Korrelat klagen. Die GEBO wird hierfür von Ozontherapeuten häufig eingesetzt.

Zum Nachweis eines möglichen Therapieeffektes der GEBO im Vergleich zu einer Therapie mit reinem Sauerstoff (Kontrolle: GEBS) wurden zu Beginn und am Ende von jedem Therapiezyklus standardisierte psychische Testverfahren durchgeführt und klinische Standardlaborparameter erfasst. Als Hauptzielkriterium wurde der Verlauf der Befindlichkeitskala (nach VON ZERSEN) definiert.

2. Die Prüfung von Nachweisbarkeit und Nachhaltigkeit *in vivo* von einem der postulierten Wirkmechanismen der GEBO, der vermehrten Freisetzung von O₂ aus Hämoglobin und damit einem erhöhten Sauerstoffangebot als Voraussetzung für die Stimulation immunologischer Mechanismen [Bocci 1992]. Dazu wurden die intrakapilläre Hämoglobinoxigenierung, die intrakapilläre relative Hämoglobinkonzentration und der intrakapilläre O₂-Gehalt der Haut spektrophotometrisch (EMPHO II) während einer GEBO bzw. GEBS direkt und nicht-invasiv gemessen bzw. errechnet.

3 Patienten, Methoden und Dokumentation

3.1 Patienten, Basisdaten

Die doppelblinde, randomisierte, kontrollierte Cross-over-Studie wurde mit Zustimmung der Ethikkommission der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn und gemäß den Prinzipien der Deklaration von Helsinki (1964, revidiert 1983) durchgeführt. In die Studie wurden 11 Patienten zwischen 37 und 68 Jahren (mittleres Alter $58,2 \pm 8,5$ Jahre) aufgenommen, die sich in der Medizinischen Poliklinik Bonn in den Jahren 1996 und 1997 wegen chronischem Müdigkeitssyndrom in ambulanter Behandlung befanden. Einer der Patienten brach aus privaten Gründen nach Abschluss des ersten Therapiezyklus (mit reinem Sauerstoff) ab, bei 10 Patienten konnten beide Zyklen abgeschlossen werden. Die Behandlung mit reinem Sauerstoff wird im Weiteren als Placebothherapie bezeichnet. Die Patienten erklärten schriftlich ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie nach Aufklärung über Zweck, Ablauf und eventuelle unerwünschte Wirkungen (siehe auch 1.6, S. 41). Die Ethikkommission der Universität Bonn wurde über die geplante Studie in Kenntnis gesetzt.

Basisdaten der Patienten:

- Anzahl: 11 (4 weiblich, 7 männlich)
- Alter in Jahren im Mittel (\pm Stabw.) $55,2 \pm 9,5$
- max: 68,1
- min: 33,2

Der mittlere Body Mass Index betrug $22,92 \pm 2,15 \text{ kg/m}^2$, wobei der Normbereich von $20\text{-}25 \text{ kg/m}^2$ von jeweils einem Patienten knapp überschritten ($25,46 \text{ kg/m}^2$) bzw. unterschritten wurde ($18,72 \text{ kg/m}^2$).

Bei allen Patienten lag nach Ausschluss einer organischen oder psychischen Grundlage für die entsprechenden Beschwerden ein chronisches Müdigkeitssyndrom vor. Die Patienten klagten in der Anamnese über folgende Symptome:

- 1.) neu aufgetretene persistierende oder leichte Ermüdbarkeit, welche seit mehr als 6 Monaten bestand und die durchschnittliche tägliche Leistungsfähigkeit deutlich einschränkte; nicht ausreichende Erholung durch Bettruhe mit erneuter Müdigkeit lange vor der nächsten Bettruhe; Müdigkeit nicht durch andere Erkrankung erklärbar;
- 2.) Konzentrations- und Gedächtnisstörungen, Halsschmerzen, schmerzhaft zervikale oder axilläre Lymphknoten, Muskelschmerzen, Arthralgien, neu aufgetretene Kopfschmerzen;

Einschlusskriterien

- Alter zwischen 18 und 68 Jahren
- normales Blutbild (Standardlaborparameter s.u.)
- Möglichkeit einer längeren ambulanten Therapie
- Vorliegen chronischer Müdigkeit seit mindestens 6 Monaten (siehe auch S. 43)
- Mitteleuropäer, helle Hautfarbe

Ausschlusskriterien

- organische oder psychische Erkrankungen, die eine chronische Müdigkeit verursachen: maligne Tumoren, hämatologische Grunderkrankungen, Autoimmunerkrankungen, lokalisierte oder systemische Infektionen, endokrine Erkrankungen einschließlich eines unzureichend eingestellten Diabetes mellitus, Vitaminmangelsyndrom oder Mangel an Spurenelementen, Schlaf-Apnoe-Syndrom, Adipositas Grad II und III, Intoxikationen, Einnahme sedierender Medikamente, Psychosen, Demenzen, neuromuskuläre Erkrankungen, Drogenabhängigkeit oder Substanzmissbrauch, psychogene Essstörungen;
- Vorliegen anderer schwerer körperlicher oder seelischer Erkrankungen
- Vorliegen pathologischer Laborbefunde s. u.
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- gegenwärtige medikamentöse Behandlung jedweder Art außer Kontrazeptiva
- Myokardinfarkt, Angina pectoris oder Apoplex in den letzten 6 Monaten
- schwer wiegende Allergien, bisherige abnorme Reaktionen auf Medikamente

Abbruchkriterien

- schwere Nebenwirkungen der Therapie
- mangelhafte Compliance (z. B. Versäumen von mehr als einem Sitzungstermin)
- schwere Erkrankung während der Therapiedauer
- Wunsch des Patienten/der Patientin
- grobe Fehler bei der Ozonanwendung (z. B. erhebliche Überdosierung des Ozons)

Definition der Auswertungspopulationen

Im Prüfplan dieser Studie wurden die folgenden beiden Auswertungspopulationen festgelegt:

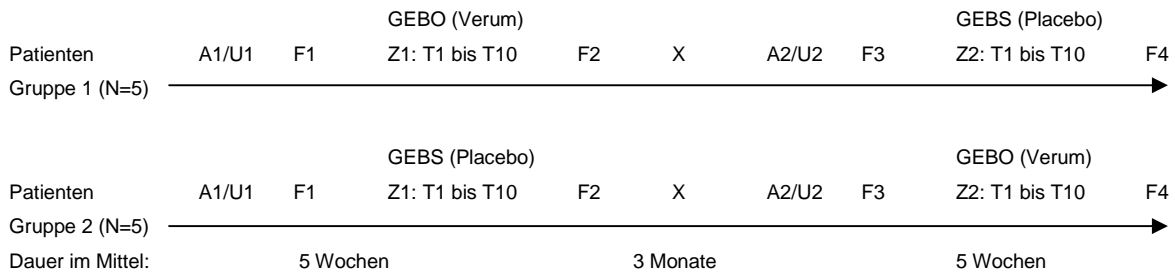
Primär: Intent-to-treat-Analyse

Sekundär: Per-Protocol-Analyse.

In der Intent-to-treat-Analyse wurden alle randomisierten Patienten ausgewertet. Nichteinhaltung der o. g. Ein- oder Ausschlusskriterien oder Auftreten eines Abbruchkriteriums, falsche Dosierung der Ozonkonzentration oder Gasmenge, falsche Therapie, inkorrekte Randomisation, mangelnde Compliance der Patienten oder Nichteinhaltung der Untersuchungszeitpunkte sowie Verlust oder Fehlen von Mess- und Erhebungswerten im Verlauf wurden protokolliert und bei der Auswertung berücksichtigt.

In der Per-Protocol-Analyse wurden die Daten aller Patienten, die die Untersuchung komplett abgeschlossen hatten, analysiert. Bei unvollständig vorliegenden Datensätzen wurde das Fehlen von Werten in den Tabellen und Diagrammen entsprechend vermerkt.

3.2 Studiendesign



A1, A2	Einschlusskriterien, Anamnese
U1, U2	körperliche Untersuchungen vor Beginn der Therapiezyklen
F1 bis F4	Fragebögen a) Befindlichkeitsskala, b) Beschwerdenliste, c) Blut- und Urinuntersuchung
Z1, Z2	Zyklus 1 und 2 mit je 10 GEBO- oder GEBS-Sitzungen
T1 bis T10	Therapiesitzungen 1 bis 10, zu Beginn jeweils Dokumentation unerwünschter Ereignisse
X	therapiefreies Intervall, Cross-over

Abb. 9: Studienablauf schematisch (Zeitachse);

Die Anamnese wurde neben allgemein-internistischen Fragen bezüglich der Ein- und Ausschlusskriterien und der aktuellen Symptomatik der Patienten auch im Hinblick auf die Diagnose „chronische Müdigkeit“ erhoben (vgl. S. 43). Die körperliche Untersuchung umfasste eine allgemein-internistische und orientierende neurologische Prüfung.

Alle Patienten waren bereits durch niedergelassene Kollegen und in verschiedenen Kliniken sorgfältig untersucht worden. Sie erfüllten die Hauptkriterien und mindestens vier Nebenkriterien für die Diagnose des CSF (Tab. 9).

Befunderhebung: Vor Beginn des jeweils 1. Therapiezyklus erfolgte eine Überprüfung der Ein- und Ausschlusskriterien sowie die Dokumentation des Patientenstatus mittels allgemeiner Daten zur Person, einer Anamneseerhebung (A1, A2) und körperlichen Untersuchung (U1, U2) und jeweils eines Blutbildes (Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Differenzialblutbild, Glucose, Kreatinin, Harnsäure, Natrium, Kalium, ASAT, ALAT, γ -GT, Triglyzeride, Gesamtcholesterin, β -Lipoprotein (LDL), Prä- β -LDL, α -Lipoprotein (HDL)) und einer Urinuntersuchung (Glucose, Eiweiß, Leukozyten, Erythrozyten) nach dem Ausfüllen der Fragebögen (F1 bis F4).

3.3 Studienmanagement

Randomisierung, Studienablauf

Die Patienten wurden nach einem Randomisierungsschlüssel, der vor der Rekrutierung von einem an der Studie beteiligten Mitarbeiter der Ambulanz mit einem PC-Programm erstellt worden war, entweder der Verum- oder der Placebogruppe zugeteilt. Jeder Therapiezyklus bestand aus je 10 ambulanten Einzelsitzungen, in der Regel zweimal wöchentlich in der Zeit zwischen 9.00 Uhr und 11.30 Uhr mit jeweils einem mindestens zweitägigen therapiefreien Intervall. Nach Ende des ersten Therapiezyklus wurde ein mindestens dreimonatiges therapiefreies Intervall eingehalten. Danach wurde entsprechend dem Cross-over der Zyklus mit der jeweils anderen Therapieform (O_2 oder O_3) begonnen.

Vor jeder ersten und zehnten Sitzung erfolgten eine körperliche Untersuchung und die Blutentnahme für die Bestimmung der oben genannten Laborparameter. Die beiden Fragebögen [VON ZERSEN 1981, vgl. auch Anhang dieser Arbeit] wurden durch den Patienten vor Untersuchungsbeginn in der Wartezeit selbstständig ausgefüllt. Bei jeder der jeweils 10 Therapiesitzungen eines Zyklus erfolgte die Große Eigenblutbehandlung mit Ozon bzw. Sauerstoff (vgl. 3.2.1). Die kapilläre Oxigenierung, die relative Hämoglobinkonzentration und der kapilläre O_2 -Gehalt wurden jeweils bei der ersten und zehnten Therapiesitzung eines Zyklus vor, während und nach Re-Infusion des extrakorporal mit Ozon oder Sauerstoff behandelten Vollblutes mit dem EMPHO II an der rechten Hand der Patienten gemessen bzw. errechnet (siehe 3.2.2).

Es sei hier angemerkt, dass bei der doppelblinden Studie für den Kontrolldurchlauf ein Mischen des Blutes der Patienten mit Raumluft oder Stickstoff nicht möglich war, da sich das Blut dann – anders als bei Ozon- oder Sauerstoffeinwirkung – nicht hellrot verfärbt hätte. Weder Patient noch Anwender wären dann „blind“ gewesen.

3.4 Technik der Großen Eigenblutbehandlung mit Ozon (GEBO)

Die große Eigenblutbehandlung mit Ozon wurde stets unter Verwendung von sterilem Einmalmaterial durchgeführt. Das dazu benötigte Ozongas wurde unmittelbar vor der Applikation mittels des Ozongenerators OZONOSAN PM 80[®], HÄNSLER GMBH, IFFEZHEIM generiert und verblieb stets in einem geschlossenen System. In der vorliegenden Studie wurde der verwendet. Der Doppelblindstatus des Behandlers und des Patienten wurde dadurch erreicht, dass ein Mitarbeiter das Ozon-Sauerstoff-Gemisch bzw. den reinen Sauerstoff entsprechend dem nur ihm bekannten Randomisierungsschlüssel dem Ozon-Generator mit Hilfe einer ozonresistenten 50-ml-Einmalspritze ausserhalb des Behandlungsraums entnahm. Nach Kanülierung der linken Kubitalvene des Patienten flossen 100 ml Vollblut über ein Transfusionsbesteck in eine spezielle, evakuierte Glasflasche [HÄNSELER GMBH], welche zuvor mit 10 ml pyrogen- und konservierungstofffreiem Natriumcitrat versetzt worden war. Anschließend erfolgte unverzüglich die Zugabe der 50 ml des frisch zubereiteten Sauerstoff-Ozon-Gemisches in einer Konzentration von $40 \mu\text{g } O_3/\text{ml}$ bzw. von 50 ml reinen Sauerstoffs (Placebo) mit Hilfe der 50-ml-Einmalspritze über ein Mikro-Perl-System [VIEBAHN-HÄNSLER 1992; VIEBAHN & BUSCH 1989] im Gummi-

pfropfen der Vakuumflasche. Behutsames Schwenken der Glasflasche für 30s und das Mikro-Perl-System gewährleisteten eine fein dosierte Ozon-Sauerstoffzufuhr bzw. Sauerstoffzufuhr unter Vermeidung dicker Gasblasen. Hierdurch ergab sich eine gleichmäßige Verteilung und eine große Kontaktfläche zwischen dem Gasgemisch und den Blutbestandteilen. Der verbliebene Sauerstoff sammelte sich in der Gasphase oberhalb des Blutes.

Durch Abziehen der entleerten 50-ml-Einmalspritze von der im Latexstopfen steckenden Kanüle wurde dann das Einströmen von Raumluft in die Flasche ermöglicht und der Druckgradient für die Re-Infusion ausgeglichen. Schließlich wurde das ozonisierte bzw. mit reinem Sauerstoff versetzte Blut mit einer Geschwindigkeit von 60 bis 90 Tropfen pro Minute unter Nutzung des hydrostatischen Drucks re-infundiert.

Tabelle 12: Verwendete Materialien und Geräte

Gerät/Material	Hersteller
• Vakuumflasche Ozonosan 250 ml	HÄNSLER GMBH, Iffezheim
• Übertragungsbesteck (z. B. Sangofix N)	HÄNSLER GMBH, Iffezheim
• Venüle für Blutentnahme	BRAUN Melsungen
• Natriumcitrat (3,13%), pyrogen- und konservierungsstofffrei	FRESENIUS AG Oberursel, 61343 Bad Homburg
• Ultra-Asept-Spritze 50 ml	BRAUN Melsungen
• Ozongenerator Ozonosan PM 80	HÄNSLER GMBH, Iffezheim
• EMPHO II Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer incl. MS-Windows™- Software	BODENSEEWERK GERÄTECHNIK GMBH, 88641 Überlingen
• Sauerstoff Gasflasche	LINDE AG, Werksgruppe Technische Gase, 12167 Berlin

3.5 EMPHO-Messung im Rahmen der GEBO

1.) 16-Punkte-Messung (Prinzip der EMPHO-Messung siehe Kapitel 3.7, S. 66) und Vorbereitung der kontinuierlichen Messung an einem Messpunkt:

Nach mindestens 30 min Aufenthalt des Patienten im Untersuchungsraum (22°C) wurde der Eichvorgang durchgeführt und anschließend das in eine Metallhülse gefasste freie Ende des EMPHO-Lichtleiters ohne Druck auf mindestens 16 Punkte des rechten Handrückens des entspannt auf dem Rücken liegenden Patienten aufgesetzt. Die Punkte befanden sich sämtlich in der nächsten Umgebung der Region 1 cm proximal der höchsten Erhebung, die bei Anlegen des Daumens an den Zeigefinger gebildet wird.

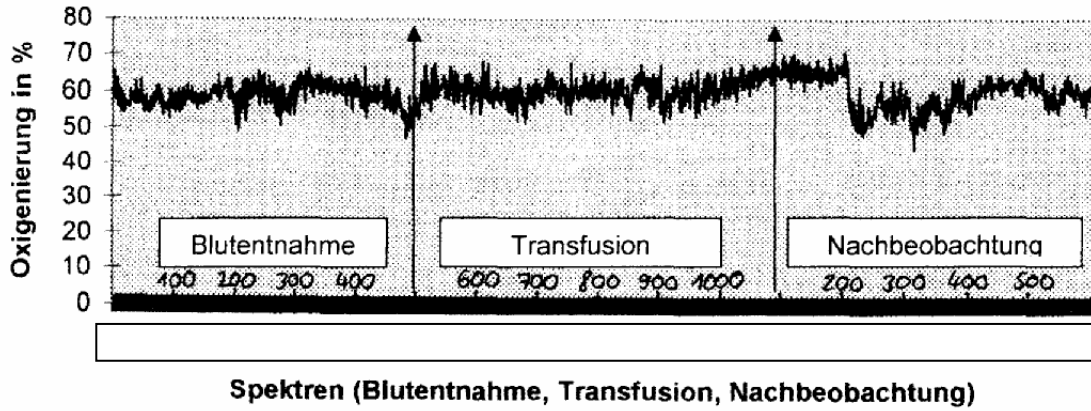
Das erfasste Spektrum musste zweigipflig sein (vgl. Abb. 13), die Erfassungszeit betrug je Messpunkt 25 Sekunden (entsprechend 50 Einzelmessungen). Bei starker Veränderung des Spektrums während der

Messung, z. B. durch leichte Bewegung des Lichtleiters, wurde dieser Messpunkt verworfen und stattdessen ein weiterer Messpunkt aufgesucht und dessen Spektrum in die Endauswertung einbezogen.

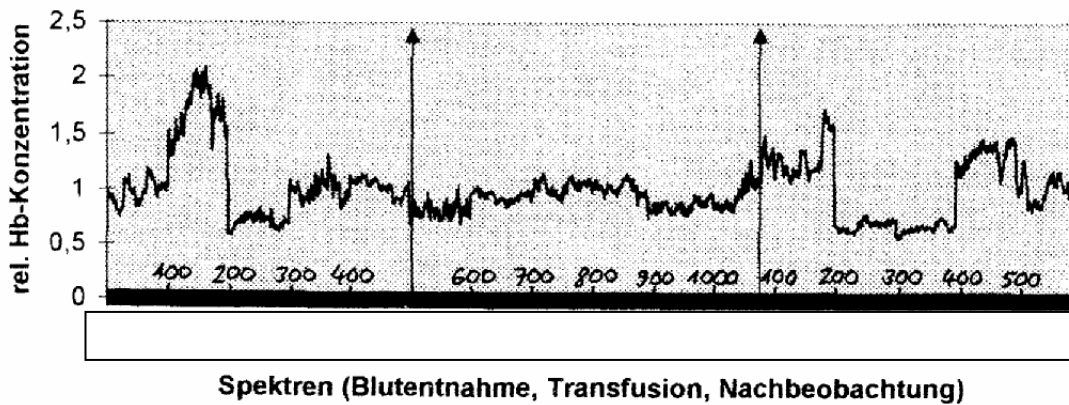
Nach der 15-Punkte-Messung wurde die kontinuierliche Messung an einem Messpunkt vorbereitet. Hierfür wurde mittels eines durchbohrten Kugeltupfers, der mit Heftpflaster auf der Haut befestigt wurde, der Lichtleiter in der schon beschriebenen Region der rechten Hand ohne Druck fixiert. Es wurden doppelgipfelige Spektren erfasst, wobei angestrebt wurde, dass die Höhe beider Gipfel übereinstimmte. Während der weiteren Vorbereitung wurde das Spektrum kontinuierlich beobachtet und bei mangelhafter Stabilität der Messpunkt neu festgelegt. Eine neue Eichung des EMPHO wurde nicht durchgeführt. Der Patient durfte sich nach Fixierung des Lichtleiters bis zum Ende der Nachbeobachtung nicht bewegen.

Auf der folgenden Seite sind exemplarisch die intrakapilläre Oxygenierung, die relative Hämoglobinkonzentration und der intrakapilläre Sauerstoffgehalt bei einer 16-Punkte-Messung in Diagrammen dargestellt:

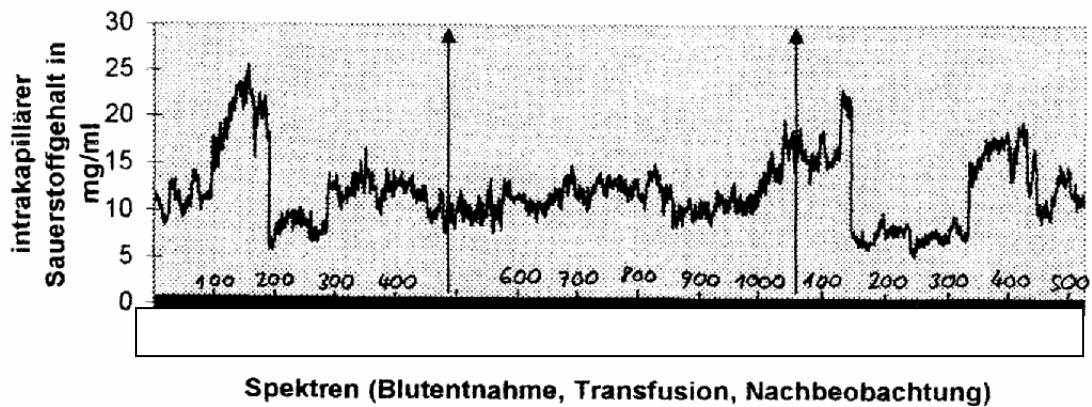
Ozonstudie '97 - intrakapilläre Oxigenierung während
GEBO-Sitzung - D.W./05.08.96



Ozonstudie '97 - relative Hämoglobinkonzentration
während GEBO-Sitzung - D.W./05.08.96



Ozonstudie '97 - intrakapillärer Sauerstoffgehalt während
GEBO-Sitzung - D.W./05.08.96



2.) Messung während der GEBO

Der in entspannter Rückenlage befindliche Patient wurde (wie oben beschrieben) auf die GEBO vorbereitet: Die Punktion der Kubitalvene zur GEBO erfolgte stets am linken Arm. Es wurden die drei folgenden Phasen online mit dem EMPHO gemessen:

a) Blutentnahmephase:

Phase vom Zeitpunkt des Öffnens der Rollklemme am Transfusionsbesteck bis zu dem Punkt, in dem sich 100 ml Blut in der Vakuumflasche befanden; Nach der jeweils 500sten Einzelmessung wurde der Messvorgang unterbrochen.

b) Transfusionsphase:

Phase vom Zeitpunkt des erneuten Öffnens der Rollklemme bis zum Abschluss des Entleerungsvorgangs der Vakuumflasche: Re-Infusion des Blutes;

c) Nachbeobachtungszeit:

Sie betrug jeweils etwa 900 Einzelmessungen im Mittel und schloss sich unmittelbar an die Transfusionsphase an.

Während der Blutentnahmephase, von der jeweils genau 500 Spektren dokumentiert wurden, wurde die Rollklemme des Transfusionsbestecks geöffnet, bis sich die Vakuumflasche mit ca. 100 ml Blut gefüllt hatte. Die zweite Phase der online-Erfassung von Spektren, Transfusionsphase genannt, dauerte je nach der Zeit, die für die Re-Infusion des ozonisierten Blutes benötigt wurde, unterschiedlich lang. Nach dem Verschließen der Verweilkanüle wurden am weiterhin entspannt liegenden Patienten im Rahmen der dritten online-Phase, der Nachbeobachtung, noch weitere ca. 900 Einzelmessungen (entsprechend einer Dauer von ca. 450 s) abgeleitet. Da bislang keine Untersuchungen dieser Art vorliegen, wurde die Dauer der der Nachbeobachtungsphase willkürlich festgelegt.

Online-Erfassung

online-Phase	Anzahl der Einzelmessungen (Mittelwerte $\bar{x} \pm SD$; n = 10)	Dauer (in s)
Blumentnahme	500 (± 0)	250
Transfusion	558 (± 112)	229
Nachbeobachtung	940 (± 134)	470

Tabelle 13a; Mittelwerte der Anzahl der Einzelmessungen und Standardabweichungen
(jeweils 10 Patienten), Sitzung 1:

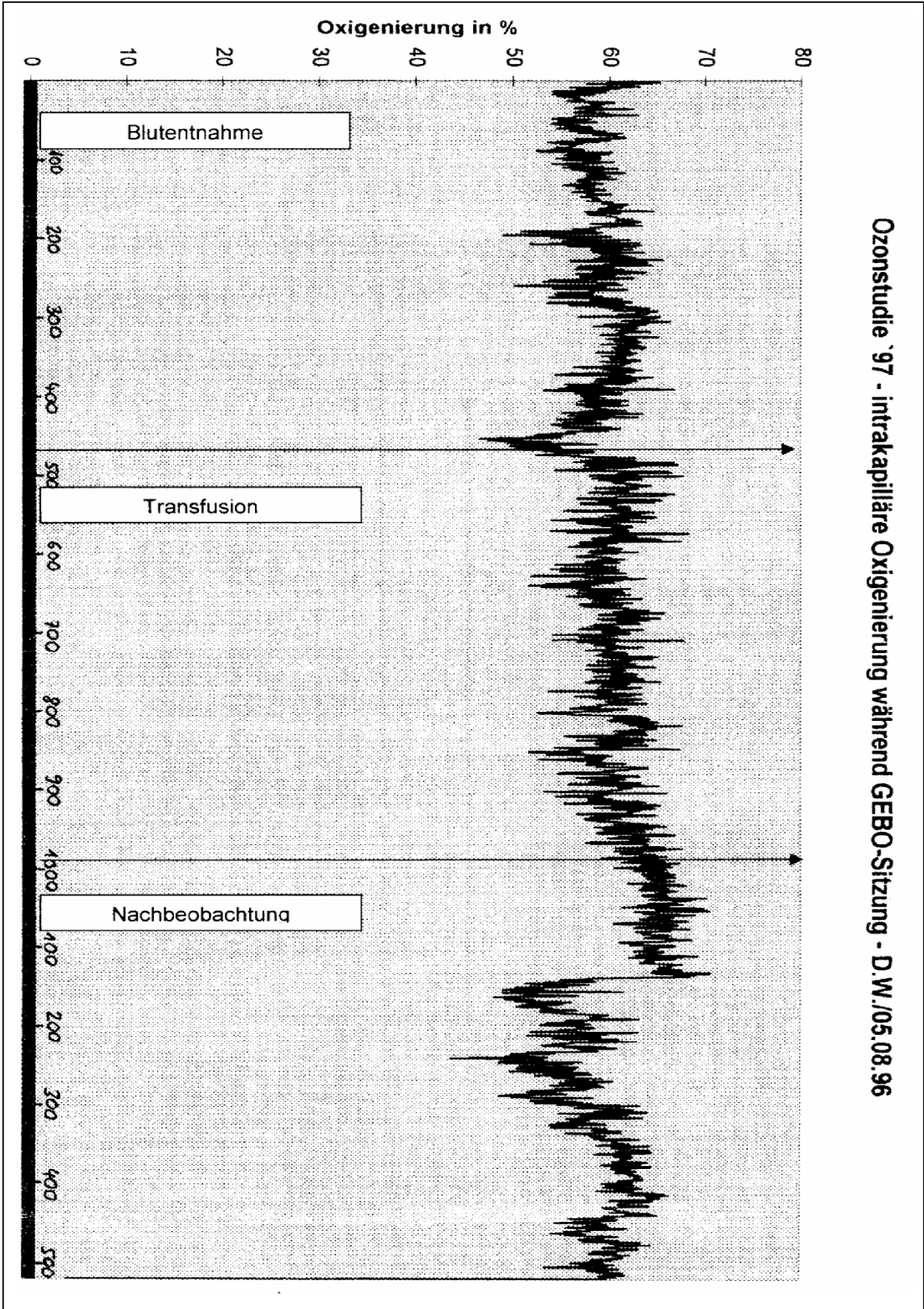
Phase	V e r u m (GEBO)			P l a c e b o (GEBS)		
	Blutentnahme	Transfusion	Nachbeob- achtung	Blutentnahme	Transfusion	Nachbeob- achtung
Mittelwert	500,0	446,2	905,8	500,0	528,9	944,4
Standardabw.	0,0	± 54,6	± 260,5	0,0	± 148,3	± 157,1

Tabelle 13b; Mittelwerte der Anzahl der Einzelmessungen und Standardabweichungen
(jeweils 10 Patienten), Sitzung 10:

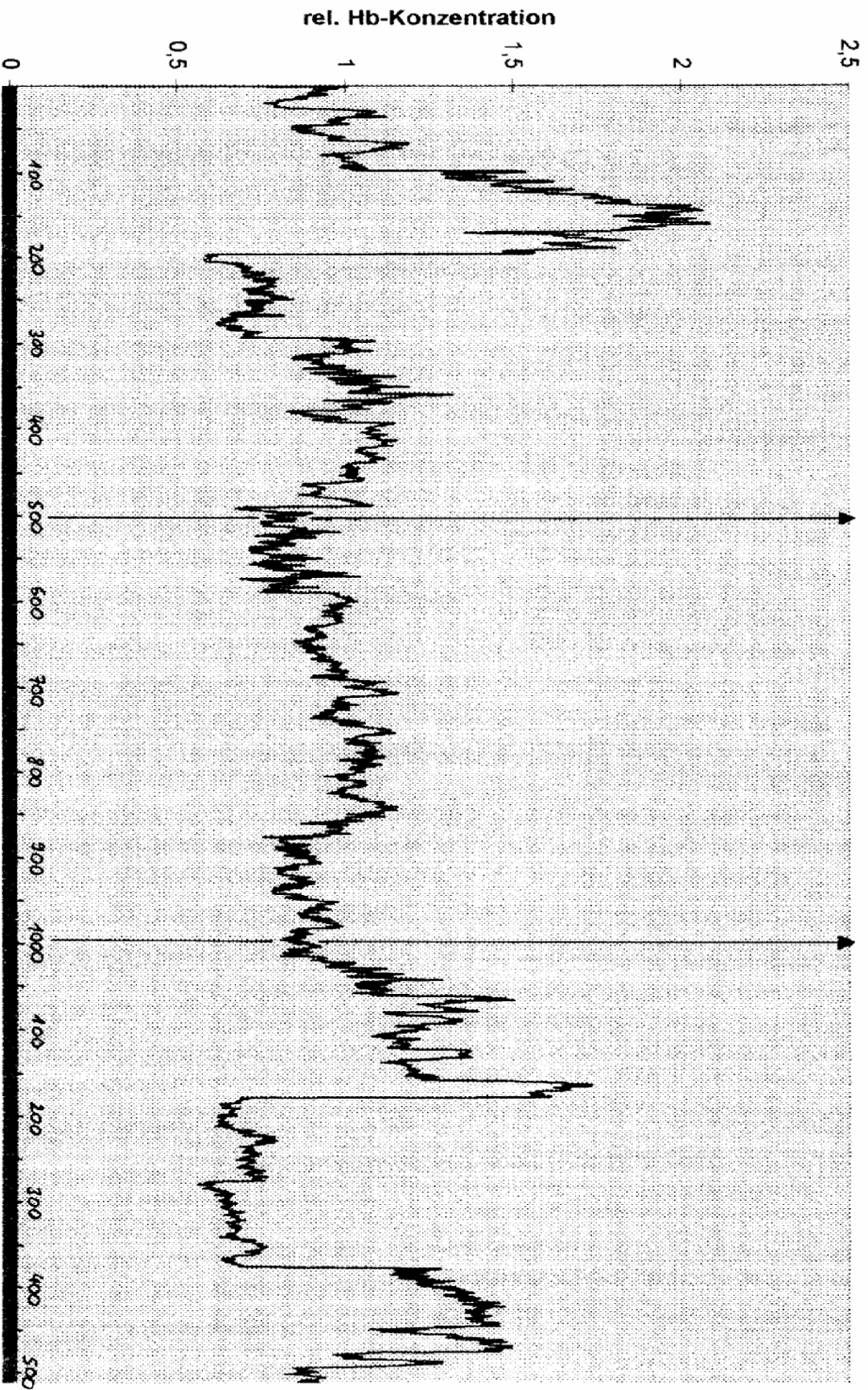
Phase	V e r u m (GEBO)			P l a c e b o (GEBS)		
	Blutentnahme	Transfusion	Nachbeob- achtung	Blutentnahme	Transfusion	Nachbeob- achtung
Mittelwert	531,9	658,7	1000,1	511,7	646,9	909,3
Standardabw.	± 36,8	± 171,2	± 23,3	± 28,7	± 292,1	± 222,2

Auf den folgenden beiden Seiten sind exemplarisch die intrakapilläre Oxigenierung und die relative Hämoglobinkonzentration bei einer GEBO- und einer GEBS-Sitzung in Diagrammen dargestellt (Blutentnahme Spektren 1-500, Transfusion Spektren 501-1000, Nachbeobachtung Spektren 1001-Ende).

Ozonstudie '97 - intrakapilläre Oxygenierung während GEBO-Sitzung - D.W./05.08.96



Ozonstudie '97 - relative Hämoglobinkonzentration während GEBO-Sitzung - D.W./05.08.96



3.6 Klinische Selbstbeurteilungsskalen zur Prüfung des Therapieerfolges

3.6.1 Von-Zerssen-Befindlichkeitsskala

Bei der Befindlichkeitsskala (Bf-S) von v. Zerssen, Koeller und Rey [ZERSSEN 1981; ZERSSEN 1976; ZERSSEN ET AL. 1970] handelt es sich um ein standardisiertes, validiertes Testverfahren, mit dessen Hilfe der Patient mit internistischen, psychosomatischen oder psychischen Erkrankungen seine aktuelle psychische Verfassung selbst einstuft. Dieser Selbstbeurteilungsfragebogen umfasst eine Liste mit 28 Items, jeweils in Form zweier Eigenschaftswörter gegensätzlicher Bedeutung. Die beiden Pole oder Extreme eines Items beschreiben jeweils den Zustand gesteigerten oder beeinträchtigten Wohlbefindens. Der Patient entscheidet sich z. B. für „eher erschöpft“ oder „eher erholt“ oder als 3. Option für „weder – noch“ (siehe auch Anhang). Die Items zur subjektiven Gestimmtheit beziehen sich auf Antrieb, Vitalgefühl und Selbstwernerleben. Die wiederholte Anwendung soll Befindlichkeitsänderungen im Längsschnitt, insbesondere den Einfluss therapeutischer Maßnahmen, möglichst genau objektivieren. Zur Verringerung von Verfälschungen des Testergebnisses durch monotoniebedingte Beeinflussung des Patienten bei kurzen Untersuchungsabständen wurden von v. Zerssen et al. zwei unterschiedliche Versionen der Befindlichkeitsskala erstellt (Bf-S und Bf-S'). Sie sind bei einer linearen Korrelation von 0,97 ($p < 0,001$) als statistisch gleichwertig anzusehen [KIEBACK 1982]. Angesichts eines jeweils mehrwöchigen Untersuchungsabstands wurde jedoch bei der hier vorliegenden Studie zur Vereinfachung der Auswertung stets die Version Bf-S der Befindlichkeitsskala vorgelegt. Vor dem Ausfüllen der Fragebögen wurde jeweils ausdrücklich auf die Testinstruktion hingewiesen: Demnach sollte der Patient, ohne lange zu überlegen, in das Kästchen hinter derjenigen Eigenschaft eines Eigenschaftspaares ein Kreuz anbringen, die seinen augenblicklichen Zustand am besten kennzeichnet [ZERSSEN & KOELLER]. Die Patienten füllten die Prüfbögen in Abwesenheit Dritter aus, die Bögen wurden stets sofort auf Vollständigkeit überprüft.

Die Auswertung der Befindlichkeitsskala erfolgt gemäß dem Testscore, d. h. der Summe der Werte der 28 Items. Das untere Extrem eines Items wird mit 2 Punkten bewertet, das obere mit 0, die Antwort „weder – noch“ mit 1 Punkt. Ein Testscore von 0 Punkten resultiert demgemäß bei ausgeprägtem Wohlbefinden, wohingegen der maximale Score von 56 einem deutlich herabgesetzten Wohlbefinden entspricht. Der Testscore wird als Rohwert mit den zugehörigen Normwerten im entsprechenden Testmanual verglichen.

3.6.2 Von-Zerssen-Beschwerden-Liste

Die Beschwerden-Liste wurde von v. Zerssen und Mitarbeitern ebenfalls als Selbstbeurteilungsfragebogen konzipiert. Sie dient als Ergänzung der Befindlichkeits-Skala der Erfassung und Dokumentation des subjektiven Beschwerdebildes und seiner Änderung im Krankheits- und Therapieverlauf, zielt also in erster Linie auf objektivierbare, somatische Beschwerden ab (als Beispiele seien „Kurzatmigkeit“, „Zittern“ und „starkes Schwitzen“ genannt). Für den Ausprägungsgrad jedes ihrer insgesamt 24 Items stehen die vier Optionen „gar nicht“, „kaum“, „mäßig“ und „stark“ zur Wahl, entsprechend einem Score von 0 bis 3.

Analog der Befindlichkeits-Skala existieren auch hier zwei hoch korrelierende Versionen, wobei jedoch in der jetzigen Untersuchung wegen der einfacheren Auswertung und des relativ großen Zeitintervalls zwischen zwei

Untersuchungen nur eine Version ausgegeben wurde. Die Beschwerdenliste wurde in gleicher Weise wie die Befindlichkeits-Skala ausgefüllt.

Die Auswertung der Beschwerden-Liste richtet sich wiederum nach dem Testscore, wobei sich ein beschwerdearmes Bild in einem niedrigen und ein ausgeprägtes Beschwerdebild in einem hohen Testscore widerspiegelt (0 bis maximal 72 Punkte). Nach v. Zerssen eignet sich das Verfahren vor allem für statistische Gruppenvergleiche (Patienten gegen Kontrollfälle, verschiedene Patientengruppen untereinander) sowie als Kontrollvariable bei Untersuchungen, in denen Störungen des körperlichen oder Allgemeinbefindens zu berücksichtigen sind, ohne selbst Gegenstand der Studie zu sein.

Die Patienten dieser Studie werden im Ergebnisteil mit einer Eichstichprobe und Referenzwerten psychiatrischer Patienten verglichen. Bei der Eichstichprobe handelt es sich um 1761 gesunde weibliche und männliche Bundesbürger im Alter von 20-64 Jahren, Grundlage für die psychiatrischen Referenzwerte der Befindlichkeitsskala waren die Aufnahmebefunde von 358 Patienten einer psychiatrischen Klinik an einem Stichtag, für die Beschwerdenliste entsprechend von 379 Psychiatriepatienten [ZERSEN & KOELLER 1975 (A, B)].

Müdigkeitsindex

Da für die vorliegende Studie Patienten mit CFS ausgewählt wurden, die beiden Selbstbeurteilungsskalen jedoch die aktuelle Befindlichkeit und das allgemeine Beschwerdebild erfassen, wurden zusätzlich aus beiden Skalen jeweils vier Items mit engem Bezug zum Attribut „Müdigkeit“ ausgewählt. Diese werden zur Ermittlung des im Folgenden „Müdigkeitsindex“ genannten Liste zugrunde gelegt. Aus der Beschwerdenliste wurden die Items mit den Nummern 2, 10, 14 und aus der Befindlichkeitsskala die Items 11, 14, 19, 27 ausgewählt.

Tabelle 14: Items aus beiden Skalen mit engem Bezug zum Attribut „Müdigkeit“;

Befindlichkeitsskala	Beschwerdenliste
zerschlagen – munter	Müdigkeit
erschöpft – erholt	rasche Erschöpfbarkeit
träge – aktiv	Energielosigkeit
kraftlos – kraftvoll	Konzentrationsschwäche

Die Auswertung dieser selektierten Fragen erfolgte separat im Anschluss an die Auswertung der vollständigen Fragebögen.

Tabelle 15: Aufzählung der Items aus der Befindlichkeitsskala von v. Zerssen (vollständige Darstellung der Listen im Anhang);

Befindlichkeitsskala		
Ich fühle mich jetzt...		
1.	aufgeschlossen	gehemmt
2.	guter Dinge	trübsinnig
3.	antriebslos	betriebsam
4.	anfällig	robust
5.	zielstrebig	ziellos
6.	ernst	heiter
7.	einfallsarm	einfallsreich
8.	empfindlich	unempfindlich
9.	pessimistisch	optimistisch
10.	sorglos	grüblerisch
11.	zerschlagen	munter
12.	liebesfähig	liebesunfähig
13.	schuldig	unschuldig
14.	erschöpft	erholt
15.	lebensmüde	lebenslustig
16.	gut	böse
17.	fröhlich	traurig
18.	geliebt	ungeliebt
19.	träge	aktiv
20.	verschlossen	zugewandt
21.	lebendig	lebloß
22.	temperamentvoll	lahm
23.	aufmerksam	zerstreut
24.	verzweifelt	hoffnungsvoll
25.	zufrieden	unzufrieden
26.	ängstlich	draufgängerisch
27.	kraftvoll	kraftlos
28.	ausgeglichen	rastlos

Tabelle 16: Aufzählung der Items aus der Beschwerdenliste von v. Zerssen (vollständige Darstellung der Listen im Anhang):

B e s c h w e r d e n l i s t e	
	Ich leide unter folgenden Beschwerden:
1.	Kopfschmerzen bzw. Druck im Kopf oder Gesichtsschmerzen
2.	Müdigkeit
3.	Gleichgewichtsstörungen
4.	Anfallsweise Atemnot
5.	Erstickungsgefühl
6.	Neigung zum Weinen
7.	Appetitlosigkeit
8.	Schluckauf
9.	Herzklopfen, Herzjagen oder Herzstolpern
10.	Rasche Erschöpfbarkeit
11.	Angstgefühl
12.	Leibschmerzen (einschl. Magen- oder Unterleibsschmerzen)
13.	Verstopfung
14.	Energielosigkeit
15.	Gelenk- oder Gliederschmerzen
16.	Konzentrationsschwäche
17.	Kalte Füße
18.	Mangel an geschlechtlicher Erregbarkeit
19.	Leichtes Erröten
20.	Frieren
21.	Aufsteigende Hitze, Hitzewallungen
22.	Trübe Gedanken
23.	Innere Gespanntheit
24.	Taubheitsgefühl („Einschlafen“, „Absterben“, Brennen oder Kribbeln in Händen und/oder Füßen)

3.7 EMPHO-Messung

3.7.1 Prinzip der EMPHO-Messung

Strahlt Licht einer bestimmten Wellenlänge in transluzides Gewebe ein, so wird ein Lichtspektrum unterschiedlicher Wellenlängen remittiert. Dieses remittierte Spektrum ist bei definierter Wellenlänge des immittierten Lichts abhängig von der Konzentration und Verteilung der im Gewebe vorhandenen Pigmente. Bei der menschlichen Haut und jedem anderen Gewebe in vivo spielt darüber hinaus die Streuung an Zellstrukturen und Organellen eine Rolle [KÄSLER ET AL. 1990; ANDERSON & PARRISH 1981]. Der Anteil von Absorption, Reflexion und Streuung des einstrahlenden Lichts hängt von der Anzahl der durchstrahlten Gewebegrenzen unterschiedlicher Dichte und damit von der Kapillarisation und der zellulären Perfusion des durchstrahlten Gewebes ab (Abb. 10).

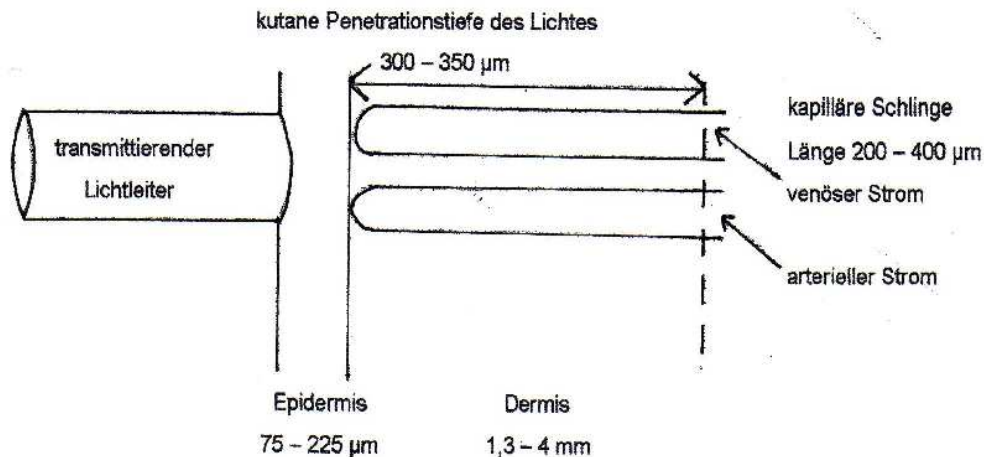


Abb. 10: Kutane Penetration des Lichtes und die vom Lichtleiter erfassten Gewebevolumina. Angesichts der Dicke von Epidermis und Dermis und der Lichtpenetration ist die vollständige Erfassung des arteriellen Anteils der Kapillare nicht möglich. Folglich sind die höchsten durch das EMPHO gemessenen Oxygenierungswerte kleiner als 100 % [KUCHENREUTHER ET AL. 1996].

Das aus der Haut remittierte Licht enthält Informationen über eine Reihe von biologischen Pigmenten. Im Wellenlängenbereich zwischen 502 und 628 nm bilden sich oxigeniertes und desoxigeniertes Hämoglobin, Melanin und Bilirubin ab. Da die Absorption von Melanin mit zunehmender Wellenlänge abnimmt, kann man dieses Pigment nicht als neutralen Filter betrachten. Jedoch ist der Einfluss einer mehr oder weniger ausgeprägten Hautpigmentierung mit Melanin ebenso wie der von Bilirubin für die untersuchten Absorptionsmaxima zur quantitativen Erfassung der Hämoglobinoxigenierung zu vernachlässigen [KUCHENREUTHER ET AL. 1996]. Im Wellenlängenbereich zwischen 500 und 630 nm ist der Anteil des reflektierten Lichts proportional der intrakapillären Hämoglobinkonzentration. Die gemessenen Spektren werden gemäß der Kubelka-Munk-Theorie berechnet [ALBRECHT ET AL. 1990; KUBELKA & MUNK 1931]:

Oxygeniertes und desoxygeniertes Hämoglobin unterscheiden sich in ihren Farbtönen: hellrot und karmesin. Entsprechend besitzen sie unterschiedliche Absorptionsmaxima: Oxihämoglobin bei 542 und 577 nm, Desoxihämoglobin bei 556 nm. Aus den ständig wechselnden Anteilen der beiden gemessenen bekannten Hämoglobin-Farbtöne lässt sich die Hämoglobin-Oxygenierung des Messvolumens jederzeit annähernd bestimmen.

3.7.2 Messung von intrakapillärer Oxygenierung, Hb-Konzentration und kapillärem Sauerstoffgehalt mit dem EMPHO II

Über den flexiblen Lichtleiter (Durchmesser 250 μm) wird das Licht einer 35-Watt-Xenon-Hochdrucklampe ins Gewebe eingestrahlt und von 6 den emittierenden Leiter umgebenden Glasfasern von jeweils 70 μm Durchmesser zu einer Interferenzverlaufsfilterscheibe remittiert (Abb. 11). Diese Filterscheibe ist zusammen mit einer Dekodierscheibe auf die Achse eines Elektromotors mit variabler Geschwindigkeit montiert und ermöglicht in Abhängigkeit von der Umdrehungsgeschwindigkeit die Aufnahme von bis zu 100 Spektren pro Sekunde. Während einer Umdrehung der Filterscheibe wird ein Wellenlängenspektrum von 502 bis 628 nm erfasst. Die übrigen Anteile des sichtbaren Lichts bleiben unberücksichtigt. Die reflektierten Spektren erlauben mit ihren unterschiedlichen Absorptionsprofilen eine quantitative Erfassung der in dieser Arbeit als Messparameter verwendeten Hämoglobinoxigenierung und der relativen Hämoglobinkonzentration.

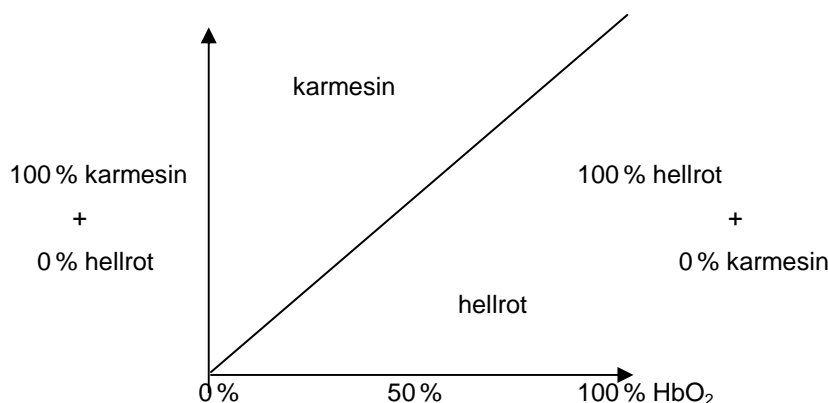
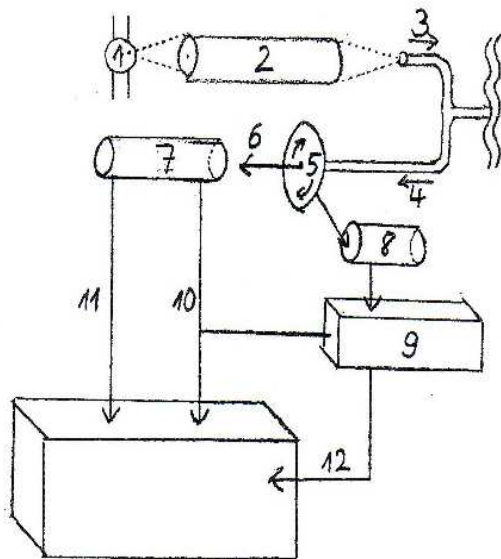


Abb. 11: Der Farbton des gemessenen Spektrums ergibt sich aus den Anteilen der Farbtöne karmesin und hellrot. Zwischen Minimum (100 % desoxygeniert) und Maximum (100 % oxigeniert) kann jede unbekannte Sättigung bestimmt werden [DÜMLER 1988; aus KUCHENREUTHER ET AL. 1996].

Abb. 12: Schematische Darstellung der Illuminationszonen. Der innere große Kreis zeigt die vom Sendeleichter illuminierte Zone, die 6 äußeren Kreise stellen das von den 6 Empfängerlichtleitern erfasste Areal dar. Nur die Signale aus der schraffierten Überlappungszone werden verarbeitet [HÖPER und PLASSWILM 1994].



Legende:

- 1 - Xenon-Hochdrucklampe
- 2 - Linsensystem
- 3 - anregender Lichtleiter
- 4 - Empfängerlichtleiter
- 5 - Interferenzverlaufsfilterscheibe
- 6 - Flüssiglichtleiter
- 7 - Photomultiplier mit Verstärker
- 8 - Dekodierscheibe
- 9 - Steuerelektronik
- 10 - Resetleitung
- 11 - Triggerleitung
- 12 - Signalleitung

Abb. 12: Schematischer Aufbau des EMPHO II [nach FRANK 1985 und ALBRECHT 1987]. Das polychromatische Licht der Xenon-Hochdrucklampe wird über ein Linsensystem auf den Eingang des flexiblen Sendeleichters fokussiert. Um den Sendeleichter sind 6 zirkulär angeordnete Empfängerlichtleiter gruppiert. Dieser kombinierte Sende- und Empfängerlichtleiter wird ohne Druck dem zu untersuchenden Gewebe aufgesetzt. Das vom Sendeleichter eingestrahlte und vom Gewebe rückgestreute Licht wird von den Empfängerlichtleitern zum EMPHO zurück geleitet und trifft dort im Empfangsteil auf eine Interferenzverlaufsfilterscheibe, die zusammen mit einer Decodierscheibe auf die Achse eines schnell laufenden Motors montiert ist. Die entsprechend der Motordrehzahl rotierende Interferenzverlaufsfilterscheibe ist in Abhängigkeit ihres Drehwinkels nur für Licht einer bestimmten Wellenlänge durchlässig. Dadurch wird das auftreffende Licht in einem Wellenlängenbereich von 502 bis 628 nm (maximaler Durchlässigkeitsbereich der Scheibe) in einzelne Wellenlängen zerlegt. Dieses Licht wird über einen Flüssigkeitslichtleiter zu einem Photomultiplier übertragen und dort in ein analoges Stromsignal umgesetzt, das von einem Analog-Digital-Wandler (ADC) digitalisiert wird. Die Steuerung des ADC erfolgt über Triggerimpulse einer Steuerelektronik, die ihrerseits von der rotierenden Decodierscheibe angesteuert wird. Entsprechend der Umdrehungsgeschwindigkeit der Interferenzverlaufsfilterscheibe können bis zu 100 Spektren pro Sekunde aufgezeichnet werden. Jedes dieser Spektren besteht aus 64 wellenlängenäquidistanten Messpunkten in einem Abstand von 2 nm in einem Wellenlängenbereich von

502 bis 628 nm. Mit Hilfe spezieller Korrekturverfahren kann aus dem kutanen Remissionsspektrum die intrakapilläre Hämoglobinoxigenierung, d. h. der prozentuale Anteil des Oxihämoglobins am Gesamthämoglobin in der kapillären Strombahn, und die relative Hämoglobinoxigenierung, d. h. die Hb-Konzentration in der kapillären Strombahn relativ zu einem Ausgangswert, ermittelt werden [KÄSLER ET AL. 1990].

Darüber hinaus ist mit dem EMPHO II auch die Berechnung der lokalen Sauerstoffaufnahme möglich: Aus einer zeitlich begrenzten Unterbrechung des arteriellen Blutflusses (z. B. mit einer Blutdruckmanschette) ergibt sich infolge des fortlaufenden lokalen Sauerstoffverbrauchs im Gewebe eine Desaturierung des intrakapillären Hämoglobins. Dabei hängt der Grad der Desaturierung von lediglich zwei Parametern ab: dem lokalen Sauerstoffgehalt und der Sauerstoffaufnahme. Der lokale Sauerstoffgehalt ist wiederum das Produkt aus der lokalen relativen Hämoglobinkonzentration (%) im Vergleich zum Ausgangswert multipliziert mit der intrakapillären Hämoglobinoxigenierung und der Hüfnerschen Zahl:

- lokaler Sauerstoffgehalt (ml O₂) = [Hb] · Hüfnersche Zahl · SO₂ [%]
- Sauerstoffaufnahme (Δ ml O₂) = [Hb] · Hüfnersche Zahl · ΔSO₂ [%]
- Hüfnersche Zahl = 0,2 l O₂/ml Gewebe

Da sich relative Hämoglobinoxigenierung und intrakapilläre Hämoglobinoxigenierung direkt aus den Spektren ermitteln lassen, ist hiermit auch die Berechnung des lokalen Sauerstoffgehaltes möglich. Schließlich kann die Sauerstoffaufnahme aus der Abnahme des lokalen Sauerstoffgehaltes bestimmt werden.

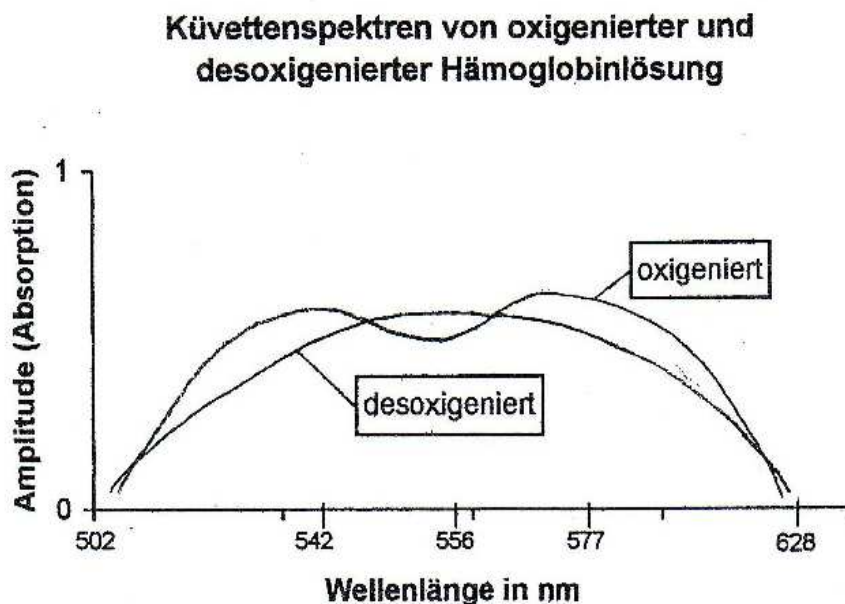


Abb. 13: Küvettenspektren von oxigenerter und desoxigenerter Hämoglobinlösung. [ALBRECHT 1987; DÜMMLER 1988]

Voraussetzung für eine Quantifizierung der transmittierten Lichtimpulse ist deren Umwandlung in ein analoges Stromsignal über einen Photomultiplier. Anschließend erfolgt die Digitalisierung in einem Analog-Digital-Wandler (ADC). Jedes einzelne aufgenommene Spektrum besteht aus 64 äquidistanten Messpunkten in dem erfassten Bereich zwischen 502 und 628 nm. Der Abstand zwischen 2 Messpunkten beträgt also 2 nm.

Die Kalibrierung erfolgt vor Beginn der Messung durch die Aufnahme von Spektren in Dunkelheit (Einführen des Lichtleiters in einen Metallblock) und das Vorhalten einer hellen Kaltlichtquelle. Die Analyse der Messspektren wird online mit gespeicherten Küvettenspektren bekannter Oxigenierung [HANNA ET AL. 1995; DÜMMLER 1988] vorgenommen. Wellenlängenkenntnis und Lichtintensität werden auf einem elektronischen Datenträger festgehalten. Nach dem Messvorgang können die Verläufe der intrakapillären Hämoglobin-oxigenierung direkt auf dem Monitor des EMPHO II dargestellt werden, der Verlauf des lokalen Sauerstoffgehaltes kann nach einem programmierten Rechenschritt auf dem Monitor dargestellt werden. Bei der hier vorliegenden Untersuchung wurde eine Frequenz von 2 Spektren/s festgelegt.

Durchführung der Messung

Zur Messung der intrakapillären Oxigenierung und O₂-Konzentration vor Entnahme, während und nach Transfusion des ozonierten Eigenbluts wurden an der rechten Hand Messungen mit dem Mikrolichtleiter-System (EMPHO II/Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer, BGT-Medizintechnik, Überlingen) vorgenommen.

3.8 Laborwerte

Von den 11 in die Untersuchung einbezogenen Patienten lagen jeweils 4 Datensätze (bei einem Patienten 2 Datensätze) mit folgenden Standardlaborwerten vor:

Blutbild: Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Neutrophile, Lymphozyten, Monozyten, Eosinophile, Basophile;

Serumwerte: Glucose, Kreatinin, Harnsäure, Natrium, Kalium, ASAT, ALAT, γ -GT;

Lipide: Triglyzeride, Gesamtcholesterin, β -Lipoprotein (LDL); prä- β -Lipoprotein (VLDL), α -Lipoprotein (HDL);

Die semiquantitative Urinanalyse umfasste Glucose, Eiweiß, Leukozyten und Erythrozyten. Alle Laborwerte wurden im klinisch-chemischen Labor der Medizinischen Poliklinik Bonn mit Standardmethoden bestimmt.

3.9 Statistische Auswertung – Übersicht

Die statistische Auswertung (Kapitel 4, Ergebnisse, siehe S. 7ff) ist in 4 Teile untergliedert:

In Teil 4.1 sind die Test-Summen-Scores der von-Zerssen-Befindlichkeitsskala (4.1.1) und der von-Zerssen-Beschwerdenliste (4.1.2) aus der 1. und 10. Sitzung - separat für die Therapiezyklen - einander gegenüber gestellt. Anschließend erfolgt noch eine separate Auswertung mit jeweils vier Items, selektiert nach dem Kriterium „Müdigkeit“ (4.1.3, 4.1.4). Es findet der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben Anwendung.

Teil 4.2 gibt die Ergebnisse der 16-Punkte-Messung wieder: Es werden die File-Mittelwerte der 1. und 10. Therapiesitzung verglichen, getrennt dargestellt für Oxigenierung (4.2.1), relative Hämoglobinkonzentration (4.2.2) und O₂-Gehalt (4.2.3) des Verum- bzw. Placebozyklus.

In Teil 4.3 werden Ozon- und Placebothherapie jeweils anhand der File-Mittelwerte aus den EMPHO-Messungen von kapillärer Oxigenierung und relativer Hämoglobinkonzentration (getrennt für die drei Phasen Blutentnahme (4.3.1), Transfusion (4.3.2) und Nachbeobachtung (4.3.3)) einander gegenüber gestellt. Teil 4.3.4 bis 4.3.6 vergleicht jeweils die File-Mittelwerte von zwei der drei Phasen Blutentnahme, Transfusion und Nachbeobachtung von kapillärer Oxigenierung und relativer Hämoglobinkonzentration getrennt für die jeweils 1. und 10. Sitzung des Verum- bzw. Placebozyklus (4.3.4: Blutentnahme vs Nachbeobachtung; 4.3.5: Blutentnahme vs Transfusion; 4.3.6: Transfusion vs Nachbeobachtung). Die Mittelwerte ergeben sich jeweils aus der Summe der aufgenommenen Spektren jeder Sitzung der 10 Patienten, gemessen mit dem Erlanger Mikrolichtleiter-Spektrophotometer.

Teil 4.4 vergleicht die während der jeweils 1. und 10. Sitzung im Verum- bzw. Placebozyklus erhobenen Standardlaborparameter sowie die entsprechenden Werte der jeweils 10. Sitzung der beiden Zyklen miteinander.

Wilcoxon-Test

Zur Ermittlung von zentralen Tendenzen wird der Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben auf die Mittelwerte der Stichproben angewendet. Die Auswertung des in dieser Arbeit verwendeten Datenmaterials entspricht den Vorgaben der Testvorschriften für den Wilcoxon-Test .

Der Wilcoxon-Test [HÜSLER & ZIMMERMANN 1993] ist ein nicht-parametrischer Test für paarige Stichproben. Er prüft, ob zwei Einflussgrößen (z. B. O₃ versus O₂) unterschiedliche Verteilungsfunktionen erzeugen, insbesondere hinsichtlich der zentralen Tendenzen an derselben Beobachtungseinheit. Die zu den paarigen Stichproben gehörigen Mediane μ_1 und μ_2 sind in den Vergleich eingeschlossen. Überprüft wird praktisch, ob der Erwartungswert der Differenzen zwischen den Verteilungsfunktionen, die den beiden Verfahren zugeordnet sind, von Null signifikant verschieden ist bzw. ob die Differenz zwischen den beiden Medianen von Null verschieden ist. Der Wilcoxon-Rangsummentest ist ein geeignetes non-parametrisches Verfahren zur statistischen Auswertung, wenn die Normalverteilung von Messwerten innerhalb von kleinen Stichproben nicht sicher nachgewiesen werden kann.

Voraussetzungen für den Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben

- Unabhängigkeit der Beobachtungspaare
- Unabhängigkeit der Differenzen von den Ausgangswerten
- Verteilungsfunktion kontinuierlich
- Für die Prüfung der Mediane: näherungsweise gleiche Verteilungsform
- Die Anzahl positiver und negativer Differenzen sollte ≥ 6 sein.

Datensätze

Von 10 Patienten existieren jeweils 4 korrespondierende Datensätze aus den Erhebungen und Bestimmungen vor und nach beiden Therapiezyklen. Ein 11. Patient nahm lediglich am Placebo-Zyklus teil (siehe auch Abb. 9, S. 52). Die Datensätze sind zur statistischen Auswertung in Tabellen angeordnet. Zu jedem Datensatz gehören a) Befindlichkeitsskala, b) Beschwerdenliste, c) Standardlaborparameter.

Tabelle 17: Datensätze zur statistischen Auswertung (GEBO = große Eigenblutbehandlung mit Ozon, GEBS = große Eigenblutbehandlung mit Sauerstoff);

Therapiezyklus	1		2	
	Gruppe 1	vor GEBO	nach GEBO	vor GEBS
Gruppe 2	vor GEBS	nach GEBS	vor GEBO	nach GEBO

Stufenschema der statistischen Auswertung (Per-Protocol-Analyse)

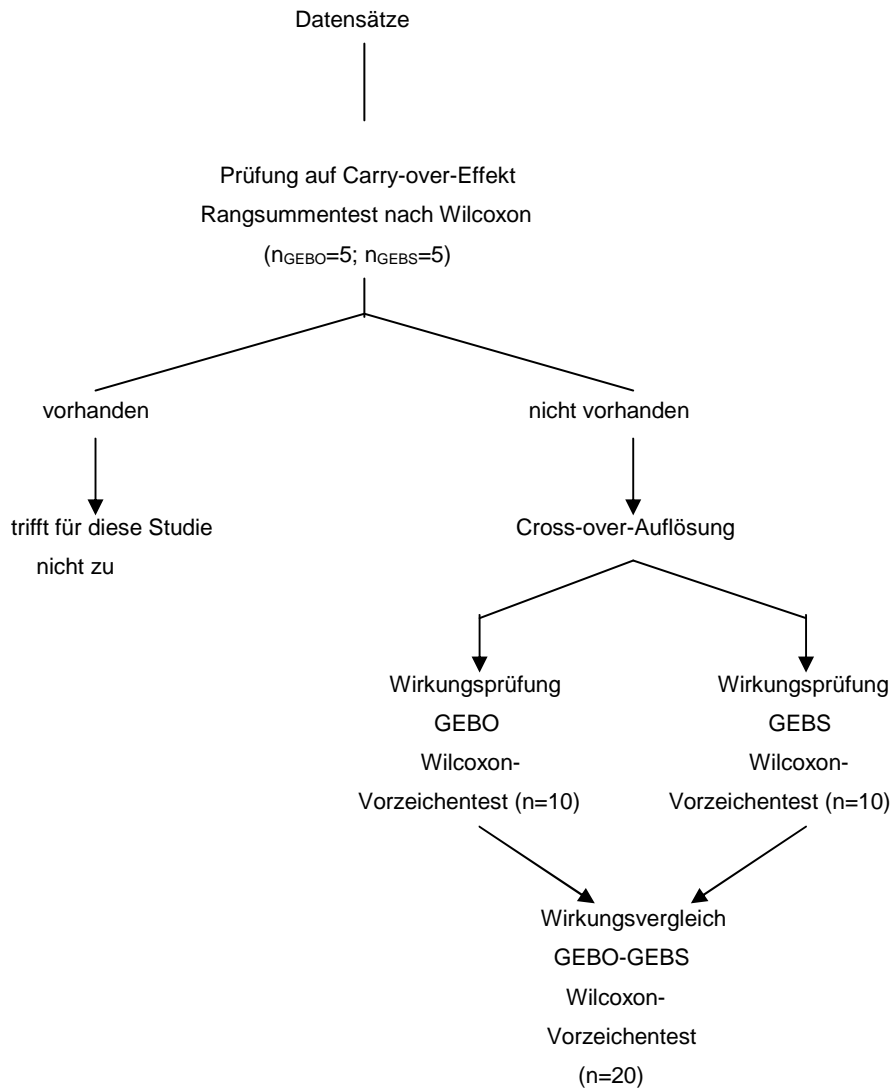


Abb. 14: Statistische Auswertung schematisch. n = Stichprobengröße, GEBO = große Eigenblutbehandlung mit Ozon, GEBS = große Eigenblutbehandlung mit Sauerstoff (Placebo).

Carry-over-Effekt, Cross-over-Auflösung

Bei vollständig vorliegenden Datensätzen wurde zunächst das Vorliegen eines Carry-over-Effektes geprüft. Darunter versteht man die Beeinflussung eines folgenden Therapieabschnittes durch einen vorangehenden. Dazu kommt der weiter oben dargestellte Wilcoxon-Rangsummentest für die Gesamtheit der 10 Patienten mit vollständigen Datensätzen als auch für die Verum- und Placebogruppe getrennt zur Anwendung (siehe auch Abb. 14).

Ergebnis: Beim Vergleich der jeweiligen Beobachtungswerte vor dem ersten und zweiten Therapieabschnitt (Verum- und Placebogruppe bzw. umgekehrt) zeigten sich bei keiner der geprüften Größen (Standardlaborparameter, Selbstbeurteilungsfragebögen zu Befindlichkeit und Beschwerden, kapilläre Hämoglobin-Oxygenierung, relative Hämoglobin-Konzentration, für 16-Punkte-Messung zusätzlich intrakapilläre Sauerstoffkonzentration) von den Erwartungswerten für verbundene Stichproben signifikante Unterschiede. Im unteren Tabellenteil werden jeweils der Gesamtmedian und die Quartilsabstände für die Gesamtgruppe bestimmt.

Da sich ein Carry-over-Effekt nicht nachweisen ließ, konnte das Cross-over für sämtliche geprüften Größen aufgelöst werden.

Die Intent-to-Treat-Analyse wurde für das Hauptzielkriterium „allgemeine Befindlichkeit“ (nach VON ZERSSEN) und für die unerwünschten Ereignisse durchgeführt.

Sponsoring:

Die Untersuchung wurde nur durch Drittmittel der Arbeitsgruppe finanziert. Eine Verbindung zu Herstellern verwendeter Geräte bestand nicht.

4 Ergebnisse

4.1 Klinische Selbstbeurteilungsskalen (von Zerssen)

Auswertung der von-Zerssen-Befindlichkeitsskala und Beschwerdenliste

In den beiden folgenden Tabellen werden die Testscores der in dieser Studie untersuchten Patienten (1. Sitzung) mit der Eichstichprobe sowie einem Kollektiv von Patienten einer psychiatrischen Klinik verglichen (siehe auch S. 62).

Tab. 18: Testwertstatistik der Befindlichkeitsskala bei Gesunden, psychisch Kranken sowie den Patienten der vorliegenden Untersuchung (chronische Müdigkeit; n = 10, [n = 11; 11. Patient berücksichtigt]);

Befindlichkeitsskala Score	Gesunde	psychisch Kranke	chronische Müdigkeit O ₃ -Zyklus	chronische Müdigkeit, Placebo-Zyklus
Variationsbreite	0-55	0-56	4-18	2-18 [2-30]
Mittelwert (x)	11,86	32,21	11,60	7,60 [9,64]
Standardabweichung (s)	9,75	15,43	5,73	4,38 [4,91]

Minimal-Score=0, Maximal-Score=56

Tab. 19: Testwertstatistik der Beschwerdenliste bei Gesunden, psychisch Kranken sowie den Patienten der vorliegenden Untersuchung (chronische Müdigkeit; n = 10, [n = 11; 11. Patient berücksichtigt]);

Beschwerdenliste Score	Gesunde	psychisch Kranke	chronische Müdigkeit, O ₃ -Zyklus	chronische Müdigkeit, Placebo-Zyklus
Variationsbreite	0-59	0-69	4-35	6-36 [6-39]
Mittelwert (x)	14,26	30,03	17,90	17,30 [19,27]
Standardabweichung (s)	10,75	15,43	7,08	8,34 [8,93]

Minimal-Score=0, Maximal-Score=72

Wegen des unvollständigen Datenmaterials des Patienten, der nach dem Placebo-Zyklus die Teilnahme an der Studie abbrach, werden die Ergebnisse der Auswertung der beiden Selbstbeurteilungsskalen im Folgenden jeweils einmal mit diesem Patienten (n = 11) und einmal ohne ihn (n = 10) dargestellt (Tabellen 20 bis 30).

Die Test-Summen-Scores aus der Befindlichkeitsskala werden für den Verum-Zyklus im linken Teil der Tabellen 21 und 22 und für den Placebo-Zyklus jeweils im rechten Tabellenteil aufgeführt. Die Testscores sind in der 2. bzw. 3. Tabellenspalte dargestellt, die Testentscheidung⁹ über die Signifikanz der Wertepaar-differenzen auf dem angegebenen Niveau α findet sich jeweils in der untersten Tabellenzeile. Entsprechendes gilt für die Beschwerdenliste in den Tabellen 23 und 24.

⁹ Die der Testentscheidung zugrunde liegenden Quantile $r_{n,p}^*$ sind entnommen aus [MC CORNACK RL (1965). Extended tables of the Wilcoxon matched pair signed rank statistic. J Amer Statist Assoc 60: 864-71].

Vergleich der Test-Summen-Scores aus Befindlichkeitsskala und Beschwerdenliste

Tabelle 20: Ergebnisübersicht; bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle;

Testreihe (Testscore)	Vergleich	Median	1. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Befindlichkeitsskala (4.1.1.a, 4.1.1.b)	Ozon: 1. Sitzung	12,0	9,25	14,00	p=0,047*
	10. Sitzung	7,5	4,25	11,75	Tab. 21, 22
	Sauerstoff: 1. Sitzung	6,0	3,50	9,00	keine
	10.Sitzung	8,0	6,00	10,00	Tab. 21, 22
Beschwerdenliste (4.1.2.a, 4.1.2.b)	Ozon: 1. Sitzung	13,0	8,25	29,50	p=1,016
	10. Sitzung	11,5	6,25	22,50	Tab. 23, 24
	Sauerstoff: 1. Sitzung	15,0	12,00	27,00	p=0,05 [□]
	10.Sitzung	14,0	11,00	20,00	Tab. 23, 24
Befindlichkeitsskala (4.1.1)	1. Sitzung: Ozon	12,0	9,25	14,00	p<0,005
	Sauerstoff	7,0	4,25	9,00	Tab. 25
Beschwerdenliste (4.1.2)	1. Sitzung: Ozon	13,0	8,25	29,50	keine
	Sauerstoff	15,0	10,50	20,50	
Befindlichkeitsskala** (4.1.1)	1. Sitzung: 1. Zyklus	12,0	9,25	14,00	keine
	2. Zyklus	7,0	4,25	9,00	
Beschwerdenliste** (4.1.2)	1. Sitzung: 1. Zyklus	15,0	12,50	28,00	keine
	2. Zyklus	12,0	7,25	22,00	
Befindlichkeitsskala (4.1.1)	10. Sitzung: Ozon	7,5	4,25	11,75	keine
	Sauerstoff	7,5	6,00	9,75	
Beschwerdenliste (4.1.2)	10. Sitzung: Ozon	11,5	6,25	22,50	keine
	Sauerstoff	13,5	10,50	17,25	
Befindlichkeitsskala, Müdigkeitsindex (4.1.3.a, 4.1.3.b)	Ozon: 1. Sitzung	3,0	0,50	4,00	keine*
	10. Sitzung	1,0	0,00	2,00	
	Sauerstoff: 1. Sitzung	1,0	0,00	2,00	keine*
	10.Sitzung	1,0	1,00	3,00	
Beschwerdenliste, Müdigkeitsindex (4.1.4.a, 4.1.4.b)	Ozon: 1. Sitzung	5,5	2,75	6,75	p=0,30*
	10. Sitzung	2,5	2,00	5,50	
	Sauerstoff: 1. Sitzung	4,0	3,00	7,50	keine
	10.Sitzung	5,0	4,00	6,00	

* Gleiches Ergebnis mit (a) und ohne (b) 11. Patienten (getrennt berechnet); ** Cross-over nicht aufgelöst; [□] Signifikanz nur bei Einschluss des 11.Patienten, Signifikanzniveau $\alpha=0,05$.

Tabelle 21 (4.1.1) mit Diagramm: Befindlichkeitsskala - Testscore – Verum und Placebo (Wilcoxon-Test), n=11;

Befindlichkeitsskala – Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient Nr.	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient Nr.	1. Sitzung	10. Sitzung
1	11	4	1	6*	6
2	14	11	2	9*	9
3	9	6	3	8*	8
4	6	1	4	3	10
5	17	12	5	12	19
6	18	13	6	18	6
7	4	3	7	2	7
8	14	5	8	4	6
9	13	9	9	9	10
10	10	12	10	5	4
			11	30	20
Median	12	7,5	Median	6	8
1. Quartil	9,25	4,25	1. Quartil	4,5	6
3. Quartil	14	11,75	3. Quartil	10,5	10
Rangsumme r+ = 53,0; r- = 2,0			Rangsumme r+ = 16,5; r- = -19,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant: p = 0,0047			Testentscheidung: nicht signifikant		

*3 Wertepaare mit Nulldifferenz (1, 2, 3)

Diagramm zu Tabelle 21: Befindlichkeitsskala. Testscore, 1. Sitzung (vorher) vs 10. Sitzung (nachher); links Verum-, rechts Placebo-Zyklus; mit 11. Patienten im Placebo-Zyklus:

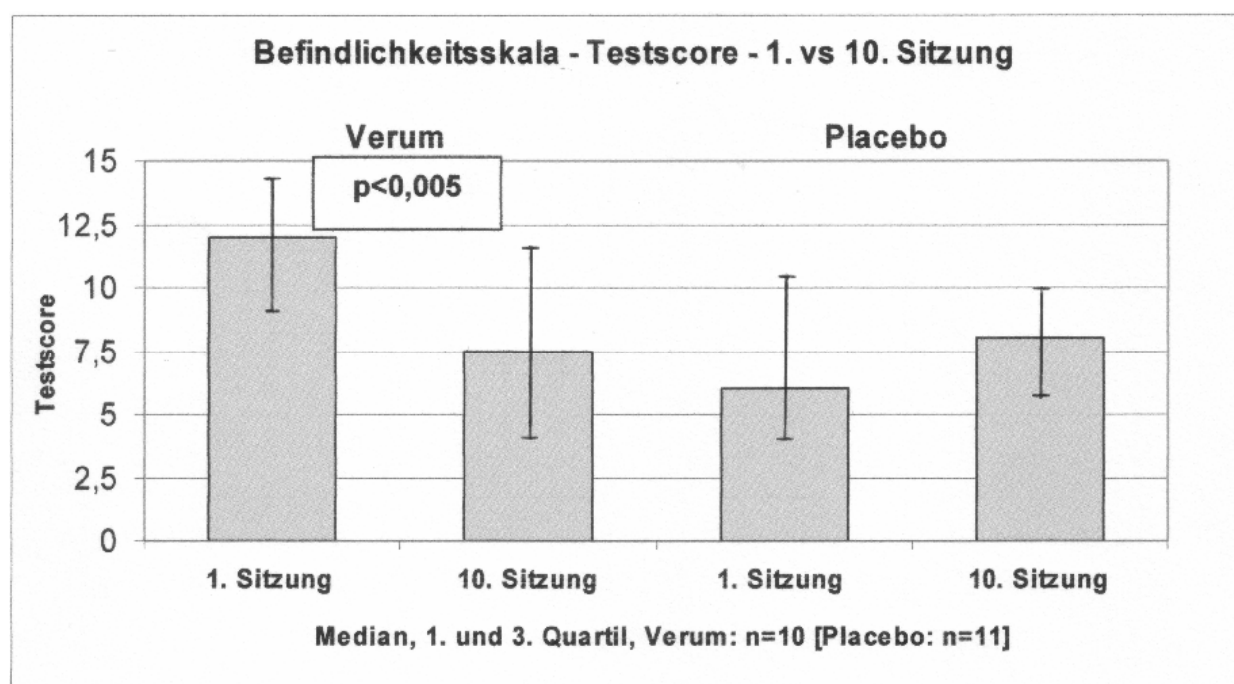


Tabelle 22 (4.1.1) mit Diagramm: Befindlichkeitsskala - Testscore – Verum und Placebo (Wilcoxon-Test), n=10;

Befindlichkeitsskala – Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient Nr.	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient Nr.	1. Sitzung	10. Sitzung
1	11	4	1	6*	6
2	14	11	2	9*	9
3	9	6	3	8*	8
4	6	1	4	3	10
5	17	12	5	12	19
6	18	13	6	18	6
7	4	3	7	2	7
8	14	5	8	4	6
9	13	9	9	9	10
10	10	12	10	5	4
Median	12	7,5	Median	7	7,5
1. Quartil	9,25	4,25	1. Quartil	4,25	6
3. Quartil	14	11,75	3. Quartil	9	9,75
Rangsumme r+ = 53,0; r- = 2,0			Rangsumme r+ = 8,5; r- = 19,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant: p = 0,0047			Testentscheidung: nicht signifikant		

* 3 Wertepaare mit Nulldifferenz (1, 2, 3)

Diagramm zu Tabelle 22: Befindlichkeitsskala, Testscore, 1. Sitzung (vorher) vs 10. Sitzung (nachher);

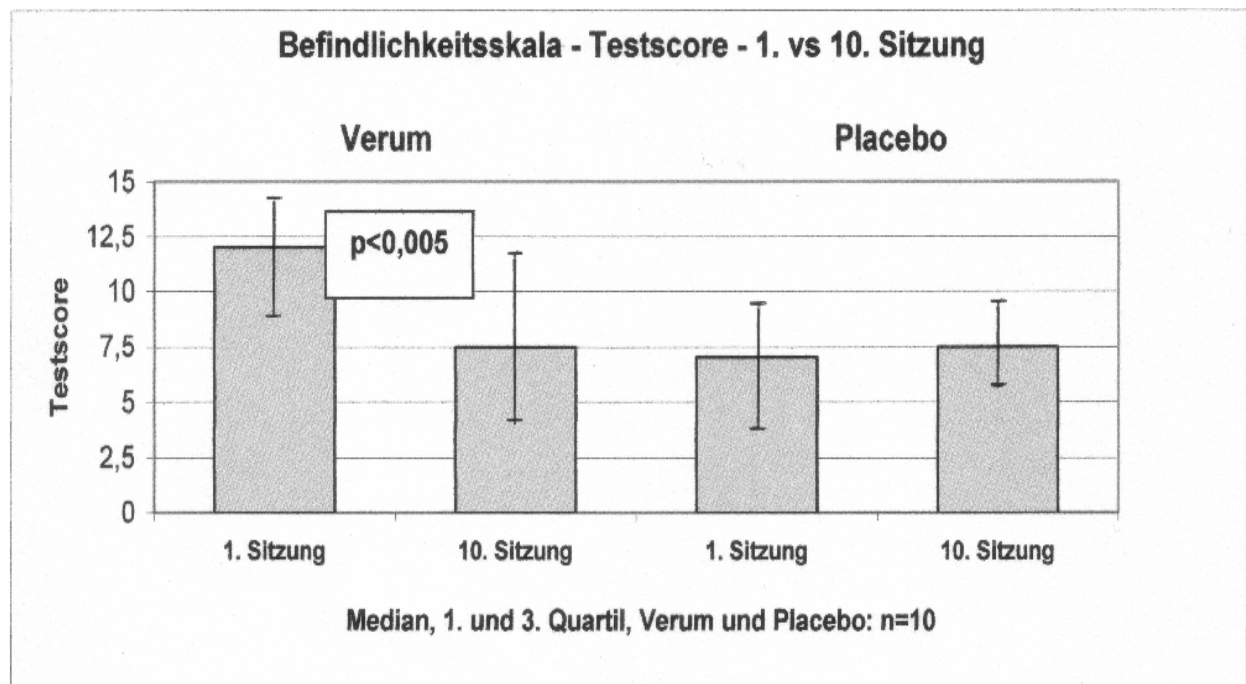


Tabelle 23 (4.1.2) mit Diagramm: Beschwerdenliste – Testscore – Verum und Placebo (Wilcoxon-Test), n=11;

Beschwerdenliste – Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	14	7	1	6	12
2	36	25	2	36	27
3	9	5	3	15*	15
4	7	3	4	7	3
5	22	15	5	16	18
6	32	28	6	32	22
7	4	6	7	9	10
8	35	27	8	15	14
9	8	12	9	15	9
10	12	11	10	22	13
			11	39	22
Median	13	11,5	Median	15	14
1. Quartil	8,25	6,25	1. Quartil	12	11
3. Quartil	29,5	22,5	3. Quartil	27	20
Rangsumme r+ = 48,5; r- = 6,5			Rangsumme r+ = 45,0; r- = 10,0		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; p = 0,016			Testentscheidung: signifikant; p = 0,05		

*1 Wertepaar mit Nulldifferenz (3);

Diagramm zu Tabelle 23: Beschwerdenliste, Testscore; links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung (vorher/nachher); mit 11. Patienten im Placebo-Zyklus:

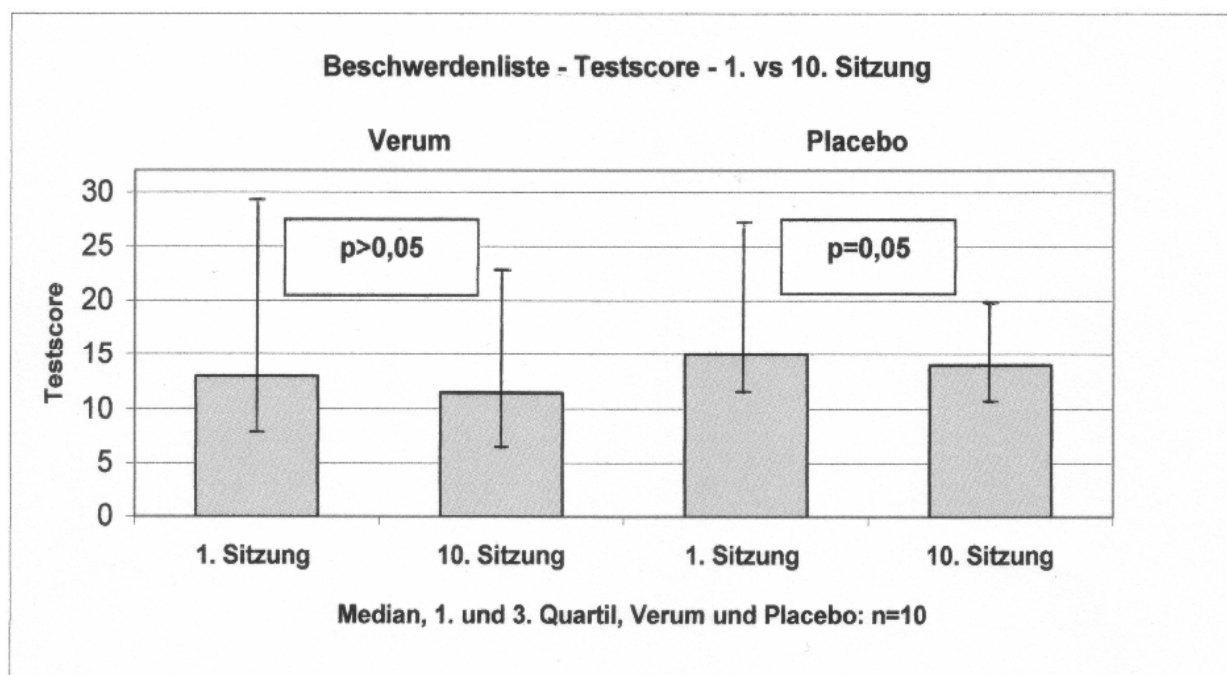


Tabelle 24 (4.1.2) mit Diagramm: Beschwerdenliste – Testscore – Verum und Placebo (Wilcoxon-Test), n=10;

Beschwerdenliste – Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	14	7	1	6	12
2	36	25	2	36	27
3	9	5	3	15*	15
4	7	3	4	7	3
5	22	15	5	16	18
6	32	28	6	32	22
7	4	6	7	9	10
8	35	27	8	15	14
9	8	12	9	15	9
10	12	11	10	22	13
Median	13	11,5	Median	15	13,5
1. Quartil	8,25	6,25	1. Quartil	10,5	10,5
3. Quartil	29,5	22,5	3. Quartil	20,5	17,25
Rangsumme r+ = 48,5; r- = 6,5			Rangsumme r+ = 35,0; r- = 10,0		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; p = 0,016			Testentscheidung: nicht signifikant		

*1 Wertepaar mit Nulldifferenz (3);

Diagramm zu Tabelle 24: Beschwerdenliste, Testscore; links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung (vorher/nachher);

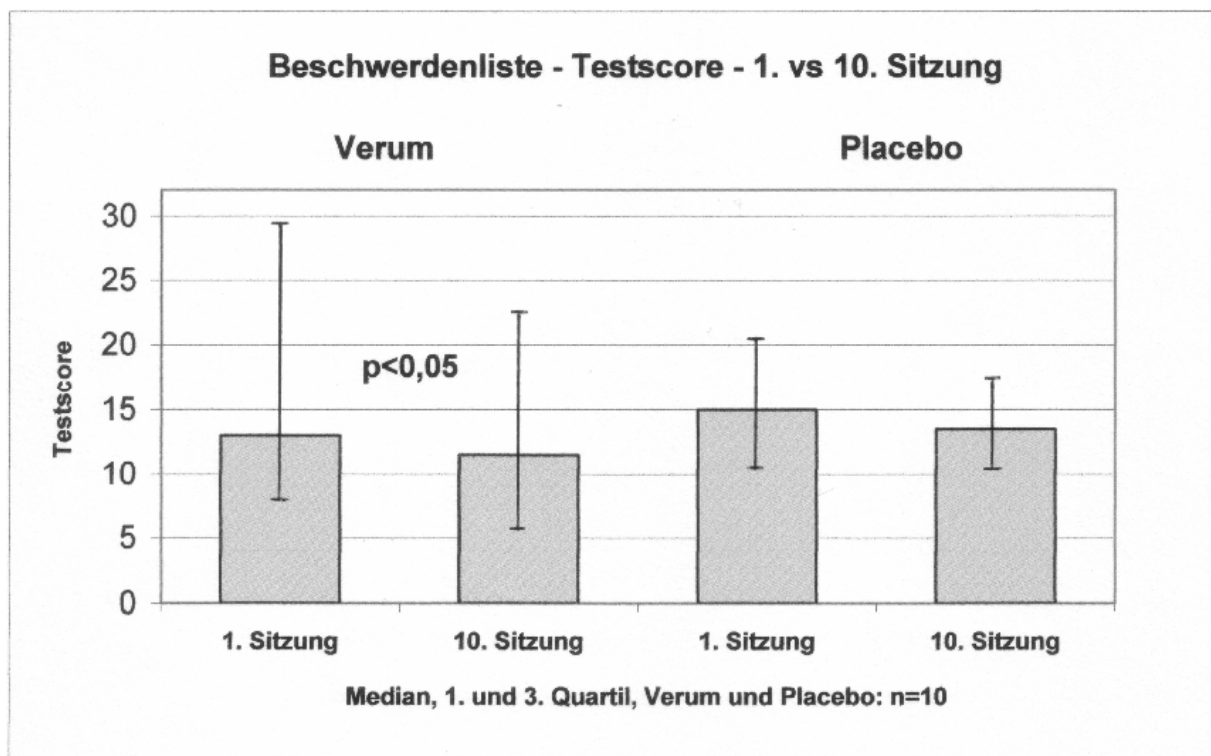


Tabelle 25: Vergleich der Testscores aus den 1. Sitzungen beider Skalen
(Wilcoxon-Test); n=10, Cross-over aufgelöst;

Befindlichkeitsskala und Beschwerdenliste – Testscore – 1. Sitzung					
Befindlichkeitsskala (Bf 1/1)			Beschwerdenliste (Bs 1/1)		
Patient	Verum	Placebo	Patient	Verum	Placebo
1	11	6	1	14	6
2	14	9	2	36	36
3	9	8	3	9	15
4	6	3	4	7	7
5	17	12	5	22	16
6	18	18	6	32	32
7	4	2	7	4	9
8	14	4	8	35	15
9	13	9	9	8	15
10	10	5	10	12	22
Median	12	7	Median	13	15
1. Quartil	9,25	4,25	1. Quartil	8,25	10,5
3. Quartil	14	9	3. Quartil	29,5	20,5
Rangsumme r+ = 45,0; r- = 0			Rangsumme r+ = 17,5; r- = 18,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; $p < 0,005$			Testentscheidung: nicht signifikant		

Diagramm zu Tabelle 25: Befindlichkeitsskala (links) und Beschwerdenliste (rechts), Testscore, 1. Sitzung (vorher); Verum vs Placebo;

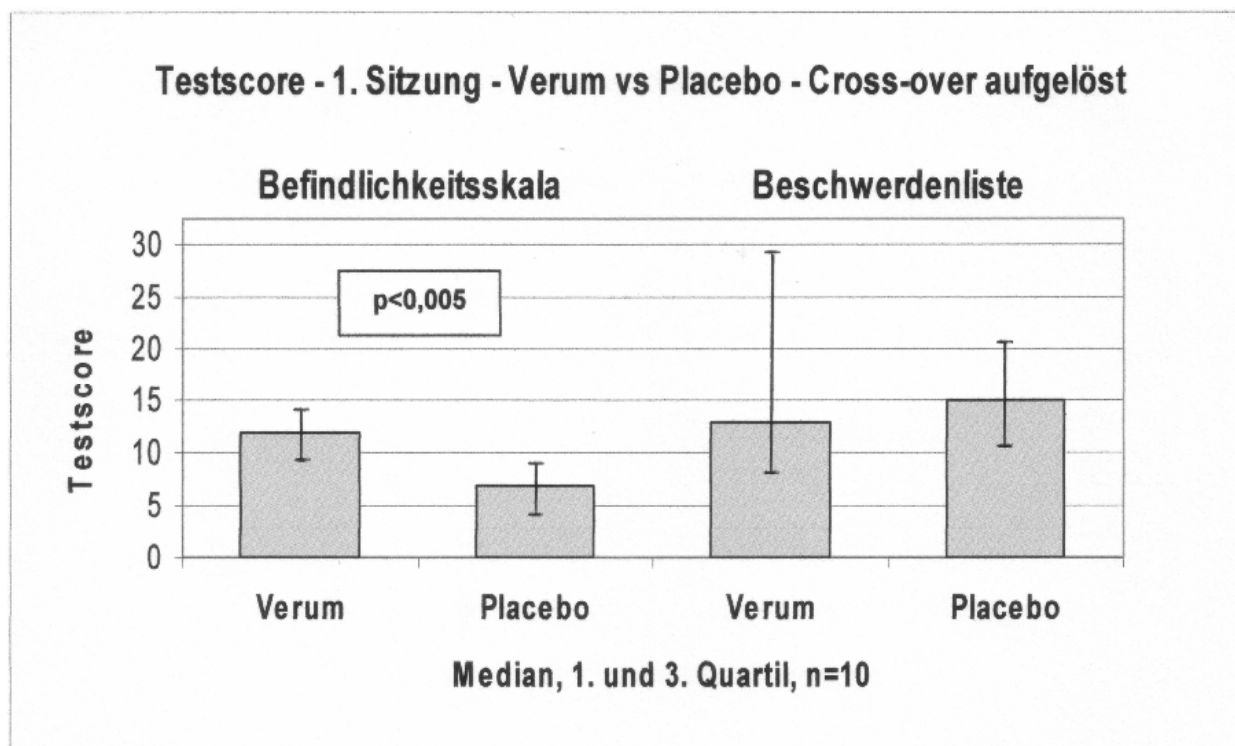


Tabelle 26 mit Diagramm: Vergleich der Testscores aus den 1. Sitzungen beider Skalen (Wilcoxon-Test); n=10, Cross-over nicht aufgelöst;

Befindlichkeitsskala und Beschwerdenliste – Testscore – 1. Sitzung					
Befindlichkeitsskala (Bf 1/1)			Beschwerdenliste (Bs 1/1)		
Patient	1. Zyklus	2. Zyklus	Patient	1. Zyklus	2. Zyklus
1	11	6	1	14	6
2	14	9	2	36*	36
3	8	9	3	15	9
4	6	3	4	7*	7
5	12	17	5	16	22
6	18*	18	6	32*	32
7	2	4	7	9	4
8	14	4	8	35	15
9	9	13	9	15	8
10	10	5	10	12	22
Median	12	7	Median	15	12
1. Quartil	9,25	4,25	1. Quartil	12,5	7,25
3. Quartil	14	9	3. Quartil	28	22
Rangsumme r+ = 31,5; r- = 13,5			Rangsumme r+ = 19,5; r- = 8,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: nicht signifikant			Testentscheidung: nicht signifikant		

*1 Wertepaar mit Nulldifferenz (6);

*3 Wertepaar mit Nulldifferenz (2, 4, 6);

Diagramm zu Tabelle 26: Befindlichkeitsskala (links) und Beschwerdenliste (rechts), Testscore, 1. Sitzung (vorher); 1. Zyklus versus 2. Zyklus; Cross-over nicht aufgelöst:

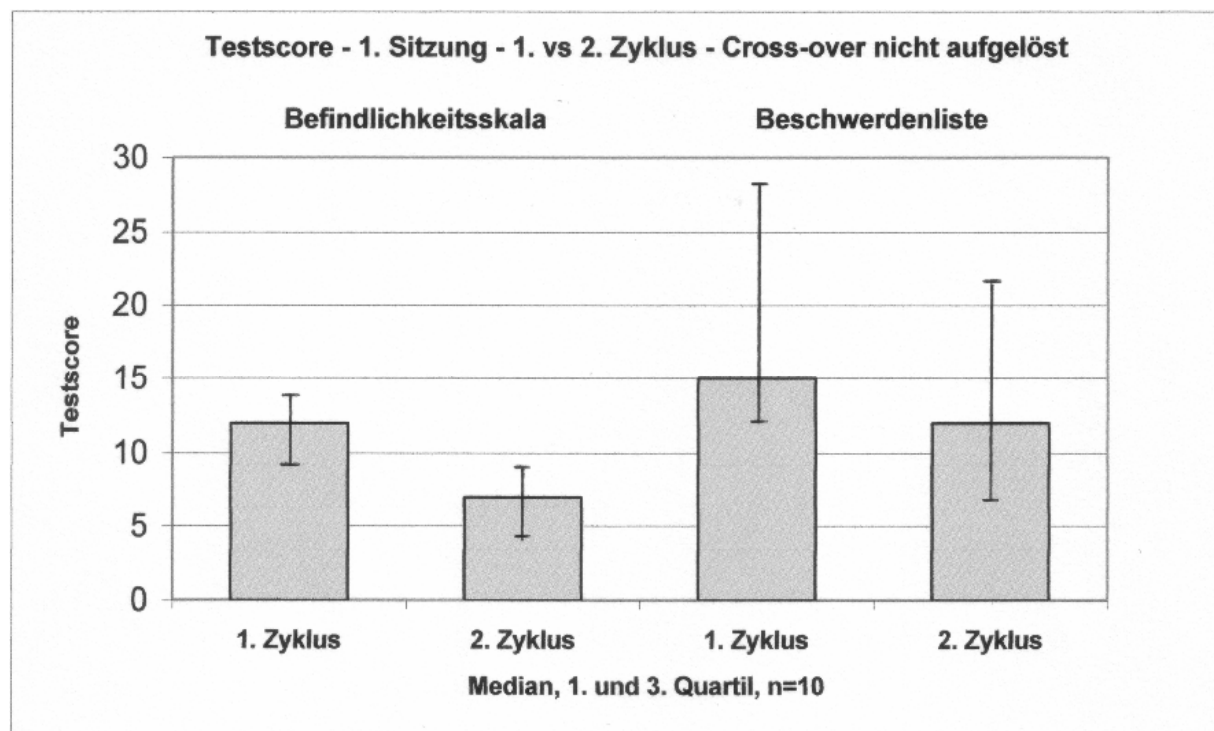


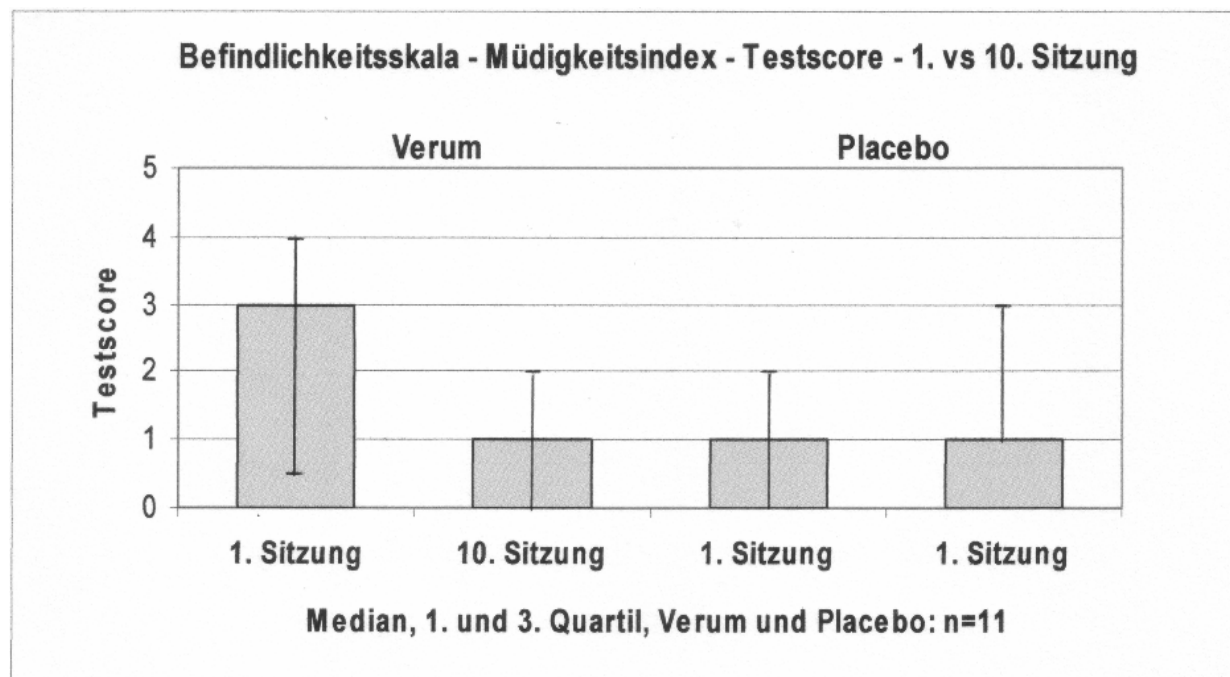
Tabelle 27 (4.1.3.a) mit Diagramm: Befindlichkeitsskala - Müdigkeitsindex¹⁰ - Testscore – Verum/Placebo, n=11;

Befindlichkeitsskala – Müdigkeitsindex ¹⁰ - Testscore - Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	4	0	1	0*	0*
2	4	2	2	2	3
3	3	1	3	2	5
4	0*	0*	4	0	1
5	3	2	5	1	3
6	5	4	6	6	2
7	0*	0*	7	1*	1*
8	4	1	8	0	1
9	2	4	9	2	1
10	0*	0*	10	0*	0*
			11	6	5
Median	3	1	Median	1	1
1. Quartil	0,5	0	1. Quartil	0	1
3. Quartil	4	2	3. Quartil	2	3
Rangsumme r+ = 4,0; Rangsumme r- = 24,0			Rangsumme r+ = 14,0; Rangsumme r- = 22,0		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: nicht signifikant			Testentscheidung: nicht signifikant		

*3 Wertepaare mit Nulldifferenz (4, 7, 10);

*3 Wertepaare mit Nulldifferenz (1, 7, 10);

Diagramm zu Tabelle 27: links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung, n=11;



¹⁰ Der Müdigkeitsindex beschränkt sich bei der Befindlichkeitsskala auf die Items 11, 14, 19, 27 (dir. Bezug zur „Müdigkeit“).

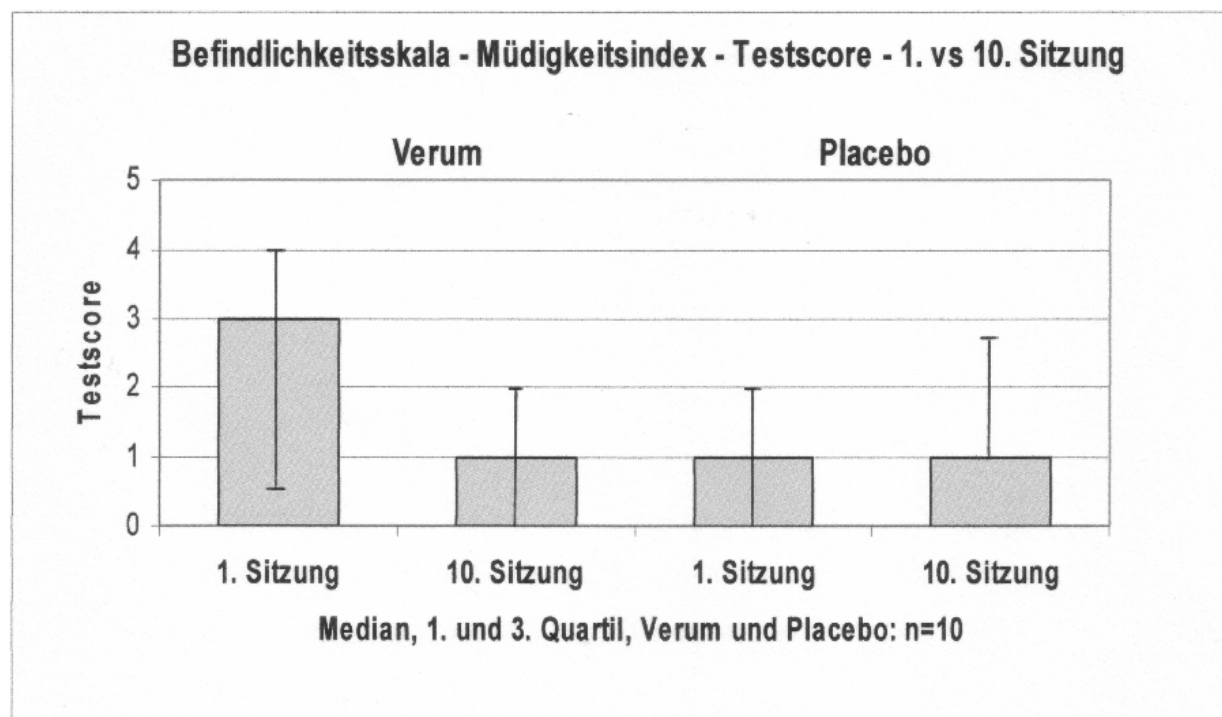
Tabelle 28 (4.1.3.b) mit Diagramm: Befindlichkeitsskala - Müdigkeitsindex¹⁰ - Testscore - Verum/Placebo, n=10;

Befindlichkeitsskala – Müdigkeitsindex ¹⁰ - Testscore - Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	4	0	1*	0	0
2	4	2	2	2	3
3	3	1	3	2	5
4	0	0	4	0	1
5	3	2	5	1	3
6	5	4	6	6	2
7	0*	0	7*	1	1
8	4	1	8	0	1
9	2	4	9	2	1
10	0*	0	10*	0	0
Median	3	1	Median	1	1
1. Quartil	0,5	0	1. Quartil	0	1
3. Quartil	4	2	3. Quartil	2	2,75
Rangsumme r+ = 4,0; Rangsumme r- = 24,0			Rangsumme r+ = 18,5; Rangsumme r- = 9,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: nicht signifikant			Testentscheidung: nicht signifikant		

*2 Wertepaare mit Nulldifferenz (7, 10);

*3 Wertepaare mit Nulldifferenz (1, 7, 10);

Diagramm zu Tabelle 28: links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung, n=10;



¹⁰ Der Müdigkeitsindex beschränkt sich bei der Befindlichkeitsskala auf die Items 11, 14, 19, 27;

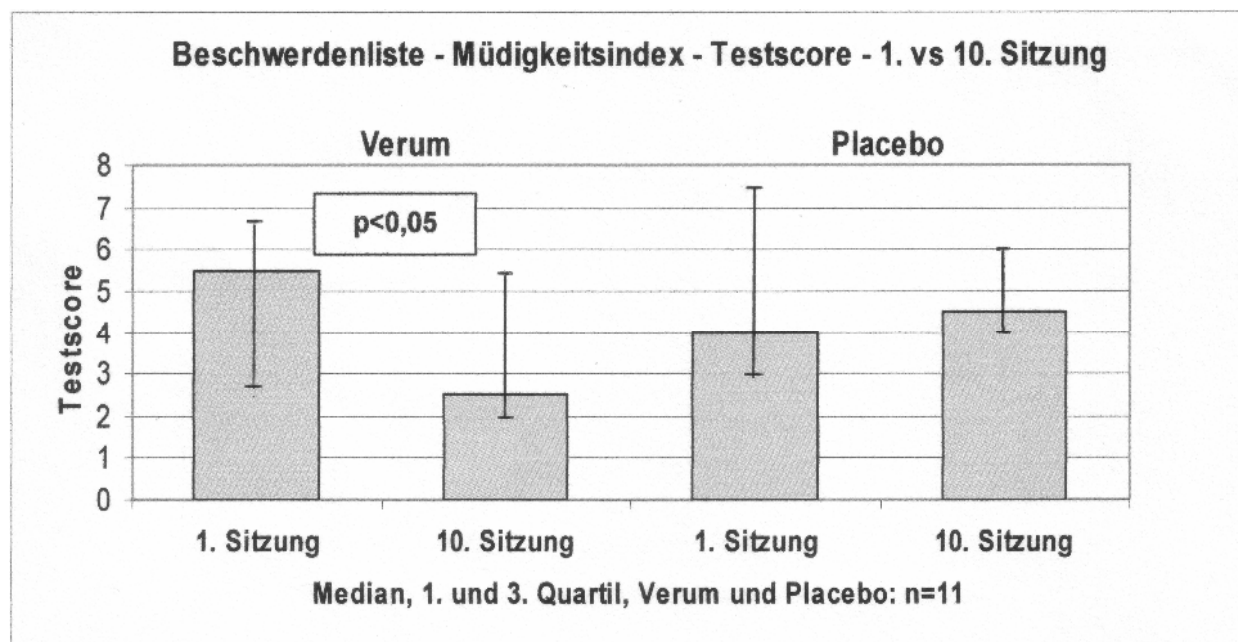
Tabelle 29 (4.1.4.a) mit Diagramm: Beschwerdenliste - Müdigkeitsindex¹¹ - Testscore - Verum und Placebo, n=11;

Beschwerdenliste – Müdigkeitsindex¹¹ - Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	6	2	1	1	2
2	7*	7	2	9*	9
3	5	2	3	5	7
4	6	1	4	0	6
5	5	4	5	4	5
6	8*	8	6	12	6
7	2*	2	7	4*	4
8	9	6	8	6	4
9	2	3	9	2	4
10	0*	0	10	4	2
			11	9	5
Median	5,5	2,5	Median	4	4,5
1. Quartil	2,75	2	1. Quartil	3	4
3. Quartil	6,75	5,5	3. Quartil	7,5	6
Rangsumme r+ = 1,5; r- = 19,5			Rangsumme r+ = 24,5; r- = 20,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant p = 0,030			Testentscheidung: nicht signifikant		

*4 Wertepaare mit Nulldifferenz (2, 6, 7, 10);

* 2 Wertepaare mit Nulldifferenz (2, 7);

Diagramm zu Tabelle 29: links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung; n=11;



¹¹ Der Müdigkeitsindex beschränkt sich bei der Beschwerdenliste auf die Items 2, 10, 14, 16 mit direktem Bezug

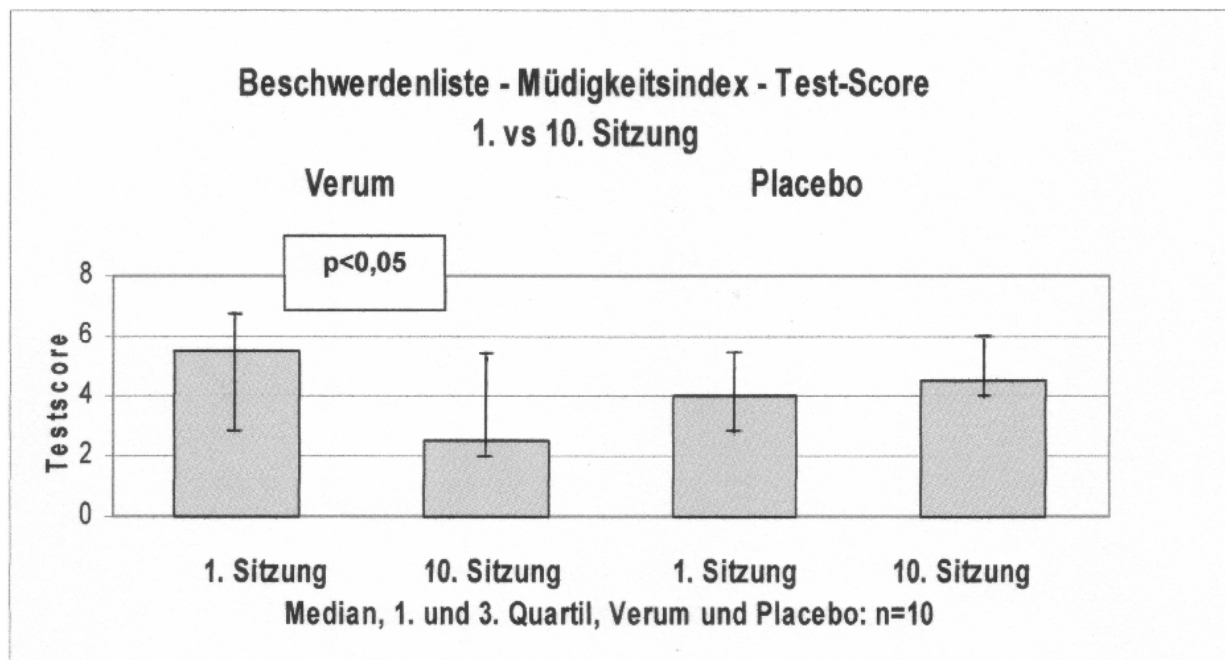
Tabelle 30 (4.1.4.b): Beschwerdenliste – Müdigkeitsindex¹¹ - Testscore - Verum und Placebo, n=10;

Beschwerdenliste – Müdigkeitsindex ¹¹ - Testscore – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	1. Sitzung	10. Sitzung	Patient	1. Sitzung	10. Sitzung
1	6	2	1	1	2
2	7*	7	2	9**	9
3	5	2	3	5	7
4	6	1	4	0	6
5	5	4	5	4	5
6	8*	8	6	12	6
7	2*	2	7	4**	4
8	9	6	8	6	4
9	2	3	9	2	4
10	0*	0	10	4	2
Median	5,5	2,5	Median	4	4,5
1. Quartil	2,75	2	1. Quartil	2,5	4
3. Quartil	6,75	5,5	3. Quartil	5,75	6
Rangsumme r+ = 1,5; r- = 19,5			Rangsumme r+ = 19,5; r- = 16,5		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant p = 0,030			Testentscheidung: nicht signifikant		

* 4 Wertepaare mit Nulldifferenz (2, 6, 7, 10);

** 2 Wertepaare mit Nulldifferenz (2, 7);

Diagramm zu Tabelle 30: links Verum-, rechts Placebo-Zyklus, jeweils 1. und 10. Sitzung, n=10;



zum Kriterium Müdigkeit (siehe S. 63).

¹¹ Der so genannte Müdigkeitsindex beschränkt sich bei der Beschwerdenliste auf die Items 2, 10, 14, 16 mit direktem Bezug zur Müdigkeit (siehe S. 63).

4.2 16-Punkte-Messung

Erfasst wurden jeweils 50 Spektren an 16 verschiedenen Hautpunkten des radialen Handrückens jedes Patienten (siehe auch Kap. 3.5, S. 54). Es wurden jeweils die 1. und 10. Sitzung der Verum- und Placebo-phase verglichen.

Dargestellt werden jeweils die intrakapilläre Hämoglobin-Oxygenierung („Oxygenierung“), die intrakapilläre relative Hämoglobin-Konzentration („relative Hämoglobin-Konzentration“) und der intrakapilläre Sauerstoffgehalt („O₂-Gehalt“).

16-Punkte-Messung – 1. vs 10. Sitzung – Verum und Placebo

Ergebnistabelle (Tabelle 31) : 16-Punkte-Messung: Vergleich von Oxygenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt der 1. und 10. Sitzung, getrennt für O₃- und O₂-Phase:

Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	1. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
16-Punkte-Messung	Oxygenierung (4.2.1)	Ozon: 1. Sitzung	51,22	45,21	56,07	keine
		10. Sitzung	51,64	48,10	54,52	
		Sauerstoff: 1. Sitzung	49,24	45,95	53,21	keine
		10.Sitzung	47,77	47,35	50,77	
	rel. Hb-Konzentration (4.2.2)	Ozon: 1. Sitzung	1,00	0,64	1,27	keine
		10. Sitzung	1,18	0,92	1,94	
	Sauerstoff: 1. Sitzung	1,56	1,24	1,61	keine	
	10.Sitzung	1,40	1,26	1,58		
O ₂ -Gehalt (4.2.3)	Ozon: 1. Sitzung	9,83	6,06	14,08	keine	
	10. Sitzung	10,14	9,48	20,20		
	Sauerstoff: 1. Sitzung	13,97	10,32	18,18	keine	
	10.Sitzung	13,26	11,40	16,81		

4.2.1 16-Punkte-Messung – Oxigenierung – 1. vs 10. Sitzung – Verum und Placebo

Tabelle 32 (4.2.1): Oxigenierung in % \pm Standardabw. - Verum vs Placebo - jeweils 16 Hautpunkte à 50 Spektren (= 800 Spektren/Patient);

16-Punkte-Messung – Oxigenierung – Verum vs Placebo – Wilcoxon-Test				
Patient Nr.	V e r u m		P l a c e b o	
	1. Sitzung	10. Sitzung	1. Sitzung	10. Sitzung
1	- *	- *	44,37 \pm 8,84	39,86 \pm 7,30
2	44,23 \pm 4,80	49,73 \pm 7,19	52,15 \pm 9,23	47,41 \pm 8,21
3	56,07 \pm 7,23	54,52 \pm 7,57	57,71 \pm 7,18	- *
4	59,86 \pm 3,85	48,10 \pm 6,15	46,33 \pm 7,15	53,19 \pm 5,06
5	56,19 \pm 6,90	53,84 \pm 8,18	45,90 \pm 9,72	51,10 \pm 9,83
6	28,97** \pm 9,14	40,32 \pm 8,76	52,80 \pm 7,44	49,73 \pm 8,30
7	50,92 \pm 9,59	63,48 \pm 5,50	53,34 \pm 9,33	50,77 \pm 9,80
8	45,21 \pm 5,34	30,36 \pm 6,80	46,08 \pm 7,39	47,35 \pm 9,57
9	55,43 \pm 7,67	51,64 \pm 9,10	33,42 \pm 9,77	47,77 \pm 8,29
10	51,22 \pm 8,37	55,09 \pm 8,01	55,48 \pm 6,74	45,97 \pm 9,67
Median	51,22	51,64	49,24	47,77
1. Quartil	45,21	48,10	45,95	47,35
3. Quartil	56,07	54,52	53,21	50,77
	Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$	
	Testentscheidung : nicht signifikant		Testentscheidung : nicht signifikant	

* Die fehlenden Werte beruhen auf zerstörten bzw. schadhafte Dateien; ** möglicherweise Fehlmessung

4.2.2 16-Punkte-Messung – rel. Hb-Konzentration – 1. vs 10. Sitzung – Verum und Placebo

Tabelle 33 (4.2.2): Relative Hb-Konzentration \pm Standardabw. - Verum vs Placebo - jeweils 16 Hautpunkte à 50 Spektren (=800 Spektren/Patient);

16-Punkte-Messung - relative Hämoglobin-Konzentration - Verum vs Placebo				
Patient Nr.	Verum		Placebo	
	1. Sitzung	10. Sitzung	1. Sitzung	10. Sitzung
1	- *	- *	1,15 \pm 0,40	1,26 \pm 0,47
2	1,09 \pm 0,18	0,92 \pm 0,28	2,13 \pm 1,00	1,38 \pm 0,41
3	0,54 \pm 0,23	0,93 \pm 0,23	1,61 \pm 0,43	- *
4	1,00 \pm 0,28	2,10 \pm 1,15	1,51 \pm 0,45	1,58 \pm 0,44
5	2,02 \pm 1,03	0,88 \pm 0,26	1,52 \pm 0,46	2,50 \pm 0,60
6	0,53 \pm 0,14	1,18 \pm 0,27	0,87 \pm 0,33	0,63 \pm 0,18
7	1,81 \pm 0,74	1,94 \pm 0,61	1,59 \pm 0,48	1,48 \pm 0,52
8	0,64 \pm 0,18	0,46 \pm 0,18	1,00 \pm 0,24	1,40 \pm 0,44
9	1,27 \pm 0,36	1,69 \pm 0,72	1,59 \pm 0,48	2,44 \pm 0,79
10	0,96 \pm 0,28	2,15 \pm 0,70	1,90 \pm 0,63	1,24 \pm 0,38
Median	1,00	1,18	1,56	1,40
1. Quartil	0,64	0,92	1,24	1,26
3. Quartil	1,27	1,94	1,61	1,58
	Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$	
	Testentscheidung : nicht signifikant		Testentscheidung : nicht signifikant	

* Die fehlenden Werte beruhen auf zerstörten bzw. schadhafte Dateien;

4.2.3 16-Punkte-Messung - O₂-Gehalt - 1. vs 10. Sitzung - Verum und Placebo

Tabelle 34 (4.2.3): O₂-Gehalt in ml O₂/ml Gewebe - Verum vs Placebo - jeweils 16 Hautpunkte à 50 Spektren (= 800 Spektren/Patient);

16-Punkte-Messung - O ₂ -Gehalt - Verum vs Placebo - Wilcoxon-Test				
Patient Nr.	V e r u m		P l a c e b o	
	1. Sitzung	10. Sitzung	1. Sitzung	10. Sitzung
1	- *	- *	10,21	10,04
2	9,64	9,15	22,22	13,09
3	6,06	10,14	18,58	- *
4	11,97	20,20	13,99	16,81
5	22,70	9,48	13,95	25,55
6	3,07	9,52	9,19	6,27
7	18,43	24,63	16,96	15,03
8	5,79	2,79	9,22	13,26
9	14,08	17,45	10,63	23,31
10	9,83	23,69	21,08	11,40
Median	9,83	10,14	13,97	13,26
1. Quartil	6,06	9,48	10,32	11,40
3. Quartil	14,08	20,20	18,18	16,81
	Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$	
	Testentscheidung : nicht signifikant		Testentscheidung : nicht signifikant	

* Die fehlenden Werte beruhen auf zerstörten bzw. schadhaften Dateien;

4.3 Oxigenierung und relative Hämoglobin-Konzentration – Vergleich von Verum und Placebo

In der tabellarischen Darstellung der Ergebnisse (Tabellen 35 bis 43) sind die signifikanten Unterschiede beim Vergleich von Verum und Placebo in den drei Phasen Blutentnahme, Transfusion, Nachbeobachtung bzw. deren Gegenüberstellung mit je 4 Doppeltabellen erfasst und zusätzlich in Diagrammen dargestellt. Die Mittelwerte und Quartile finden sich dann jeweils in der 2. bzw. 3. Spalte, die Testentscheidung über die Signifikanz der Wertepaar Differenz auf dem angegebenen Niveau α zeigt jeweils die letzte Zeile. Die nicht signifikanten Ergebnisse der Vergleiche werden hier nicht dargestellt.

Zum direkten Vergleich werden Verum- (Ozon) und Placebozyklus (Sauerstoff) bzw. die Sitzungen 1 und 10 paarweise nebeneinander dargestellt. Die in den Tabellen fehlenden Mediane beruhen auf der Eliminierung von unvollständigen Files.

4.3.1 Ergebnistabelle (Tabelle 35a): Vergleich von Oxigenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt der 1. und 10. Sitzung, getrennt für O₃- und O₂-Phase - Blutentnahmephase (Diagramm S. 95):

Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	1. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Blutentnahmephase	Oxigenierung in %	Ozon: 1. Sitzung	42,86	36,19	52,06	keine
		10. Sitzung	52,27	44,27	54,47	
		Sauerstoff: 1. Sitzung	44,07	35,62	49,58	keine
		10. Sitzung	44,28	39,48	49,84	
	rel. Hb-Konzentration	Ozon: 1. Sitzung	0,91	0,65	1,17	keine
		10. Sitzung	0,81	0,62	1,61	
		Sauerstoff: 1. Sitzung	1,29	1,04	2,14	keine
		10. Sitzung	1,80	0,93	1,91	
	Oxigenierung in %	1. Sitzung: Ozon	42,86	36,19	52,08	keine
		Sauerstoff	44,07	35,62	49,58	
		10. Sitzung: Ozon	52,27	44,27	54,47	keine
		Sauerstoff	44,28	39,48	49,84	
rel. Hb-Konzentration	1. Sitzung: Ozon	0,91	0,65	1,17	p=0,025; (Tabelle 36)	
	Sauerstoff	1,29	1,04	2,14		
	10. Sitzung: Ozon	0,81	0,62	1,61	keine	
	Sauerstoff	1,80	0,93	1,91		

bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle (Tab.-Nr. genannt in letzter Spalte);

4.3.2 Ergebnistabelle (Tabelle 35b): Vergleich von Oxigenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt der 1. und 10. Sitzung, getrennt für O₃- und O₂-Phase - Transfusionsphase. :

Trans- fusions- phase	Oxigenierung in %	Ozon:	1. Sitzung	42,78	39,22	51,34	keine
			10. Sitzung	47,70	40,53	51,29	
		Sauerstoff:	1. Sitzung	43,57	36,76	45,61	keine
			10.Sitzung	41,97	40,83	43,95	
	rel. Hb- Konzentration	Ozon:	1. Sitzung	0,96	0,61	1,19	keine
			10. Sitzung	0,78	0,50	1,26	
		Sauerstoff:	1. Sitzung	1,44	0,84	1,98	keine
			10.Sitzung	1,28	1,10	1,93	
	Oxigenierung in %	1. Sitzung:	Ozon	42,78	39,22	51,34	keine
			Sauerstoff	43,57	36,76	45,61	
		10. Sitzung:	Ozon	47,70	40,53	51,29	keine
			Sauerstoff	41,97	40,83	43,95	
rel. Hb- Konzentration	1. Sitzung:	Ozon	0,96	0,61	1,19	keine	
		Sauerstoff	1,44	0,84	1,98		
	10. Sitzung:	Ozon	0,78	0,50	1,26	keine	
		Sauerstoff	1,28	1,10	1,93		

bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle (Tab.-Nr. genannt in letzter Spalte);

4.3.3 Ergebnistabelle (Tabelle 35c): Vergleich von Oxigenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt der 1. und 10. Sitzung, getrennt für O₃- und O₂-Phase - Nachbeobachtungsphase:

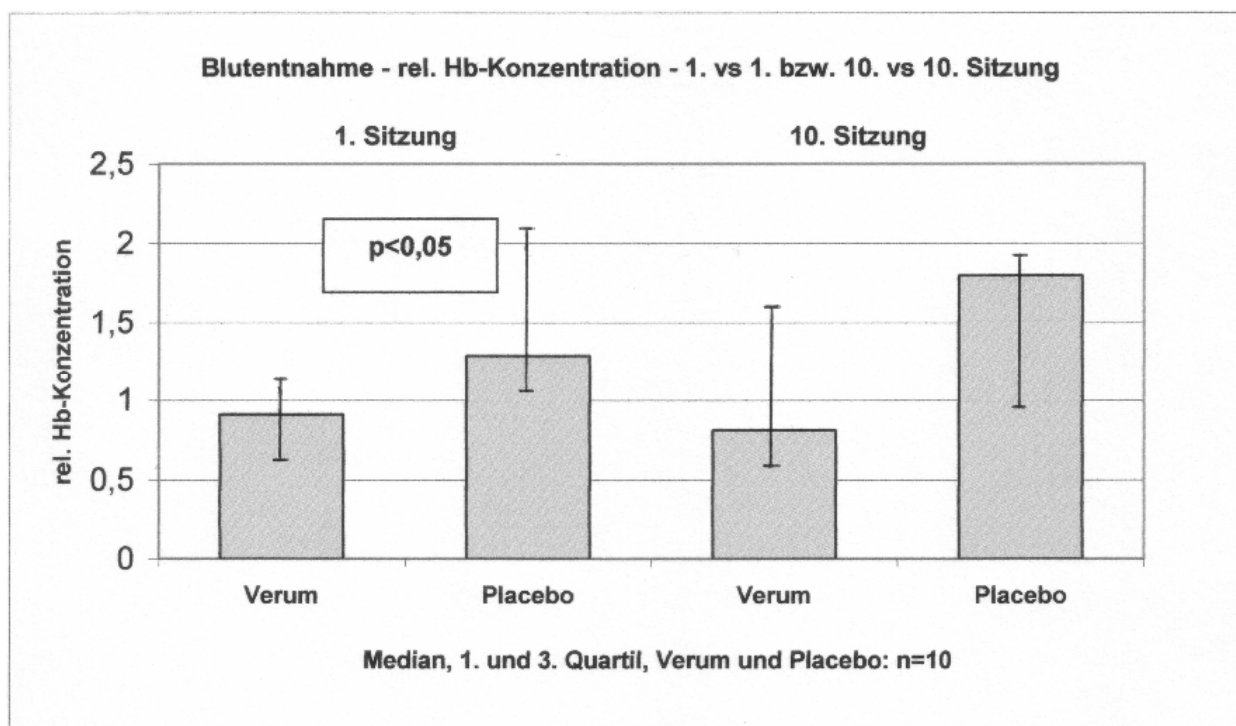
Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	1. Quartil	3. Quartil	Signifikanz
Nach- beob- achtungs- phase	Oxigenierung in %	Ozon: 1. Sitzung	47,63	38,15	54,95	keine
		10. Sitzung	45,92	41,36	51,75	
		Sauerstoff: 1. Sitzung	44,31	39,45	50,44	keine
		10. Sitzung	41,90	39,64	43,06	
	rel. Hb- Konzentration	Ozon: 1. Sitzung	0,93	0,67	1,20	keine
		10. Sitzung	0,94	0,46	1,71	
		Sauerstoff: 1. Sitzung	1,50	0,91	1,95	keine
		10. Sitzung	1,46	0,90	2,12	
	Oxigenierung in %	1. Sitzung: Ozon	47,63	38,15	54,95	keine
		Sauerstoff	43,83	39,45	50,44	
		10. Sitzung: Ozon	45,92	41,36	51,75	keine
		Sauerstoff	41,90	39,64	43,00	
rel. Hb- Konzentration	1. Sitzung: Ozon	0,93	0,67	1,20	keine	
	Sauerstoff	1,50	0,91	1,95		
	10. Sitzung: Ozon	0,94	0,46	1,71	keine	
	Sauerstoff	1,46	0,90	2,12		

bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle (Tab.-Nr. genannt in letzter Spalte);

Tabelle 36 (4.3.1) mit Diagramm: Vergleich der relativen Hb-Konzentration zwischen Verum- und Placebo-Zyklus in der jeweils 1. Sitzung und 10. Sitzung in der Blutentnahmephase;

Blutentnahmephase - relative Hb-Konzentration (Mittelwerte \pm Standardabw.) - Verum vs Placebo					
Sitzung (Verum vs Placebo)			10. Sitzung (Verum vs Placebo)		
Patient	Verum	Placebo	Patient	Verum	Placebo
1	0,88 \pm 0,02	-	1	1,59 \pm 0,08	2,50 \pm 0,13
2	1,12 \pm 0,11	1,37 \pm 0,38	2	0,81 \pm 0,08	1,80 \pm 0,14
3	0,46 \pm 0,04	1,96 \pm 0,15	3	-	3,97 \pm 0,39
4	1,50 \pm 0,05	0,71 \pm 0,06	4	0,65 \pm 0,09	1,83 \pm 0,15
5	3,65 \pm 0,23	-	5	0,62 \pm 0,11	1,91 \pm 0,08
6	0,22 \pm 0,10	1,20 \pm 0,13	6	0,36 \pm 0,04	0,93 \pm 0,09
7	1,19 \pm 0,10	3,25 \pm 0,99	7	1,94 \pm 0,11	-
8	0,93 \pm 0,06	1,03 \pm 0,34	8	0,38 \pm 0,02	1,33 \pm 0,05
9	0,61 \pm 0,06	1,04 \pm 0,11	9	1,61 \pm 0,28	0,83 \pm 0,11
10	0,76 \pm 0,27	2,67 \pm 0,59	10	3,67 \pm 2,26	0,92 \pm 0,10
Median	0,91	1,29	Median	0,81	1,80
1. Quartil	0,65	1,04	1. Quartil	0,62	0,93
3. Quartil	1,17	2,14	3. Quartil	1,61	1,91
Rangsumme $r+= 4$, $r-= 32$					
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; $p= 0,025$			Testentscheidung: nicht signifikant		

Diagramm zu Tabelle 36: Blutentnahmephase, relative Hb-Konzentration; Verum vs Placebo; links 1. Sitzung (vorher), rechts 10. Sitzung (nachher);



4.3.4 Ergebnistabelle (Tabelle 37): Vergleich von Blutentnahme- und Nachbeobachtungsphase hinsichtlich Oxigenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt, getrennt für 1. und 10. Sitzung, jeweils für O₃- und O₂-Phase:

Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	Q 1	Q3	Signifikanz
Oxigenierung in % (4.3.4.1)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	42,86	36,19	52,08	keine
		Nachbeobachtung	47,63	38,15	54,95	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	44,07	35,62	49,58	keine
		Nachbeobachtung	44,31	39,45	50,44	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	52,27	44,27	54,47	p=0,033 (Tabelle 40)	
	Nachbeobachtung	45,92	41,36	51,75		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	44,28	39,48	49,84	p=0,033 (Tabelle 40)	
	Nachbeobachtung	41,90	39,64	43,06		
relative Hb- Konzentration (4.3.4.2)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	0,91	0,65	1,17	keine
		Nachbeobachtung	0,93	0,67	1,20	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	1,29	1,04	2,14	keine
		Nachbeobachtung	1,50	0,91	1,95	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	0,81	0,62	1,61	keine	
	Nachbeobachtung	0,94	1,46	1,71		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	1,80	0,93	1,91	keine	
	Nachbeobachtung	1,46	0,90	2,12		
O ₂ -Gehalt in mg/ml (4.3.4.3)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	8,75	4,57	12,05	keine
		Nachbeobachtung	9,01	6,03	12,55	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	11,18	7,21	22,29	keine
		Nachbeobachtung	12,63	8,17	18,70	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	9,63	7,63	10,66	keine	
	Nachbeobachtung	9,06	7,15	11,08		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	11,04	7,82	15,63	keine	
	Nachbeobachtung	9,93	6,79	15,49		

Q1 = 1. Quartil, Q3 = 3. Quartil; bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle (Tab.-Nr. genannt in letzter Spalte);

4.3.5 Ergebnistabelle (Tabelle 38): Vergleich von Blutentnahme- und Transfusionsphase hinsichtlich Oxigenierung, rel. Hb-Konzentration und O₂-Gehalt, getrennt für 1. und 10. Sitzung, jeweils für O₃- und O₂-Phase

Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	Q 1	Q 3	Signifikanz
Oxigenierung in % (4.3.5.1)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	42,86	36,19	52,08	keine
		Transfusion	42,78	39,22	51,34	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	44,07	35,62	49,58	keine
		Transfusion	43,57	36,76	45,61	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	52,27	44,27	54,47	p=0,025; (Tabelle 41)	
	Transfusion	47,70	40,53	51,29		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	44,28	39,48	49,84	keine	
	Transfusion	41,97	40,83	43,95		
relative Hb- Konzentration (4.3.5.2)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	0,91	0,65	1,17	keine
		Transfusion	0,96	0,61	1,19	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	1,29	1,04	2,14	keine
		Transfusion	1,44	0,48	1,98	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	0,81	0,62	1,61	p=0,033; (Tabelle 42)	
	Transfusion	0,78	0,50	1,26		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	1,80	0,93	1,91	keine	
	Transfusion	1,28	1,10	1,93		
O ₂ -Gehalt in mg/ml (4.3.5.3)	Ozon	1. Sitzung: Blutentnahme	8,75	4,57	12,05	keine
		Transfusion	8,48	4,37	12,46	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Blutentnahme	11,18	7,21	22,28	keine
		Transfusion	12,09	6,53	21,31	
Ozon	10. Sitzung: Blutentnahme	6,97	6,44	20,15	p=0.025; (Tabelle 43)	
	Transfusion	6,30	5,05	15,04		
Sauerstoff	10. Sitzung: Blutentnahme	12,97	9,02	19,44	keine	
	Transfusion	9,84	8,05	16,62		

Q1 = 1. Quartil, Q3 = 3. Quartil; bei Signifikanz Verweis auf Darstellung in nachfolgender Tabelle (Tab.-Nr. genannt in letzter Spalte);

4.3.6 Ergebnistabelle (Tabelle 39): Vergleich von Transfusions- und Nachbeobachtungsphase hinsichtlich Oxigenierung, rel. Hb.-Konzentration und O₂-Gehalt, getrennt für 1. und 10. Sitzung, jeweils für O₃- und O₂-Phase:

Testreihe	Messgröße	Vergleich	Median	Q 1	Q 3	Signifikanz
Oxigenierung in % (4.3.6.1)	Ozon	1. Sitzung: Transfusion	42,78	39,22	51,34	keine
		Nachbeobachtung	47,63	38,15	54,95	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Transfusion	43,57	36,76	45,61	keine
		Nachbeobachtung	44,31	39,45	50,44	
relative Hb- Konzentration (4.3.6.2)	Ozon	10. Sitzung: Transfusion	47,70	40,53	51,29	keine
		Nachbeobachtung	45,92	41,36	51,75	
	Sauerstoff	10. Sitzung: Transfusion	41,97	40,83	43,95	keine
		Nachbeobachtung	41,90	39,64	43,64	
relative Hb- Konzentration (4.3.6.2)	Ozon	1. Sitzung: Transfusion	0,96	0,61	1,19	keine
		Nachbeobachtung	0,93	0,67	1,20	
	Sauerstoff	1. Sitzung: Transfusion	1,44	0,84	1,98	keine
		Nachbeobachtung	1,50	0,91	1,95	
relative Hb- Konzentration (4.3.6.2)	Ozon	10. Sitzung: Transfusion	0,78	0,50	1,26	keine
		Nachbeobachtung	0,94	1,46	1,71	
	Sauerstoff	10. Sitzung: Transfusion	1,28	1,10	1,93	keine
		Nachbeobachtung	1,46	0,90	2,12	

Q1=1. Quartil, Q3=3. Quartil;

Tabelle 40 (4.3.4.1): Vergleich der Oxigenierung zwischen Blutentnahme- und Nachbeobachtungsphase in der jeweils 10. Sitzung des Verum-Zyklus und des Placebo-Zyklus;

Blutentnahme gegen Nachbeob. - Oxigenierung - (10. Sitzung) - Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	Blutentnahme	Nachbeobachtung	Patient	Blutentnahme	Nachbeobachtung
1	52,27 ± 2,75	51,75 ± 2,40	1	39,48 ± 4,24	38,60 ± 3,55
2	43,01 ± 5,56	43,12 ± 5,78	2	51,19 ± 3,18	44,52 ± 6,53
3	-	-	3	43,88 ± 5,33	40,88 ± 5,59
4	53,31 ± 3,54	38,71 ± 12,71	4	44,28 ± 3,46	39,64 ± 3,66
5	51,95 ± 6,94	45,92 ± 6,02	5	58,84 ± 2,06	55,08 ± 3,51
6	42,29 ± 4,33	39,78 ± 5,76	6	45,99 ± 6,17	43,06 ± 6,12
7	65,49 ± 3,22	63,68 ± 3,67	7	-	-
8	54,47 ± 5,06	46,56 ± 3,57	8	36,55 ± 3,73	42,44 ± 3,53
9	62,58 ± 2,46	66,23 ± 2,38	9	38,96 ± 3,78	36,21 ± 2,98
10	44,27 ± 4,42	41,36 ± 5,57	10	49,84 ± 4,53	41,90 ± 3,78
Median	52,27	45,92	Median	44,28	41,90
1. Quartil	44,27	41,36	1. Quartil	39,48	39,64
3. Quartil	54,47	51,75	3. Quartil	49,84	43,06
Rangsumme r+ = 38,0; r- = 7,0			Rangsumme r+ = 38,0; r- = 7,0		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; p = 0,033			Testentscheidung: signifikant; p = 0,033		

Diagramm zu Tabelle 40: Blutentnahme vs Nachbeobachtung - Oxigenierung – 10. Sitzung (nachher); links Verum- rechts Placebo-Zyklus;

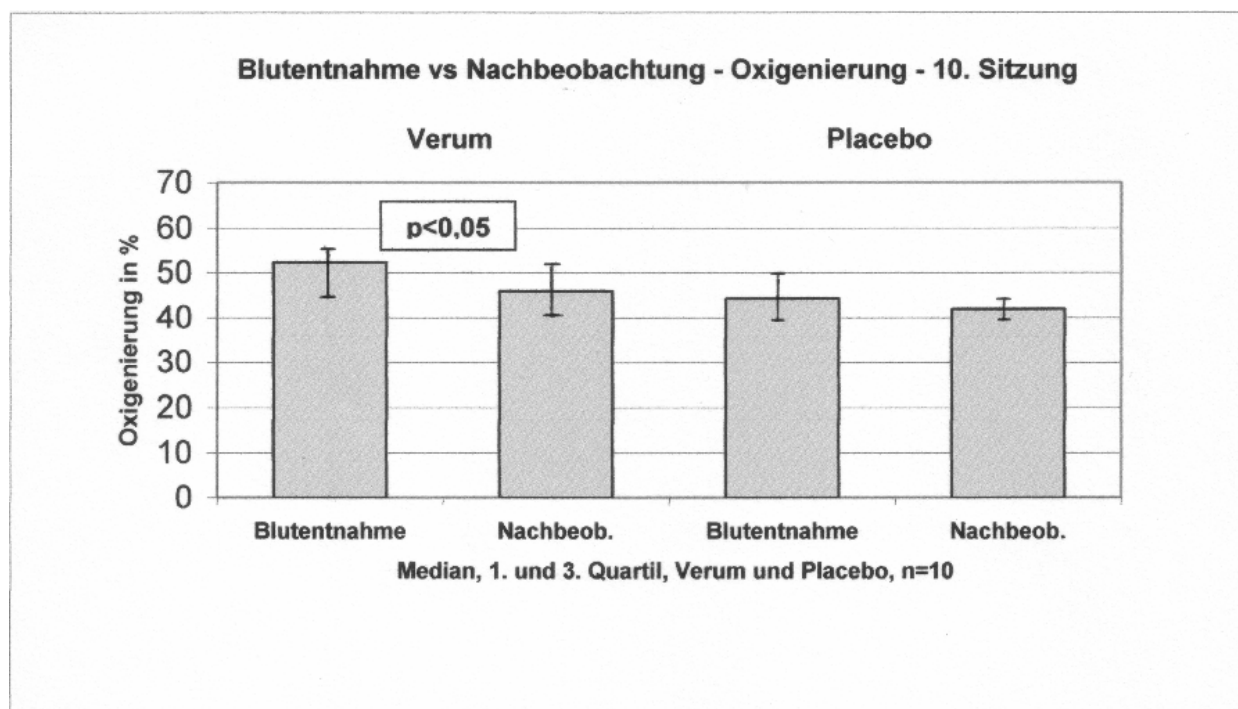


Tabelle 41 (4.3.5.1): Vergleich der Oxigenierung zwischen Blutentnahme- und Transfusionsphase in der jeweils 10. Sitzung des Verum-Zyklus und des Placebo-Zyklus;

Blutentnahme gegen Transfusion - Oxigenierung - (10. Sitzung) – Wilcoxon-Test					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	Blutentnahme	Transfusion	Patient	Blutentnahme	Transfusion
1	52,27 ± 2,75	51,29 ± 2,15	1	39,48 ± 4,24	36,90 ± 2,17
2	43,01 ± 5,56	40,53 ± 6,95	2	51,19 ± 3,18	42,08 ± 6,93
3	-	-	3	43,88 ± 5,33	44,41 ± 3,54
4	53,31 ± 3,54	47,70 ± 8,45	4	44,28 ± 3,46	41,52 ± 3,67
5	51,95 ± 6,94	50,51 ± 5,80	5	58,84 ± 2,06	58,68 ± 2,57
6	42,29 ± 4,33	40,07 ± 6,43	6	45,99 ± 6,17	41,97 ± 7,33
7	65,49 ± 3,22	64,47 ± 3,43	7	-	-
8	54,47 ± 5,06	44,50 ± 4,01	8	36,55 ± 3,73	40,83 ± 3,36
9	62,58 ± 2,46	65,37 ± 3,25	9	38,96 ± 3,78	38,47 ± 3,56
10	44,27 ± 4,42	40,01 ± 3,70	10	49,84 ± 4,53	43,95 ± 4,86
Median	52,27	47,70	Median	44,28	41,97
1. Quartil	44,27	40,53	1. Quartil	39,48	40,83
3. Quartil	54,47	51,29	3. Quartil	49,84	43,95
Rangsumme r+ = 39,0; r- = 6,0					
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; p = 0,025			Testentscheidung: nicht signifikant		

Diagramm zu Tabelle 41: Blutentnahme vs Transfusion, Oxigenierung, 10. Sitzung (nachher); links Verum- rechts Placebo-Zyklus;

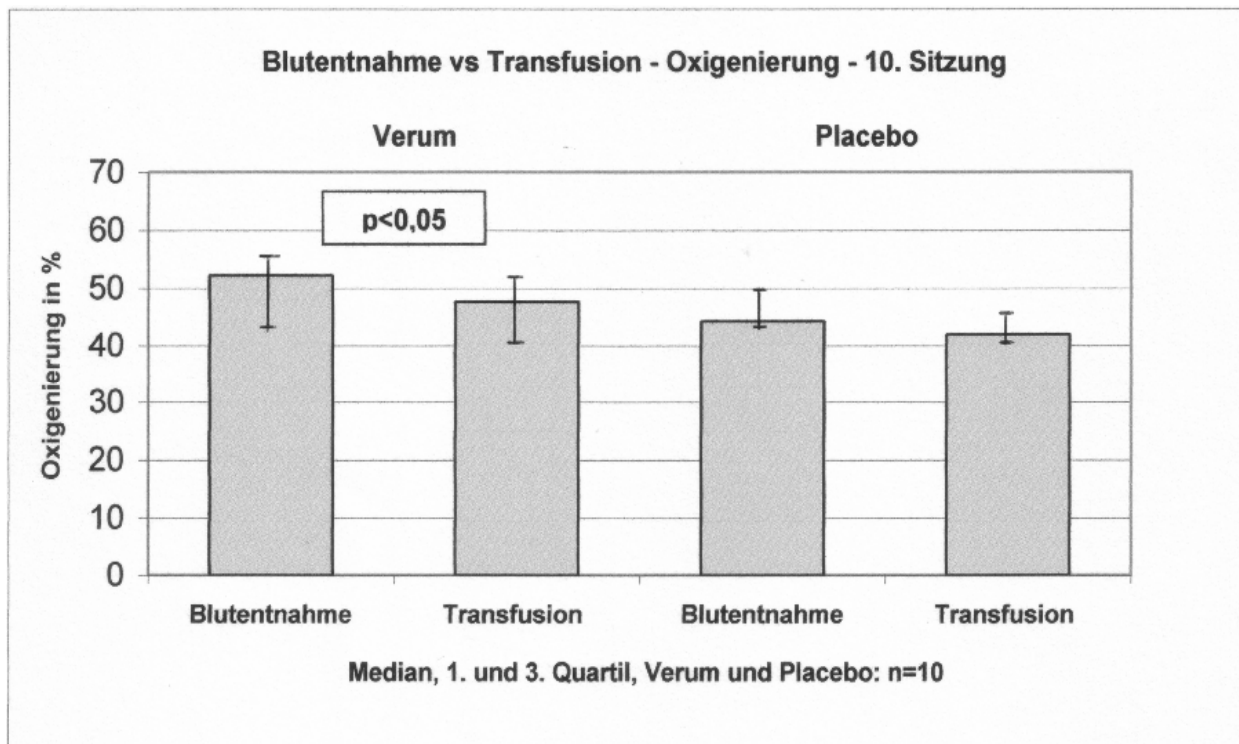


Tabelle 42 (4.3.5.2): Vergleich der relativen Hb-Konzentration zwischen Blutentnahme- und Transfusionsphase in der jeweils 10. Sitzung des Verum-Zyklus und des Placebo-Zyklus;

Blutentnahme gegen Transfusion - relative Hb-Konzentration – (10. Sitzung)					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	Blutentnahme	Transfusion	Patient	Blutentnahme	Transfusion
1	1,59 ± 0,08	1,74 ± 0,06	1	2,50 ± 0,13	2,40 ± 0,06
2	0,81 ± 0,08	0,78 ± 0,11	2	1,80 ± 0,14	0,78 ± 0,16
3	-	-	3	3,97 ± 0,39	3,00 ± 0,36
4	0,65 ± 0,09	0,64 ± 0,11	4	1,83 ± 0,15	1,93 ± 0,14
5	0,62 ± 0,11	0,50 ± 0,05	5	1,91 ± 0,08	1,57 ± 0,17
6	0,36 ± 0,04	0,34 ± 0,08	6	0,93 ± 0,09	1,10 ± 0,10
7	1,94 ± 0,11	1,93 ± 0,14	7	-	-
8	0,38 ± 0,02	0,31 ± 0,03	8	1,33 ± 0,05	1,28 ± 0,10
9	1,61 ± 0,28	1,15 ± 0,10	9	0,83 ± 0,11	1,11 ± 0,17
10	3,67 ± 2,26	1,26 ± 0,49	10	0,92 ± 0,10	0,74 ± 0,09
Median	0,81	0,78	Median	1,80	1,28
1. Quartil	0,62	0,50	1. Quartil	0,93	1,10
3. Quartil	1,61	1,26	3. Quartil	1,91	1,93
Rangsumme r+ = 38,0; r- = 7,0					
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant; p = 0,033			Testentscheidung: nicht signifikant		

Diagramm zu Tabelle 42: Blutentnahme vs Transfusion, relative Hb-Konzentration, 10. Sitzung (nachher); links Verum-, rechts Placebo-Zyklus;

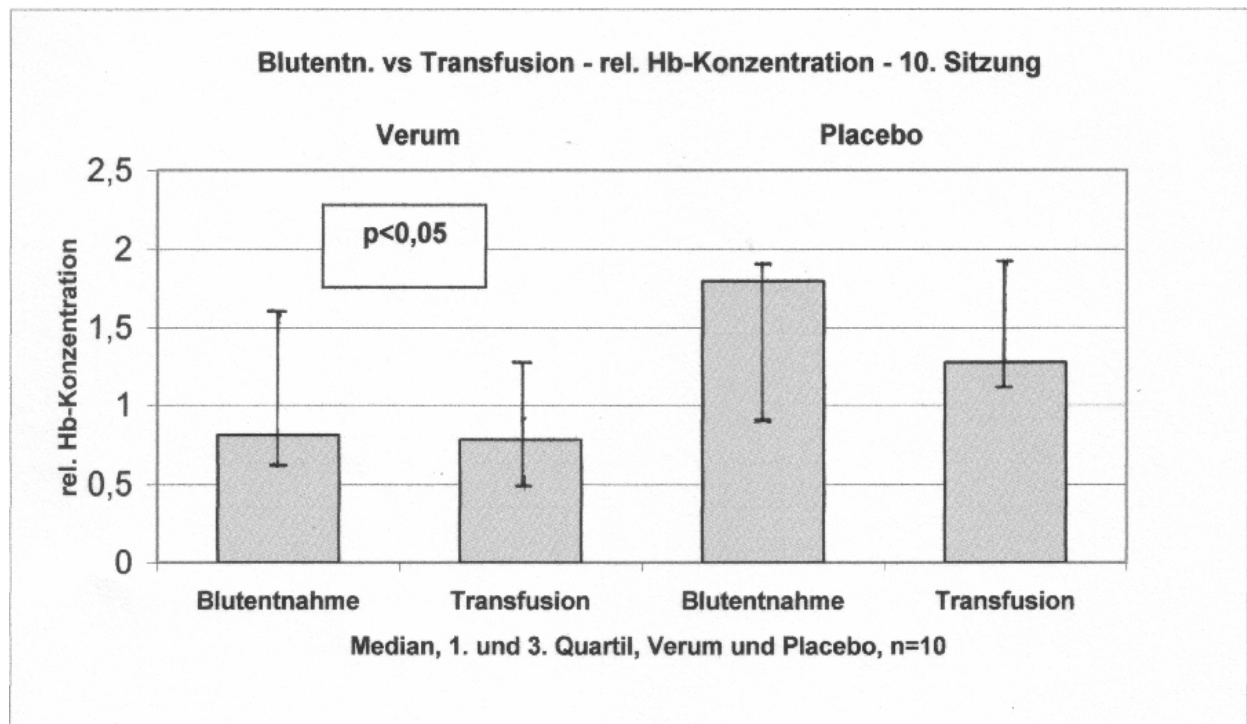
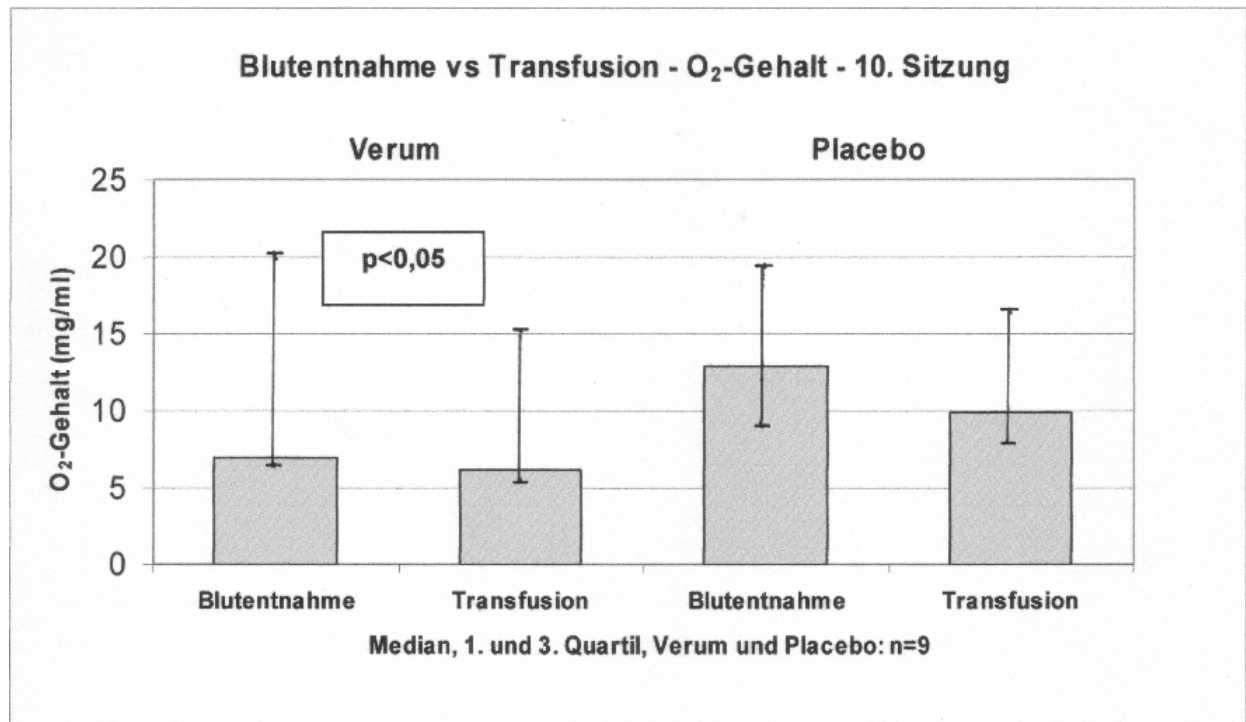


Tabelle 43 (4.3.5.3) mit Diagramm: Vergleich des O₂-Gehalts zwischen Blutentnahme- und Transfusionsphase in der jeweils 10. Sitzung des Verum-Zyklus und des Placebo-Zyklus;

Blutentnahme gegen Transfusion – O₂-Gehalt – (10. Sitzung)					
Ozon (Verum-Zyklus)			Sauerstoff (Placebo-Zyklus)		
Patient	Blutentnahme	Transfusion	Patient	Blutentnahme	Transfusion
1	16,61	17,85	1	19,74	17,70
2	6,97	6,30	2	18,42	6,56
3	-	-	3	34,84	26,64
4	6,93	6,11	4	16,21	16,02
5	6,44	5,05	5	22,48	18,43
6	3,04	2,72	6	8,55	9,23
7	25,41	24,89	7	-	-
8	4,14	2,76	8	9,72	10,45
9	20,15	15,04	9	6,47	8,54
10	32,49	10,08	10	9,17	6,50
Median	6,97	6,30	Median	12,97	9,84
1. Quartil	6,44	5,05	1. Quartil	9,02	8,05
3. Quartil	20,15	15,04	3. Quartil	19,44	16,62
Rangsumme r+ = 39,0; r- = 6,0;			Rangsumme r+ = 35,0; r- = 10,0;		
Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$			Gewähltes Signifikanzniveau $\alpha = 0,05$		
Testentscheidung: signifikant, p = 0,025			Testentscheidung: nicht signifikant		

Diagramm zu Tabelle 43: Blutentnahme vs Transfusion, O₂-Gehalt, 10. Sitzung (nachher);
Links Verum, rechts Placebo-Zyklus;



4.4 Laborergebnisse

In den folgenden Tabellen (Tab. 44-47) sind die Ergebnisse der Prüfung auf gleiche Verteilung der Stichprobenpaare (Wilcoxon-Test) dargestellt. Die Tabellen 44 und 45 vergleichen die Mittelwerte der einzelnen Laborparameter vor und nach dem jeweiligen Therapiezyklus: GEBO = Verum (O₃), GEBS = Placebo (O₂). In den Tabellen 46 und 47 werden die Laborwerte der 1. Sitzung (46) sowie die Werte der 10. Sitzung (47) der beiden Zyklen einander gegenübergestellt.

Tabelle 44: Standardlaborparameter;

Mittelwert x und Standardabweichung n; N=10	GEBO (O ₃) v o r Therapie	GEBO (O ₃) n a c h Therapie	Signifikanztest
Erythrozyten (10 ⁶ /μl)	4,9 ± 0,3	4,8 ± 0,4	n.s.
Leukozyten (10 ⁹ /μl)	5,7 ± 1,3	5,3 ± 1,1	n.s.
Thrombozyten (10 ⁹ /μl)	236,0 ± 29,1	239,0 ± 26,5	n.s.
Hämoglobin (g/dl)	14,4 ± 0,8	14,3 ± 0,8	n.s.
Hämatokrit (Vol%)	44,7 ± 2,2	44,2 ± 2,6	n.s.
Neutrophile (%)	57,2 ± 5,9	53,8 ± 7,7	n.s.
Lymphozyten (%)	30,6 ± 4,8	32,6 ± 7,0	n.s.
Monozyten (%)	6,4 ± 0,6	6,4 ± 0,5	n.s.
Eosinophile (%)	3,1 ± 1,6	3,6 ± 2,2	n.s.
Basophile (%)	1,0 ± 0,3	0,7 ± 0,3	n.s.
Glucose (mmol/l)	5,04 ± 2,41	4,43 ± 1,45	n.s.
Kreatinin (μmol/l)	79,6 ± 8,84	79,6 ± 8,84	n.s.
Harnsäure (mg/dl)	4,9 ± 1,0	5,2 ± 0,8	n.s.
Natrium (mmol/l)	137,4 ± 1,0	137,8 ± 1,3	n.s.
Kalium (mmol/l)	4,6 ± 0,3	4,6 ± 0,3	n.s.
AST (U/l)	10,0 ± 2,5	9,8 ± 3,2	n.s.
ALT (U/l)	13,2 ± 6,1	11,8 ± 6,2	↓; p<0,025
γ-GT (U/l)	24,0 ± 18,3	23,7 ± 17,5	n.s.
Triglyzeride (mmol/l)	2,10 ± 1,77	2,11 ± 0,66	n.s.
Gesamtcholesterin (mmol/l)	0,61 ± 0,84	6,86 ± 0,61	n.s.
β-Lipoprotein (mmol/l)	3,98 ± 0,75	4,18 ± 0,61	n.s.
β-Lipoprotein (%)	39,9 ± 5,9	42,9 ± 5,3	↑; p<0,025
prä-β-Lipoprotein (mmol/l)	0,48 ± 0,42	0,58 ± 0,49	↑; p<0,05
prä-β-Lipoprotein (%)	8,7 ± 8,7*	9,8 ± 8,2	n.s.
α-Lipoprotein (mmol/l)	1,50 ± 0,77	1,67 ± 0,23	n.s.
α-Lipoprotein (%)	51,7 ± 7,8	47,2 ± 6,7	↓; p<0,025

Zeichenerklärung: n.s. = nicht signifikant; p = Signifikanzniveau; ↑ = Anstieg, ↓ = Abfall; *8,73 ± 8,70;

Tabelle 45: Standardlaborparameter;

	GEBS (O ₂) v o r Therapie	GEBS (O ₂) n a c h Therapie	Signifikanztest
Erythrozyten (10 ⁶ /μl)	4,9 ± 0,4	4,7 ± 0,4	n.s.
Leukozyten (10 ⁹ /μl)	5,9 ± 1,4	6,1 ± 2,3	n.s.
Thrombozyten (10 ⁹ /μl)	239,2 ± 37,9	228,2 ± 38,6	n.s.
Hämoglobin (g/dl)	14,5 ± 1,0	14,1 ± 1,0	n.s.
Hämatokrit (Vol%)	45,0 ± 2,9	43,6 ± 3,6	n.s.
Neutrophile (%)	59,5 ± 9,8	56,8 ± 10,2	n.s.
Lymphozyten (%)	28,3 ± 7,5	29,0 ± 7,8	n.s.
Monozyten (%)	5,9 ± 1,0	6,1 ± 0,9	n.s.
Eosinophile (%)	3,1 ± 2,1	3,6 ± 1,9	n.s.
Basophile (%)	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,4	n.s.
Glucose (mmol/l)	5,00 ± 3,35	5,72 ± 30,0	n.s.
Kreatinin (μmol/l)	79,56 ± 8,84	70,72 ± 8,84	↓; p<0,01
Harnsäure (μmol/l)	315,3 ± 35,7	291,5 ± 4,9	n.s.
Natrium (mmol/l)	137,3 ± 2,6	135,0 ± 6,9	n.s.
Kalium (mmol/l)	4,8 ± 0,4	4,5 ± 0,4	↓; p<0,025
AST (U/l)	11,1 ± 2,5	11,8 ± 3,4	n.s.
ALT (U/l)	13,4 ± 6,2	15,0 ± 5,9	n.s.
γ-GT (U/l)	19,5 ± 8,8	25,0 ± 12,8	n.s.
Triglyzeride (mmol/l)	2,01 ± 1,84	2,06 ± 1,51	n.s.
Gesamtcholesterin (mmol/l)	6,17 ± 1,09	5,70 ± 1,00	n.s.
β-Lipoprotein (mmol/l)	4,04 ± ,098	4,17 ± 0,70	n.s.
β-Lipoprotein (%)	40,9 ± 7,3	40,8 ± 5,3	n.s.
prä-β-Lipoprotein (mmol/l)	0,31 ± 0,13	0,32 ± 0,12	↑; p<0,05
prä-β-Lipoprotein (%)	5,6 ± 3,0	5,6 ± 1,9	n.s.
α-Lipoprotein (mmol/l)	1,98 ± 0,43	1,69 ± 0,11	↓; p<0,05
α-Lipoprotein (%)	53,8 ± 7,8	44,9 ± 4,0	↓; p<0,025

Zeichenerklärung: n.s. = nicht signifikant; p = Signifikanzniveau; ↑ = Anstieg, ↓ = Abfall;

Tabelle 46: Standardlaborparameter;

Mittelwert x und Standardabweichung n; N=10	GEBO (O ₃) v o r Therapie	GEBS (O ₂) v o r Therapie	Signifikanztest
Erythrozyten (10 ⁶ /μl)	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,4	n.s.
Leukozyten (10 ⁹ /μl)	5,7 ± 1,3	5,9 ± 1,4	n.s.
Thrombozyten (10 ⁹ /μl)	236,0 ± 29,1	239,2 ± 37,9	n.s.
Hämoglobin (g/dl)	14,4 ± 0,8	14,5 ± 1,0	n.s.
Hämatokrit (Vol%)	44,7 ± 2,2	45,0 ± 2,9	n.s.
Neutrophile (%)	57,2 ± 5,9	59,5 ± 9,8	n.s.
Lymphozyten (%)	30,6 ± 4,8	28,3 ± 7,5	n.s.
Monozyten (%)	6,4 ± 0,6	5,9 ± 1,0	n.s.
Eosinophile (%)	3,1 ± 1,6	3,1 ± 2,1	n.s.
Basophile (%)	1,0 ± 0,3	0,9 ± 0,3	n.s.
Glucose (mmol/l)	5,04 ± 2,41	5,00 ± 3,35	n.s.
Kreatinin (μmol/l)	79,56 ± 8,84	79,56 ± 8,84	n.s.
Harnsäure (μmol/l)	291,5 ± 59,5	315,3 ± 21,4	n.s.
Natrium (mmol/l)	137,4 ± 1,0	137,3 ± 2,6	n.s.
Kalium (mmol/l)	4,6 ± 0,3	4,8 ± 0,4	n.s.
AST (U/l)	10,0 ± 2,5	11,1 ± 2,5	n.s.
ALT (U/l)	13,2 ± 6,1	13,4 ± 6,2	n.s.
γ-GT (U/l)	24,0 ± 18,3	19,5 ± 8,8	n.s.
Triglyzeride (mmol/l)	2,10 ± 1,77	2,01 ± 1,84	n.s.
Gesamtcholesterin (mmol/l)	6,05 ± 0,75	6,17 ± 1,09	n.s.
β-Lipoprotein (mmol/l)	3,97 ± 0,75	4,04 ± 0,98	n.s.
β-Lipoprotein (%)	39,9 ± 5,9	40,9 ± 7,3	n.s.
prä-β-Lipoprotein (mmol/l)	0,48 ± 0,42	0,04 ± 0,13	n.s.
prä-β-Lipoprotein (%)	8,7 ± 8,7*	5,6 ± 3,0	n.s.
α-Lipoprotein (mmol/l)	1,50 ± 0,77	1,98 ± 0,43	↑; p<0,025
α-Lipoprotein (%)	51,7 ± 7,8	53,8 ± 7,8	n.s.

Zeichenerklärung: n.s. = nicht signifikant; p = Signifikanzniveau; * 8,73 ± 8,70; ↑ = Anstieg, ↓ = Abfall;

Tabelle 47: Standardlaborparameter;

Mittelwert x und Standardabweichung n; N=10	GEBO (O ₃) n a c h Therapie	GEBS (O ₂) n a c h Therapie	Signifikanztest
Erythrozyten (10 ⁶ /μl)	4,8 ± 0,4	4,7 ± 0,4	n.s.
Leukozyten (10 ⁹ /μl)	5,3 ± 1,1	6,1 ± 2,3	n.s.
Thrombozyten (10 ⁹ /μl)	239,0 ± 26,5	228,2 ± 38,6	n.s.
Hämoglobin (g/dl)	14,3 ± 0,8	14,1 ± 1,0	n.s.
Hämatokrit (Vol%)	44,2 ± 2,6	43,6 ± 3,6	n.s.
Neutrophile (%)	53,8 ± 7,7	56,8 ± 10,2	n.s.
Lymphozyten (%)	32,6 ± 7,0	29,0 ± 7,8	n.s.
Monozyten (%)	6,4 ± 0,5	6,1 ± 0,9	n.s.
Eosinophile (%)	3,6 ± 2,2	3,6 ± 1,9	n.s.
Basophile (%)	0,7 ± 0,3	0,7 ± 0,4	n.s.
Glucose (mmol/l)	4,43 ± 1,45	0,06 ± 1,67	↑; p<0,025
Kreatinin (μmol/l)	79,56 ± 8,84	0,72 ± 8,84	n.s.
Harnsäure (μmol/l)	309,3 ± 47,6	291,5 ± 48,2	n.s.
Natrium (mmol/l)	137,8 ± 1,3	135,0 ± 6,9	n.s.
Kalium (mmol/l)	4,6 ± 0,3	4,5 ± 0,4	n.s.
AST (U/l)	9,8 ± 3,2	11,8 ± 3,4	↑; p<0,05
ALT (U/l)	11,8 ± 6,2	15,0 ± 5,9	↑; p<0,05
γ-GT (U/l)	23,7 ± 17,5	25,0 ± 12,8	n.s.
Triglyzeride (mmol/l)	2,11 ± 0,66	373,5 ± 1,51	n.s.
Gesamtcholesterin (mmol/l)	6,13 ± 0,61	5,70 ± 1,00	n.s.
β-Lipoprotein (mmol/l)	4,18 ± 0,61	4,17 ± 0,70	n.s.
β-Lipoprotein (%)	42,9 ± 5,3	40,8 ± 5,3	n.s.
prä-β-Lipoprotein (mmol/l)	0,58 ± 0,49	0,32 ± 0,12	n.s.
prä-β-Lipoprotein (%)	9,8 ± 8,2	5,6 ± 1,9	n.s.
α-Lipoprotein (mmol/l)	1,67 ± 0,23	1,69 ± 0,11	n.s.
α-Lipoprotein (%)	47,2 ± 6,7	44,9 ± 4,0	n.s.

Zeichenerklärung: n.s. = nicht signifikant; p = Signifikanzniveau; ↑ = Anstieg, ↓ = Abfall;

4.5 Unerwünschte Ereignisse

Zu Beginn jeder Therapie wurden die Patienten jeweils nach unerwünschten Ereignissen befragt, die sich im Zeitraum zwischen zwei Therapiesitzungen bzw. nach dem Ende des letzten Therapiezyklus ereignet hatten. Diese wurden in Gegenwart des Patienten dokumentiert. Explizit wurde gefragt nach dem Beginn und dem Ende des Ereignisses bzw. Symptoms, nach der maximalen Intensität, dem Verlauf, einem möglichen Kausalzusammenhang mit der Therapie sowie nach medikamentösen und nicht medikamentösen Gegenmaßnahmen. Symptome, die bereits vor Beginn der Therapie bestanden hatten, sollten außer bei deutlicher Verschlechterung nicht genannt werden, da beim CFS häufig spontane Schwankungen der Intensität typischer Beschwerden beobachtet werden. Eine getrennte Auswertung der unerwünschten Ereignisse in der Therapiepause nach GEBO und GEBS ergab keinen signifikanten Unterschied, jedoch wurden Erkältungserscheinungen von 3 Patienten nach GEBS-Sitzungen, allerdings von keinem Patienten nach GEBO-Sitzung dokumentiert. Die nachfolgend aufgelisteten Symptome waren nach GEBS-Sitzungen insgesamt 26mal (11 Patienten), nach GEBO hingegen lediglich 9mal (7 Patienten) genannt worden.

Im Einzelnen wurden von den Patienten genannt: Ischiadicusneuralgie links, Migräneattacke, Zahnfleischbluten, Magen-Darm-Beschwerden (Gastritis), bronchiale Reizung mit leichtem Auswurf, Tinnitus, bronchiale Obstruktion, Herzschmerzen, deutliche Zunahme der körperlichen Erschöpfung, Erkältung, Diarrhö, (nachmittägliche) Müdigkeit, heftiges Gähnen und eitrige Bronchitis (Tabelle 48).

Als schwerwiegend stuften die Patienten keines der Ereignisse ein. Ein kausaler Zusammenhang mit der Therapie war bei der nachmittäglichen Müdigkeit und den Herzschmerzen nicht auszuschließen, beim Zahnfleischbluten möglich, bei den übrigen Ereignissen nicht plausibel. Bemerkenswert scheint, dass nach insgesamt 210 Therapiesitzungen von keinem der Patienten neu aufgetretene Kopfschmerzen angegeben wurden. In einer früheren Studie [STENKAMP ET AL. 1997] waren unter Bedingungen, die mit der jetzigen Studie vergleichbar waren, insgesamt 15 Kopfschmerzereignisse dokumentiert worden.

Tabelle 48: Nebenwirkungen und interkurrierende Erkrankungen nach den beiden Therapiezyklen getrennt. Die Patienten sind nummeriert von 1-11, die Zahlen in Klammern geben die Anzahl des jeweiligen Ereignisses an.

Nebenwirkungen	P a t i e n t e n			
	G E B O		G E B S	
S y m p t o m	Anzahl	Pat.-Nr. (Häufigkeit)	Anzahl	Pat.-Nr. (Häufigkeit)
Halsschmerzen	0	-	1	6(1)
Unklare Herzschmerzen	2(2)	4(1); 11(1)	0	-
Schlafstörungen	0	-	1(1)	2(1)
Müdigkeit, Erschöpfung	1(2)	4(2)	2	6(1); 9(1)
bronchiale Obstruktion	0	0	1(2)	9(2)
Bronchitis (eitrig)	1(1)	11(1)	2(2)	4(1); 10(1)
Erkältung	0	-	3(3)	5(1); 6(1); 8(1)
Gähnen, heftig	1(1)	11(1)	0	-
Akute Gastroenteritis	0	0	1(1)	5(1)
Glucosurie bei Diabetes mell.	0	-	1(2)	9(2)
Ischiadicusneuralgie (links)	1(2)	1(2)	0	-
Kahnbeinarthrose, aktiviert	0	-	1(1)	1(1)
Koagulation bei Re-Infusion	1(1)	9(1)	2(2)	6(1); 9(1)
Magenschmerzen/Gastritis	0	-	2(6)	2(5); 8(1)
Tinnitus	0	-	1(2)	4(1); 11(1)
Zahnfleischbluten	0	0	1(4)	2*(4)
Gesamtzahl	7(9)		11(26)	

*Abbruch nach Placebo-Zyklus durch Patienten

4.5.1 Zwischenfälle während der Sitzungen

Bei einem Patienten (Nr. 10) war in Sitzung 10/1 vor Erreichen der Einzelmessung 500 die Sonde verrutscht und musste neu positioniert werden. Die Werte der entsprechenden Files wichen erheblich von den übrigen ab und wurden deshalb eliminiert.

Die Sitzung 10/2 eines Patienten (Nr. 9) musste wegen Koagelbildung in der Vakuumflasche nach der Blutentnahmephase vollständig wiederholt werden. Nach unserer Erfahrung ist eine Beeinflussung der Oxigenierung dadurch nicht zu erwarten.

4.5.2 Abbrüche

Von den 11 in die Studie aufgenommenen Patienten brach ein Patient, da er in eine andere Stadt umziehen musste, die Teilnahme nach dem 1. Zyklus (Placebotherapie) vorzeitig ab. Der Datensatz ist unvollständig und wurde daher nur bei den unerwünschten Ereignissen und beim Hauptzielkriterium „allgemeine Befindlichkeit“ berücksichtigt.

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ergebnisse der Auswertung der klinischen Selbstbeurteilungsskalen im Überblick

In Tabelle 49 werden die Ergebnisse der Auswertung der von-Zerssen-Befindlichkeitsskala und -Beschwerdenliste in der Übersicht dargestellt. Die jeweiligen Test-Summen-Scores aus der 1. und 10. Sitzung werden einander gegenüber gestellt.

Tabelle 49:

Tabelle Nr.	Testentscheidung (Wilcoxon) Differenz zwischen 1. und 10. Sitzung	Ozon (Verum-Zyklus)	Sauerstoff (Placebo-Zyklus)
22, 23	Befindlichkeitsskala – Testscore	signifikant, $p = 0,0047$	n.s.
24, 25	Beschwerdenliste – Testscore	signifikant, $p = 0,016$	n.s.
28, 29	Befindlichkeitsskala – Müdigkeit (4 Items)	n.s., $p = 0,06$	n.s.
30, 31	Beschwerdenliste – Müdigkeit (4 Items)	signifikant, $p = 0,030$	n.s.

(Jeweils Mittelwerte der Files)

Die Patienten erreichten sowohl auf der von-Zerssen-Befindlichkeitsskala als auch auf der von-Zerssen-Beschwerdenliste nach Abschluss der zehn Sitzungen der Therapie mit Ozon signifikant niedrigere Werte als vor Therapiebeginn. Dies traf jedoch nicht für die Behandlung mit reinem Sauerstoff zu. Folglich beeinflusst die GEBO, nicht aber die GEBS - gemäß den beiden von-Zerssen-Skalen - die Befindlichkeit positiv und führt zu einer Verminderung der empfundenen Beschwerden. Die separate Auswertung von jeweils 4 Items beider Skalen mit enger Beziehung zum Attribut „Müdigkeit“ (siehe auch S. 61 und S. 82ff) fiel ähnlich aus wie die Auswertung der Gesamtskalen, wobei die Beschwerdenliste im Verumzyklus nach der Therapiephase ebenfalls signifikant niedrigere Werte aufwies als in der Placebophase ($p < 0,05$), der Unterschied zwischen Verum und Placebo in der nach Müdigkeit selektionierten Befindlichkeitsskala jedoch knapp das angestrebte Signifikanzniveau verfehlte ($p = 0,06$).

Ergebnisse der Auswertung der EMPHO-Messungen im Überblick

Bei der 16-Punkte-Messung wiesen die Wertepaare aus der 1. und 10. Sitzung weder bei der intrakapillären Oxigenierung noch bei der relativen Hämoglobinkonzentration noch beim intrakapillären Sauerstoffgehalt eines der beiden Therapiezyklen signifikante Unterschiede auf (siehe Tabellen 32-35, S. 88ff).

Die EMPHO-Messungen von intrakapillärer Oxigenierung und relativer Hämoglobinkonzentration zeigten bei den untersuchten Patienten in den drei Phasen Blutentnahme, Transfusion und Nachbeobachtung weder in der Verum- noch in der Placebogruppe signifikante Unterschiede zwischen der jeweils 1. und 10. Sitzung eines Therapiezyklus (siehe Tab. 51). Bei einem Patienten war in der Nachbeobachtungsphase während der GEBO-Sitzung zunächst ein Anstieg, dann ein deutlicher Abfall aller drei gemessenen Parameter gemessen worden, ohne dass im Verlaufsprotokoll eine Auffälligkeit vermerkt wäre. Die Spektren der übrigen Patienten wiesen in den einzelnen Phasen (Blutentnahme, Rücklauf, Nachbeobachtung) keine signifikanten Änderungen auf.

Tabelle 50: (Jeweils Mittelwerte, siehe auch Ergebnistabelle 35, S. 92f);

Testentscheidung (Wilcoxon) Differenz zwischen 1. und 10. Sitzung	Ozon (Verum-Zyklus)	Sauerstoff (Placebo-Zyklus)
Blutentnahmephase - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Blutentnahmephase - rel. Hb-Konzentration	n.s.	n.s.
Transfusionsphase - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Transfusionsphase - rel. Hb-Konzentration	n.s.	n.s.
Nachbeobachtung - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Nachbeobachtung - rel. Hb-Konzentration	n.s.	n.s.

Beim Vergleich der Werte der jeweils 1. bzw. 10. Sitzungen zwischen Verum- und Placebozyklus (Sitzung 1 Verum vs Sitzung 1 Placebo, entsprechend Sitzungen 10 Verum vs Placebo) war lediglich für die relative Hämoglobinkonzentration in der Blutentnahmephase ein signifikanter Unterschied zwischen Verum und Placebo in der jeweils 1. Sitzung nachweisbar ($p = 0,025$). Ein einheitlicher Trend nach Ozon- bzw. O₂-Autotransfusion (ab Transfusionsphase) war beim Vergleich zwischen jeweils gleichen Phasen (Blutentnahme, Transfusion und Nachbeobachtung) nicht zu beobachten (siehe auch Tab. 51).

Tabelle 51 (jeweils Mittelwerte eines Files, ↑ = Anstieg, ↓ = Abfall, siehe auch Tab. 21, S. 76 und Tab. 36, S. 92f):

Testentscheidung (Wilcoxon) Differenz zwischen Verum und Placebo	Sitzung 1 Verum vs Sitzung 1 Placebo	Sitzung 10 Verum vs Sitzung 10 Placebo
Blutentnahmephase - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Blutentnahmephase - rel. Hb-Konzentration	↑ signifikant, p = 0,025*	n.s.
Transfusionsphase - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Transfusionsphase - rel. Hb-Konzentration	n.s.	n.s.
Nachbeobachtung - Oxigenierung (%)	n.s.	n.s.
Nachbeobachtung - rel. Hb-Konzentration	n.s.	n.s.
Befindlichkeitsskala - Testscore	↓ signifikant, p < 0,005	n.s.
Beschwerdenliste - Testscore	n.s.	n.s.

* keine signifikanten Unterschiede bei nicht aufgelöstem Cross-over;

Beim Vergleich der Oxigenierungswerte zwischen Blutentnahmephase und Nachbeobachtung war zwischen den jeweils 10. Therapiesitzungen sowohl im Verum- als auch im Placebozyklus im Wilcoxontest für verbundene Stichproben ein von Null signifikant unterschiedlicher Trend erkennbar, beim Vergleich der entsprechenden Werte des O₂-Gehalts lediglich im Verum-Zyklus: In der Nachbeobachtungsphase lagen die Werte signifikant niedriger als in der Blutentnahmephase (Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$). Die übrigen Wertepaar-differenzen der Blutentnahme- und Nachbeobachtungsphase, nämlich Oxigenierung vor der 1. Sitzung und relative Hämoglobin-Konzentration vor und nach Therapie mit Verum und Placebo zeigten keine signifikanten Unterschiede (siehe Tab. 52).

Tabelle 52: Es werden jeweils zwei der drei Phasen Blutentnahme (BE), Transfusion und Nachbeobachtung von intrakapillärer Oxigenierung, rel. Hämoglobinkonzentration und O₂-Gehalt (getrennt für den Verum- und Placebo-Zyklus) einander gegenüber gestellt (↓ = Abfall) [siehe auch Tab. 39 und 40, S. 97f]:

Testentscheidung (Wilcoxon) Differenz zwischen den Phasen; Sitzung (S)	Verum-Zyklus	Placebo-Zyklus
Oxigenierung, BE vs Nachbeobachtung, S 1	n.s.	n.s.
Oxigenierung, BE vs Nachbeobachtung, S 10	↓signifikant, p = 0,033	↓signifikant, p = 0,033
rel. Hb-Konz., BE vs Nachbeobachtung, S 1	n.s.	n.s.
rel. Hb-Konz., BE vs Nachbeobachtung, S 10	n.s.	n.s.
O ₂ -Gehalt, BE vs Nachbeobachtung, S 1	n.s.	n.s.
O ₂ -Gehalt, BE vs Nachbeobachtung, S 10	n.s.	n.s.
Oxigenierung, BE vs Transfusion, S 1	n.s.	n.s.
Oxigenierung, BE vs Transfusion, S 10	↓signifikant, p = 0,025	n.s.
rel. Hb-Konz., BE vs Transfusion, S 1	n.s.	n.s.
rel. Hb-Konz., BE vs Transfusion, S 10	↓signifikant, p = 0,033	n.s.
O ₂ -Gehalt, BE vs Transfusion, S 1	n.s.	n.s.
O ₂ -Gehalt, BE vs Transfusion, S 10	↓signifikant, p = 0,025	n.s.
Oxigenierung, Transfusion vs Nachbeob., S 1	n.s.	n.s.
Oxigenierung, Transfusion vs Nachbeob., S 10	n.s.	n.s.
rel. Hb-Konz., Transfusion vs Nachbeob., S 1	n.s.	n.s.
rel. Hb-Konz., Transfusion vs Nachbeob., S 10	n.s.	n.s.

BE = Blutentnahmephase;

Standardlaborwerte

Im Vergleich der Laborwerte zeigten sich bei allen das Blutbild betreffenden Messwerten keine signifikanten Veränderungen. Bei den Standardwerten der klinischen Chemie, die sämtlich im Normbereich lagen, fiel lediglich die Glutamat-Pyruvat-Transaminase (ALT) von 13,2 auf 11,8 U/l unter Ozontherapie leicht, aber signifikant ab ($p < 0,025$). Bei den Lipoproteinfraktionen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der prä- β -Lipoproteine (VLDL) sowohl nach Ozon- als auch nach O₂-Therapie (jeweils $p < 0,05$). Die geringen, aber signifikanten Abfälle von Serumkalium ($p < 0,025$) und Kreatinin ($p < 0,01$) während der Autohämotherapie mit Sauerstoff so wie der Serumglucosekonzentration bewegen sich ebenfalls innerhalb des Normbereiches.

Der relative HDL-Anteil im Serum sank sowohl unter Ozon als auch unter Placebo signifikant ab (jeweils $p < 0,025$). Absolut war dieser signifikante HDL-Abfall ($p < 0,05$) lediglich unter der O₂-Therapie nachvollziehbar. Die LDL-Lipoproteine zeigten in ihrem relativen Anteil an den Lipoproteinfraktionen unter Ozontherapie sogar einen signifikanten Anstieg ($p < 0,025$), allerdings ohne entsprechende Veränderung des Absolutwertes. Die Veränderungen des Serumgehalte von Triglyzeriden und Gesamtcholesterin waren unter beiden Therapieformen nicht signifikant.

5 Diskussion

Der großen Eigenblutbehandlung mit Ozon werden in zahlreichen unkontrollierten Studien und Kasuistiken gesundheitsfördernde und therapeutische Effekte attestiert. Der günstige Effekt von Ozon auf periphere, zerebrale, kardiale oder ophthalmologische Vaskulopathien [MATTASSI 1985, ROKITANSKY, O. ET AL. 1981, WERKMEISTER 1968 & 1991, RIVA SANSEVERINO 1990], aber auch auf Infektionen und Verbrennungen [VIEBAHN 1994, ROKITANSKY ET AL. 1981, WERKMEISTER 1968, WERKMEISTER 1991, MIAN ET AGOSTINI 1988, AUBOURG 1938, WOLFF 1975] soll durch ein vermehrtes Sauerstoffangebot in hypoxischem Gewebe des entsprechenden Zielorgans zustande kommen. Grund für das vermehrte Angebot an O₂ soll eine erhöhte Verfügbarkeit durch Vasodilatation und/oder eine Erhöhung des relativen O₂-Gehaltes im Gewebe sein.

Am 05.08.1999 beantragte der AOK-Bundesverband vor dem Ausschuss „Ärztliche Behandlung“ des „Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen“ ein Gutachten über die medizinische Ozontherapie (Ozon-Eigenbluttherapie, Sauerstoff-Ozon-Eigenbluttherapie, Oxyontherapie und hyperbare Ozontherapie). Insgesamt hat die Analyse und Bewertung aller Stellungnahmen, der aktuellen wissenschaftlichen Literatur und sonstigen Fundstellen für alle überprüften Indikationen keine belastbaren Nachweise für den Nutzen und die medizinische Notwendigkeit einer Anwendung in der vertragsärztlichen Versorgung ergeben. Der Bundesausschuss fasste am 11.12.2000 den Beschluss, die Ozontherapie der Anlage B (nicht anerkannte Methoden) der BUB-Richtlinien² zuzuordnen [KBV 2001]. Der Beschluss wurde vom Bundesministerium für Gesundheit nicht beanstandet und ist seit dem 23.03.2001 in Kraft.

Einfluss der Ozonisierung auf Hämoglobinoxigenierung und abhängige Parameter

Mit der Hypothese des Anstiegs von erythrozytärem 2,3-Diphosphoglycerat und entsprechender Rechtsverschiebung der HbO₂-Dissoziationskurve [VIEBAHN-HÄNSLER 1991], Lockerung der Hämoglobin-Sauerstoff-Bindung und Erleichterung der Sauerstoffabgabe an das Gewebe nach Behandlung mit Ozon sind die Ergebnisse der vorliegenden Studie, in der die Hämoglobin-Oxigenierung, die relative Hämoglobinkonzentration und der intrakapilläre O₂-Gehalt mit dem EMPHO-Verfahren während der GEBO bzw. GEBS spektrophotometrisch erfasst wurden, partiell kompatibel: Beim Vergleich der Oxigenierungswerte der Blutentnahme- und Nachbeobachtungsphase der jeweils 10. Sitzung des Verum- bzw. des Placebo-Zyklus zeigten sich signifikante Unterschiede ($p = 0,033$). Da der Abfall der relativen Oxigenierung auch im Placebo-Zyklus zu beobachten ist, kommt dem Ozon nicht die alleinige Wirkung zu, vermutlich ist das in beiden Begasungen als Basis enthaltene O₂ ebenso dafür verantwortlich.

Beim Vergleich der Blutentnahme- mit der Transfusionsphase sowohl bei den Oxigenierungswerten als auch bei der relativen Hämoglobinkonzentration und dem daraus errechneten O₂-Gehalt wird jedoch ein signifikanter Abfall im Ozon-Zyklus beobachtet und zwar lediglich in der jeweils 10., nicht jedoch in der 1. Sitzung, und auch nicht im O₂-Zyklus. Dieses wichtige Ergebnis die erwähnte Hypothese einer erleichterten Abgabe des Sauerstoffs an das Gewebe nach O₃-Einwirkung. Da sich der Trend eines Abfalls der intrakapillären Oxigenierung

² Richtlinien über die Bewertung ärztlicher Untersuchungs- und Behandlungsmethoden

und des O₂-Gehaltes nicht in der jeweils 1. Sitzung der GEBO abzeichnet, ist ein Summationseffekt durch die 10 Therapiesitzungen eines Zyklus zu vermuten.

Ein Summationseffekt bildet sich jedoch nicht beim Vergleich der 16-Punkte-Messungen der 1. und 10. Sitzungen der beiden Zyklen ab (weder Oxigenierung noch relative Hämoglobin-Konzentration noch O₂-Gehalt). Da die 16-Punkte-Messungen jedoch jeweils vor Applikation des O₂- oder O₃-Gases durchgeführt wurden, werden auch lediglich die Effekte der vorausgegangenen Sitzungen und nicht die unmittelbare Wirkung des applizierten Gases während der aktuellen Therapiesitzung abgebildet.

Der postulierte Summationseffekt ist offenbar zu gering ausgeprägt, als dass er sich in den 16-Punkte-Messungen abbilden würde. Die Frage nach dem Summationseffekt und der Dauer der Ozonwirkung ließe sich jedoch mit Hilfe der EMPHO-Messmethode möglicherweise hinreichend beantworten, wenn man nicht nur in der ersten und letzten, sondern in jeder der 10 Therapiesitzungen entsprechende EMPHO-Messungen durchführen würde.

Dies wäre allerdings mit einem zusätzlichen Aufwand verbunden gewesen, was sich zu Lasten der Compliance hätte auswirken können. Dieser Aufwand erscheint - nach einer ersten Bestätigung der Hypothese - jedoch bei Anschlussuntersuchungen jetzt gerechtfertigt. Die Compliance seitens der Patienten war übrigens während des gesamten Studienablaufs bei nur einem Abbruch aus privaten Gründen hervorragend. Die übrigen Patienten nahmen an sämtlichen Therapiesitzungen regelmäßig teil und erfüllten diesbezüglich in jeder Hinsicht die Einschlusskriterien.

Das Wirkmodell der Autohämotherapie mit Ozon nach VIEBAHN-HÄNSLER [1991] mit Anstieg von 2,3-Diphosphoglycerat im Erythrozyten steht nicht im Einklang mit den Ergebnissen der Arbeit von ZIMRAN ET AL. [1999]: Bei der Untersuchung des Einflusses einer therapeutisch üblichen Konzentration von 30 µg/ml O₃ auf Enzymaktivitäten von Erythrozyten und bestimmte Substrate im EDTA-Blut gesunder Probanden veränderten sich die ATP- und 2,3-Diphosphoglyceratwerte nicht signifikant. SHINRIKI ET AL. [1998] verweist auf eine Reihe von älteren *in-vitro*-Studien, in denen gezeigt wird, dass erythrozytäres Glutathion von gewaschenen Erythrozyten oder von Vollblut nach Ozon-Exposition sogar abnimmt [BUCKLEY ET AL. 1975; FREEMAN ET AL. 1979; FREEMAN & MUDD 1981; MUDD ET AL. 1974]. Da die Versuchsanordnungen der jetzigen Untersuchung und der Studie hinsichtlich der Zeitabläufe und Dosierungen nicht vergleichbar sind und die jetzige Untersuchung unter therapeutischen Bedingungen durchgeführt wurde, entsprechen die jetzigen Ergebnisse vermutlich eher den realen Abläufen bei GEBO.

Als möglicher Wirkmechanismus der Therapie mit Ozon wird auch ein vermehrter Einstrom extrazellulären Kalziums in weiße Blutzellen diskutiert, da die Produktion von Zytokinen wie IL-6, IFN-γ und TNF-α durch Leukozyten im Blut in Gegenwart von Heparin und 5 mM Ca⁺⁺ erhöht ist [BOCCI ET AL. 1993(A)]. VERRAZZO und Mitarbeiter [1995] zeigten anhand einer kontrollierten Studie bei Patienten mit pAVK, die randomisiert entweder mit hyperbarem Sauerstoff (HBO; 5 Behandlungen mit einer Inspiration von reinem Sauerstoff [jeweils 60 min mit 202,6 kPa) alternierend mit je einem Tag Pause) oder mit einer GEBO (5 Behandlungen alternierend mit je einem Tag Pause, Autotransfusion von je 100 ml Blut, 32 µg/ml Ozonkonzentration) behandelt wurden, dass im

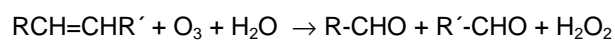
Gegensatz zur HBO die GEBO zu einem signifikanten Anstieg der Erythrozytenverformbarkeit (Methode nach REID ET AL. [1976], Polycarbonatfilter mit 5 µm Porendurchmesser) und zu einem signifikanten Abfall der Blutviskosität führte. Diese Effekte wurden 15 min nach der ersten ($p < 0,001$) und 24 h nach der fünften Sitzung ($p < 0,005$) nachgewiesen. Die Plasmafibrinogenkonzentration nahm hierbei lediglich nach der ersten GEBO-Sitzung signifikant ab ($p < 0,05$), während die Thrombinzeit signifikant anstieg ($p < 0,05$). Der Hämatokritwert veränderte sich nicht. Im Vergleich mit der GEBO zeigten sich insgesamt bei der hyperbaren Sauerstofftherapie keine signifikanten Effekte. Die Autoren wiesen lediglich bei der GEBO, nicht aber bei der HBO erhöhte Plasmawerte von Malondialdehyd (MDA) als einem etablierten Marker der Lipidperoxidation nach. Sie vermuten, dass bei der GEBO eine sehr selektive zelluläre Lyse bereits veränderter rigiderer Erythrozyten stattfindet, wodurch dann die mittlere Erythrozytenverformbarkeit abnehmen würde. Hinsichtlich der bei der GEBO beobachteten reversiblen Abnahme des Plasmafibrinogens halten die Autoren eine vorübergehende strukturelle Veränderung des Fibrinogenmoleküls für möglich. Auch in der Arbeit von STENKAMP ET AL. [1997] zeigt sich bei der GEBO-Gruppe, nicht aber bei der Placebo-Gruppe, ein deutlicher Trend zum Anstieg der MDA-Konzentration. Damit würde die Hypothese von einer verbesserten Perfusion der Kapillaren unterstützt.

Ozon als Induktor

Nach einer Hypothese von Bocci und Mitarbeitern [BOCCI] besteht die Hauptwirkung von Ozon bei der GEBO in der Induktion einer Lymphokinproduktion: Nach der Ozonisierung von Blut *ex vivo* und Re-Infusion in den Blutspender würden Monozyten und Lymphozyten zur generalisierten zellulären und humoralen Immunantwort aktiviert. Die GEBO könnte als eine Art Induktor einer physiologischen Antwort betrachtet werden, welcher seine Wirkung rasch entfaltet und dann verschwindet [BOCCI 1996, 1992(B), 1988]. Für das Wirkmodell eines Induktors spricht auch folgende Berechnung: Bei einer einzelnen Therapiesitzung der GEBO werden durch die Ozonisierung von 100 ml Blut weit weniger als 0,1 % des gesamten intrakorporalen Monozyten/Makrophagenkomplexes erfasst [WESTERMANN & PABST 1992].

Voraussetzung für das postulierte Induktormodell ist das antioxidative Puffersystem von Blutplasma und Erythrozyten: Im Vergleich mit Vollblut sind nämlich in normalem Zellkulturmedium resuspendierte isolierte Monozyten deutlich anfälliger für den oxidativen Stress durch O_3 [BOCCI ET AL. 1998(A)].

Ozon bewirkt in wässrigen Lösungen über seine direkten Zerfallsprodukte die Bildung von ROS wie z. B. Wasserstoffperoxid (H_2O_2) [PRYOR 1993 & 1994].



Bestimmte Zytokine wie $TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$ und $IL-2$, werden in kleinen Mengen freigesetzt, wenn menschliches Blut *in vitro* direkt hohen, *in vivo* nicht erreichbaren Ozonkonzentrationen bis zu 100 µg/ml pro Gramm ausgesetzt wird [PAULESU ET AL 1991, BOCCI & PAULESU 1990, BOCCI ET AL 1993(A)]. Einige ROS lassen sich abhängig von der O_3 -Konzentration anhand ihrer Reaktivität auf Thiobarbitursäure nachweisen [ESTERBAUER 1996, YAGI 1984]. Der Ozonwirkung steht in Plasma und Blutzellen jedoch ein komplexes antioxidatives System gegen-

über [HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990, EVANS & PRYOR 1994, YU 1994], so dass direkte Effekte wenig wahrscheinlich sind.

Für das Induktormodell spricht ferner folgende quantitative Betrachtung: 100 ml Vollblut entsprechen beim erwachsenen Menschen mit durchschnittlichem Gewicht von 70 kg etwa 1/50 des gesamten Blutvolumens. Dies entspricht weniger als 0,05% der Gesamtzahl an Lymphozyten unter der Annahme, dass permanent lediglich 2% der Lymphozyten im Blut zirkulieren [WESTERMANN & PABST 1992].

BOCCI [1994(A)] schätzt, dass pro GEBO-Sitzung maximal $2,5 \times 10^8$ ozonisierte Immunzellen auf ihrem weiteren Weg in lymphatischen und nicht lymphatischen Systemen Zytokine freisetzen, die zu einer weiteren Aktivierung des Immunsystems führen.

Ozondosis

Die bei direkter Ozonisierung von menschlichem Vollblut *in vitro* (bis 100 µg/ml Blut) entstehenden Lipidperoxidationsprodukte wie Malondialdehyd, 4-Hydroxynonenal (HNE) und 4-Hydroxyhexenal [HAMILTON ET AL. 1998] unterliegen einer Dosis-Wirkungs-Beziehung, welche jedoch nicht linear verläuft, sondern ein Plateau erreicht, wenn die Ozonkonzentration 70 µg/ml pro Gramm Blut überschreitet [BOCCI ET AL. 1998(A)]. Es konnte gezeigt werden, dass bei Ozonkonzentrationen zwischen 30 und 80 µg/ml pro Gramm Blut (0,63-1,76 mmol) die intrazytoplasmatische Konzentration von H₂O₂ so weit ansteigt, dass sie zwar zu einer effektiven Zytokin-freisetzung führt, die Kapazität des antioxidativen Systems jedoch noch nicht überschritten wird [HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990, EVANS & PRYOR 1994, YU 1994]. Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS) zeigen eine relative Stabilität bei Inkubation *in vitro* für bis zu 9 h, bei der Autohämotherapie hingegen sind sie bereits unmittelbar nach Re-Infusion infolge Verdünnung und zellulärer Aufnahme im Plasma kaum mehr nachweisbar [BOCCI 1996]. *In-vivo*- und *in-vitro*-Befunde sollten deshalb nur mit großer Zurückhaltung verglichen werden.

Eine wirksame Therapie mit Ozon muss demnach mit Konzentrationen, die weder unterhalb der Ineffektivitätsschwelle, noch oberhalb der maximaler Belastbarkeit des antioxidativen Systems liegen, durchgeführt werden. Die bisher angegebene maximal zulässige therapeutische Ozondosis von 40 µg/ml O₃ beruhte auf einer Messung von Zellschäden *in vitro*. [VAN DER ZEE ET AL. 1987, FREEMAN & MUDD 1981, FREEMAN ET AL. 1979, MUDD ET AL. 1974, GOLDSTEIN & BALCHUM 1967], d. h. bei gewaschenen, in wässrigen Medien resuspendierten Erythrozyten, welche eine deutlich höhere Hämolyserate zeigten als Vollblut. Die Langzeiteinwirkung von Ozon führte über Antioxidantienabbau, Peroxidation von Lipiden und Enzyminhibition zu einer Schädigung der Erythrozytenmembran, zu Kaliumverlust und schließlich zur Hämolyse. So bewirkte bei VAN DER ZEE ET AL. [1987] die Applikation von 1 oder 10 mmol Ozongas auf 10 ml einer Suspension gewaschener menschlicher Erythrozyten für 5-140 min Kaliumausstrom und Inaktivierung membranständiger Enzyme wie Na⁺-K⁺-ATPase und Acetylcholinesterase (AChE). SHINRIKI ET AL. [1998] zeigten hingegen, dass in Vollblut auch bei Exposition gegenüber 100 µg/ml Ozon die membranständige Na⁺-K⁺-ATPase nicht beeinträchtigt wurde. Die an der Außenseite der Erythrozytenmembran befindliche [BELLHORN ET AL. 1970], überaus Ozon-empfindliche [FREEMAN ET AL. 1979] AChE wurde nicht signifikant beeinflusst. Auch BOCCI ET AL. [1998(B)] wiesen bei einer *in-vitro*-

Exposition von Vollblut gegenüber 80 µg/ml O₃ dank der protektiven Plasmafunktion eine zu vernachlässigende Hämolyserate von unter 0,5 % nach.

Blut enthält eine Anzahl von potenten Antioxidantien wie z. B. α-Tocopherol, Ascorbinsäure, Harnsäure und Bilirubin [HALLIWELL & GUTTERIDGE 1990, CROSS ET AL. 1992]. In der Studie von SHINRIKI [1998] wurde die Beeinflussung von Antioxidantien im Plasma *in vitro* durch Ozongas ansteigender Konzentration (20, 40, 60, 80, 100 µg/ml Blut) gemessen: Die Ausgangskonzentrationen von Ascorbinsäure, Harnsäure und α-Tocopherol nahmen deutlich ab, bei der therapeutischen Ozonkonzentration von 40 µg/ml um 7 % (Ascorbinsäure), 19 % (Harnsäure) und 7 % (α-Tocopherol). Nicht beeinflusst wurde Bilirubin. Unter den untersuchten Erythrozytenbestandteilen war lediglich bei reduziertem Glutathion (GSH) eine deutliche Verminderung um 15 % des Ausgangswertes nachweisbar, wobei es partiell zu GSSG (oxidiertes Glutathion), vorwiegend aber zu unbekanntem Produkten oxidiert wurde. Bei allen untersuchten Ozonkonzentrationen nicht signifikant verändert wurden der Gehalt an Methämoglobin, Proteinen des erythrozytären Zytoskeletts und Enzymen wie Na⁺-K⁺-ATPase, AChE, Katalase, Glutathion-Peroxidase, Glutathion-Reduktase und Superoxid-Dismutase. ZIMRAN ET AL. [1999] untersuchten im Hinblick auf die Patientensicherheit bei der Autohämotherapie mit Ozon die Enzymaktivität von Erythrozyten aus EDTA-Blut gesunder Probanden, welches mit der gebräuchlichen Ozonkonzentration von 30 µg/ml behandelt worden war (siehe auch Kapitel 1.3.3, S. 28). Der bei dieser Ozonkonzentration an Erythrozyten bewirkte Hämolysegrad ist nach ihren Angaben minimal und unterscheidet sich nicht von dem, der bei der Verarbeitung von Erythrozytenkonzentraten entsteht. Die untersuchten Enzymaktivitäten blieben auch nach Ozonbehandlung im Normbereich und waren nicht signifikant verändert.

Die Gruppe um BOCCI [BOCCI ET AL. 1993(A, B)] fand als optimale und dennoch sichere Ozonkonzentration zur Anregung der Zytokinproduktion in menschlichem Blut eine Konzentration um 70 µg/ml, da die Hämolyserate der Erythrozyten dabei 2,5 % nicht übersteigt und die Plasmalipidperoxide nur um das Zwei- bis Dreifache ansteigen [BOCCI 1995], intraerythrozytäres GSH nicht unter 15 % abfällt [BOCCI ET AL. 1993(B)] und die Zytokinproduktion gering, aber beständig ist [BOCCI ET AL. 1993(A), 1993(B), 1994(B)]. Diese Konzentration ist jedoch fast das Doppelte der bislang in der einschlägigen Literatur empfohlenen [VIEBAHN 1994]. Bei den wenigen weltweit bislang durchgeführten Studien zur GEBO einschließlich der hier vorliegenden wurde eine Ozonkonzentration zwischen 30 und 40 µg/ml O₂ appliziert [z. B. VIEBAHN & BUSCH 1989, PAULESU ET AL. 1991, SIMMONS & MURPHY 1992, STENKAMP ET AL. 1997, VIEBAHN-HÄNSLER 1992, BOCCI ET AL. 1993(A), VERRAZZO ET AL. 1995, BOCCI ET AL. 1998(A, B), ZIMRAN ET AL. 1999]. Deshalb sind Aussagen zur Wirksamkeit der höheren Dosis nicht möglich. Allerdings wurden andererseits zumindest in den unkontrollierten Untersuchungen klinische Effekte beschrieben. Eine Wirkung über die Freisetzung von Zytokinen ist demnach für die vorliegende Studie eher als marginal anzusehen.

Dauer der Ozonwirkung

In einer nicht veröffentlichten kontrollierten Studie (*ex vivo*) mit menschlichem Vollblut zeigen BOCCI und Mitarbeiter [1993(B)], dass die GSH-Konzentration 30-60 min nach Ozonexposition an die Grenze des Normbereichs zurückkehrte. Hier wurde venöses Vollblut gesunder Probanden unmittelbar nach Entnahme gegen-

über O₂/O₃-Gasgemischen unterschiedlicher Ozonkonzentration (2-108 µg/ml exponiert und inkubiert. Während der achtstündigen Inkubation wurden größere Zytokinmengen freigesetzt (TNF-α, IFN-γ und GM-CSF). Die Hämolyserate stieg bereits bei der niedrigen Ozondosis von 42 µg/ml auf 6,4 % an und blieb auch bei Konzentrationen von 59 und 78 µg/ml auf diesem Niveau, während die mit Luft behandelten Kontrollen nach 8 h eine Hämolyserate von 4,2 % aufwiesen.

Der durch die extrakorporale Ozonisierung des Blutes bei der GEBO ausgelöste oxidative Stress hält lediglich wenige Minuten an (Kreislaufzeit) [BOCCI 1995]. Innerhalb weniger Sekunden zerfällt Ozon im Plasma in eine Anzahl reaktiver O₂-Intermediärprodukte (ROI), von denen Wasserstoff- und Lipidperoxide leicht vom Plasma in die Zellen penetrieren können [BAEUERLE & HENKEL 1994]. NF-κB wird dadurch aktiviert und induziert Zytokine in gesunden Zellen.

Bei gesunden Probanden zeigt sich 2-3 Tage nach GEBO ein leichter Anstieg von MX-Protein³ in zirkulierenden mononukleären Blutzellen als spezifischer Marker der IFN-Produktion [BOCCI ET AL. 1994(A), TOWBIN ET AL. 1992]. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der Dauer der Ozonwirkung auf Zytokine finden sich nicht.

In der hier vorliegenden Studie konnte ein statistisch signifikanter positiver Effekt auf die Befindlichkeit und das Beschwerdebild der Patienten mit chronischem Müdigkeitssyndrom nachgewiesen werden, der verschiedentlich postulierte positive Langzeiteffekt der GEBO wurde jedoch nicht bestätigt, da sich ein Carry-over-Effekt bei keinem der gemessenen Parameter nachweisen ließ, und damit die Wirkung in der dreimonatigen Therapiepause vollständig abgeklungen war.

Methodische Probleme: EMPHO

Trotz der nach Möglichkeit standardisierten Versuchsbedingungen (Raumtemperatur, Tageszeit, Therapiebedingungen) zeigen sich bei den meisten Patienten im Verlauf sehr unterschiedliche Werte bei den EMPHO-Messungen.

Bei der Betrachtung eines Teils der Langzeitmessungen über ca. 15 min zeigen sich zudem erhebliche Schwankungen der Messwerte (Oxygenierung und rel. Hb-Konzentration), ohne dass sich eine Veränderung der Messbedingungen zuordnen ließe. Die wahrscheinliche Erklärung dafür ist die bekannte spontane Veränderung des kapillären Querschnitts und somit der Durchflussrate in Abhängigkeit von vegetativen Einflüssen auf die Gefäßmuskulatur. Ein Teil der abgeleiteten Messkurven verläuft hingegen weitgehend konstant.

Als ein möglicher Schwachpunkt bei der Ableitung des Lichtsignals von der Haut des Patienten erweist sich der Signalübertritt von der Haut in den Lichtleiter. Hier machen sich schon geringe willkürliche Bewegungen der Patientenhand störend bemerkbar. Denkbar zur Optimierung des Verfahrens wäre z. B. ein Handschuh oder eine Handbandage in verschiedenen Größen aus halbbelastischem Material mit integrierbarem Lichtleiter, bei dem der Druck des Lichtgriffels auf die Haut sich durch einen Gummizug variabel einstellen lässt. Allerdings

³ Indikator für die Freisetzung von Interferon

muss dann berücksichtigt werden, dass lokal eine allmähliche Erwärmung des Messvolumens eintritt, die ihrerseits zu Veränderungen des kapillären Durchflusses führt.

Die Wirkdauer der GEBO im Sinne der Verbesserung der Befindlichkeit könnte mittels eines modifizierten Studiendesigns näher erforscht werden, insbesondere durch Variation der Anzahl der Therapiesitzungen und der Abstände dazwischen um den Therapieaufwand der GEBO optimieren. Es empfiehlt sich (wie weiter oben bereits für die EMPHO-Messungen ausgeführt) möglichst in jeder Therapiesitzung die Ermittlung von Tendenzen der Befindlichkeit, um die Wirkdauer der GEBO, etwaige Einflüsse der Umgebung und Schwankungen genauer analysieren zu können.

Blutentnahme, Transfusion, Nachbeobachtung - GEBO versus GEBS

Das Erlanger Mikrolichtleiter Spektrophotometer (EMPHO, siehe auch Kapitel 3.7, S. 65ff) wurde zur nicht invasiven, über einen kurzen Zeitraum kontinuierlichen Messung der Wirkung der GEBO auf die kapilläre Hämoglobinoxigenierung (prozentualer Anteil des oxigenierten Hämoglobins am Gesamthämoglobin in der kapillären Strombahn) und der relativen Hämoglobinkonzentration (Hb-Konzentration in der kapillären Strombahn relativ zu einem Ausgangswert in Prozent als Parameter des kapillären O₂-Gehaltes eingesetzt. Eine vermehrte O₂-Abgabe an die Umgebung durch Entsättigung des Hämoglobins sollte sich durch einen Abfall der Hämoglobinoxigenierung zeigen lassen. In der Blutentnahmephase der GEBO bzw. GEBS, d. h. der Phase, in der noch kein O₃- oder O₂-behandeltes Blut auf den Patienten einwirkt, zeigt sich beim Vergleich der Werte vor und nach dem jeweiligen Therapiezyklus keine systematische Veränderung. Lediglich beim Vergleich der jeweils 1. Sitzung Verum versus Placebo fällt ein schwach signifikanter Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration ($p < 0,05$) auf. Der Anstieg zeigte sich bei 7 von 8 auswertbaren Datenblöcken⁴. Die entsprechenden Oxigenierungswerte spiegelten diesen Trend nicht wider. Auch beim Vergleich der entsprechenden Wertepaare der jeweils 10. Therapiesitzung war keine signifikante Veränderung nachweisbar.

Eine Ozonwirkung als Ursache für den signifikanten Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration lässt sich ausschließen, da Ozon zu diesem Zeitpunkt auch in der Verum-Gruppe noch nicht appliziert wurde. Auch andere plausible Ursachen sind nicht ersichtlich. Damit dürfte es sich am ehesten um einen Zufallsbefund handeln.

Unerwünschte Wirkungen, Komplikationen

Hinsichtlich der unerwünschten Wirkungen (siehe auch Kapitel 4.5, S. 106) wurden von den Patienten häufiger Erkältung, Bronchitis, Magenschmerzen/Gastritis und Tinnitus genannt. Zwei Mal bildeten sich bei der Re-Infusion des Blutes Koagel, ohne dass jedoch weitere Ereignisse, die auf eine gestörten Blutgerinnung hinweisen würden, eingetreten wären. Es wurden hingegen von keinem der Patienten während der mehr als 200 Therapiesitzungen neu aufgetretene Kopfschmerzen angegeben, während in der voran gegangenen

⁴ Die Patienten 1 und 5 konnten hier aufgrund fehlerhafter Files nicht berücksichtigt werden.

Studie von STENKAMP ET AL. [1997] unter identischen äußeren Bedingungen insgesamt 15 Kopfschmerzereignisse dokumentiert wurden.

Eine Erklärung für diesen Unterschied liegt bei den untersuchten Patientinnen, bei denen es sich um Frauen mit menopausalen Beschwerden einschließlich leichter arterieller Hypertonie handelte, die häufiger spontan Kopfschmerzen angeben.

Unerwünschte Wirkungen bei der GEBO werden minimiert, wenn sowohl die Indikationsstellung (s. S. 17) als insbesondere auch die technischen Empfehlungen für die Durchführung der Autohämotherapie streng beachtet werden.

Klinische Selbstbeurteilungsskalen

Unter den Ozontherapeuten wird häufig die allgemein immunstimulierende Wirkung der GEBO hervorgehoben [BOCCI 1996]. Postuliert werden u. a. eine positive Beeinflussung des Allgemeinbefindens und eine Steigerung der Leistungsfähigkeit. Diese subjektiven Beobachtungen werden jedoch bislang lediglich bei STENKAMP [1997] durch statistisch relevante Daten über den Einfluss der GEBO auf die Befindlichkeit der Patienten bestätigt. Bei der Auswertung der von den Patienten vor und nach einem jeweiligen Therapiezyklus ausgefüllten Skalen zur Beurteilung der psychischen Befindlichkeit (Befindlichkeitskala) und des aktuellen körperlichen Beschwerdebildes (Beschwerdenliste) zeigt sich in der jetzigen Untersuchung jeweils ein signifikanter Trend zu einer Besserung durch Ozontherapie (p jeweils $< 0,05$), während eine entsprechende Änderung der Testscores im Placebo-Zyklus ausbleibt. Beim Vergleich der jeweils 10. Sitzungen von Verum und Placebo ließ hingegen keine der beiden Skalen einen signifikanten Trend erkennen (vergl. Tab. 20, S. 75). Die separate Auswertung von jeweils vier Items aus beiden Skalen, selektioniert nach dem Kriterium „Müdigkeit“, ergibt lediglich in der Verumphase der Beschwerdenliste einen wie bei der gesamten Skala signifikanten Trend ($p < 0,05$). In der Verumphase der Befindlichkeitskala wird hierbei das Signifikanzniveau knapp verfehlt. Anzumerken sei hierbei, dass die Testwerte der vollständigen Skalen den aktuellen subjektiven Befindenzustand in einem globalen Sinne reflektieren und im zeitlichen Längsschnitt Grade der Positionsänderung aufzeigen sollen. Für eine selektive Auswertung – wie hier vorgenommen – sind die Skalen jedoch nicht validiert, da hierfür keine normierte Eichstichprobe existiert. Die durch den Trend in den Skalen von den Patienten dokumentierte Besserung von Befindlichkeit und Beschwerden wurde auch mündlich gegenüber dem anwesenden Personal (wie bereits in der vorausgegangenen Studie [STENKAMP ET AL. 1997]) wiederholt bekundet. Diese mündlichen Angaben der Patienten wurden jedoch nicht systematisch protokolliert.

Da insbesondere in der retrospektiv selektiven Auswertung der beiden Skalen nach dem Kriterium „Müdigkeit“ die Ausgangswerte der Patienten (siehe auch Kapitel 4) im Vergleich mit den Normwerten bereits relativ wenig nach oben abweichen, erscheint die gefundene Veränderung durch die Ozontherapie um so bemerkenswerter. Bei der Diagnostik des CFS sollten Selbstbeurteilungsskalen wie die in dieser Studie verwendeten bereits frühzeitig eingesetzt werden, da sie auch bei nicht besonders stark ausgeprägten Symptomen (wie bei den Patienten dieser Studie) offenbar sensitiv sind. Systematische Untersuchungen sind zu empfehlen.

Laborergebnisse

Beeinflussung der Lipoproteinfraktionen im Serum

Auf den umstrittenen Einfluss der verschiedenen Formen der Therapie mit Ozon auf Cholesterin und Triglyzeride wurde bereits ausführlich in einer vorhergehenden Dissertation eingegangen [STENKAMP ET AL. 1997]. Während STENKAMP eine Tendenz zum Anstieg der LDL-Fraktionen allein unter GEBO beobachtete, findet sich in der hier vorliegenden Studie ein signifikanter Abfall des absoluten HDL-Wertes in der GEBS ($p < 0,05$), während der relative HDL-Anteil im Serum sowohl unter Ozon als auch unter Placebo signifikant abfiel (jeweils $p < 0,025$). Ferner im Gegensatz zu STENKAMP blieb das prä- β -Lipoprotein (VLDL) nicht unverändert, sondern stieg sowohl unter Autohämotherapie mit O_3 als auch mit O_2 signifikant an. Die jetzt beobachteten Veränderungen lassen den Schluss einer eindeutig gegensinnigen Beeinflussung des Fettstoffwechsels durch die beiden Therapieformen folglich nicht zu. Unter den verschiedenen Einflüssen der Autohämotherapie allgemein ist der hier zugrunde liegenden Untersuchung zufolge auf die Ozoneinwirkung allein lediglich der signifikante prozentuale Anstieg der β -Lipoproteine (LDL) zurückzuführen. Unter O_2 -Therapie war der Anteil dieser Lipidfraktion nämlich gleich geblieben. Hinsichtlich der absoluten Menge der β -Lipoproteine zeigte sich unter der O_2 - und stärker, jedoch noch nicht signifikant, unter O_3 -Therapie eine Zunahme.

Dem relativen LDL-Anstieg unter Ozon steht ein relativer Abfall der HDL-Fraktion sowohl bei der GEBS als auch bei der GEBO gegenüber. Bei den Absolutwerten beobachtet man jedoch einen geringen Anstieg des HDL unter Therapie mit Ozon, hingegen einen signifikanten Abfall unter O_2 -Therapie.

Zusammenfassend bleibt die schon bekannte Beobachtung einer ungünstigen Beeinflussung des Fettstoffwechsels unter Autohämotherapie mit Ozon unwiderlegt. Dies wird in erster Linie auf den Anstieg von LDL zurückgeführt.

Keine Erklärung findet sich gegenwärtig für die signifikante Verminderung der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (ALT) unter Autohämotherapie mit Ozon ohne entsprechende Veränderung unter Placebo. Zu erwarten wäre eher ein Anstieg der lediglich extramitochondrial im Zellplasma vorkommenden Transaminase im Sinne einer potenziellen Leberzellschädigung. Die im Zellplasma und in den Mitochondrien lokalisierte Glutamat-Oxalazetat-Transaminase (AST) würde erwartungsgemäß weniger sensitiv auf die aggressiven Intermediärprodukten des Ozons reagieren.

Der unter O_2 -Therapie beobachtete signifikante Abfall von Serumkalium und Kreatinin findet in der vorausgegangenen Arbeit [STENKAMP ET AL. 1997] ebensowenig ein Korrelat wie der ALT-Abfall unter O_3 -Therapie. Die insgesamt geringen Veränderungen sind somit vermutlich eher Zufallsbefunde.

Antikoagulation

Hinsichtlich der Antikoagulation ozonbehandelten venösen Vollblutes wurde gezeigt, dass allgemein der Zusatz von Zitrat deutlich seltener zu Hyperkoagulation bzw. Hämorrhagie führt als der Zusatz von Heparin

[BOCCI 1996]. Der Zusatz von Ozongas der hier verwendeten Konzentration (40 µg/ml) fördert die Thrombozytenaggregation in venösem Blut *ex vivo* erheblich [BOCCI ET AL. 1998(A)]. Daher erfolgte auch in dieser Studie die Antikoagulation mittels Zitratzusatz (s.o.).

Analyse des Therapieaufwands

In der vorausgegangenen Studie von STENKAMP ET AL. [1997] werden der zeitliche Arbeitsaufwand für einen Therapiezyklus von 10 Sitzungen auf 5 Zeitstunden (ärztliches und Hilfspersonal) und der Kostenaufwand für das notwendige Material auf 600 bis 1.000 Euro veranschlagt. Nicht inbegriffen sind die Kosten für die fachgerechte Entsorgung des mit Patientenblut kontaminierten Materials, welches bei in den letzten Jahren deutlich gestiegenen Entsorgungskosten einen nicht unerheblichen Kostenfaktor darstellt.

Es wäre erwägenswert, weitere Studien mit der Fragestellung anzuschließen, ob gemäß klinischer Selbstbeurteilungsskalen auch andere, kostengünstigere und weniger aufwändige Therapiemaßnahmen wie z. B. Akupunktur oder balneotherapeutische Maßnahmen zu einer der GEBO vergleichbaren Verbesserung des Allgemeinbefindens der hier untersuchten Patienten mit chronischer Müdigkeit führen. Zu berücksichtigen ist hierbei allerdings, dass diese Patienten in der Regel bereits eine Anzahl von Therapiemaßnahmen und Arztkontakten absolviert haben und möglicherweise die in dieser Studie ausgezeichnete Compliance bei anderen Therapiemaßnahmen schwerlich erreicht wird.

Beeinflussung des Gerinnungssystems und Probleme bei der venösen Punktion

In der vorangegangenen Arbeit von STENKAMP [1997] wurde bereits ausführlich die Beeinflussung des Gerinnungssystems und der Thrombozytenfunktion durch die GEBO untersucht. Zwar trat auch in der hier vorliegenden Studie eine verstärkte Koagulationsneigung *ex vivo* auf, jedoch im Vergleich zu STENKAMP deutlich seltener (hier 3 von 10 Patienten [1x Ozon, 2x Placebo], bei STENKAMP 6 von 14 Patienten). Dennoch besteht bei 10 Therapiesitzungen mit mindestens ebenso vielen Punktionen einer Kubitalvene ein entsprechendes Risiko für die Entwicklung einer Phlebitis.

Zusammenfassung

Die medizinische Ozonanwendung begann in Deutschland in den 30er Jahren und wurde jahrzehntelang allein aufgrund von Erfahrungswerten durchgeführt. Ab Mitte der 50er Jahre ermöglichten moderne Ozongeneratoren die präzise Messung und Anwendung gewünschter Ozonkonzentrationen im geschlossenen System. Unter den vielfältigen Applikationsformen hat sich die Große Eigenblutbehandlung mit Ozon (GEBO) inzwischen als die am einfachsten zu handhabende Therapieform herausgestellt und wird bei einer Vielzahl von Erkrankungen und Befindlichkeitsstörungen therapeutisch eingesetzt. Bis zu 300 ml frisch entnommenes Patientenblut werden gegenüber einem Ozon-Sauerstoff-Gemisch im geschlossenen System exponiert und unverzüglich re-infundiert.

Mangels der Verfügbarkeit kontrollierter randomisierter Studien zur Wirksamkeit der GEBO verweisen die Kritiker der Ozontherapie zu Recht auf den Placeboeffekt. Ließe sich die GEBO jedoch hinsichtlich ihrer Effektivität mit Standardpharmaka wie z. B. Zytokininduktoren vergleichen, so wäre sie angesichts vergleichsweise sehr geringer Nebenwirkungen und bei fehlender Toxizität als alternative Therapieform erwägenswert.

Die vorliegende Arbeit prüft mit einer placebokontrollierten, randomisierten, doppelblinden Cross-over-Studie den Therapieeffekt der GEBO bei Patienten mit chronischem Müdigkeitssyndrom mit zwei unterschiedlichen Ansätzen:

So wurde der Einfluss der GEBO auf das aktuelle allgemeine Befinden der Patienten anhand zweier validierter klinischer Selbstbeurteilungsskalen untersucht. Sowohl bei der Befindlichkeitsskala (Hauptzielkriterium) als auch bei der Beschwerdenliste nach von Zerssen, die von den Patienten vor und nach jedem Therapiezyklus ausgefüllt wurden, ergaben sich nach dem Zyklus mit Ozon, nicht jedoch nach dem Placebozyklus mit Sauerstoff signifikant niedrigere Werte, d. h. eine Verbesserung der Befindlichkeit bzw. des Beschwerdebildes.

Die GEBO soll die Abgabe von O_2 an das Gewebe der kapillären Endstrombahn erleichtern. Dafür wurden mit einem spektrophotometrischen Verfahren (EMPHO II) die intrakapilläre Hämoglobinoxigenierung und die relative Hämoglobinkonzentration gemessen und der intrakapilläre O_2 -Gehalt der Haut während der ersten und zehnten GEBO- bzw. GEBS-Therapiesitzung berechnet.

Es lässt sich beim Vergleich der Blutentnahme- mit der Transfusionsphase sowohl bei der intrakapillären Oxigenierung als auch bei der relativen Hämoglobinkonzentration und dem daraus errechneten O_2 -Gehalt ein signifikanter Abfall im Verum-Zyklus beobachten, aber nur in der 10., jedoch nicht in der 1. Sitzung und auch nicht im Placebo-Zyklus. Hiermit wird die Hypothese einer durch die GEBO erleichterte Abgabe von O_2 an das Gewebe des kapillären Stromgebietes gestützt. Da sich dieser Trend jeweils erst am Ende eines Zyklus abzeichnet, ist ein Summationseffekt der Therapiesitzungen zu vermuten.

Die vorliegende Pilotstudie zeigt somit, dass die bekannte günstige, allerdings nicht nachhaltige Wirkung der GEBO auf das Allgemeinbefinden der Patienten zu objektivieren ist und nicht allein auf einen Placeboeffekt zurückgeführt werden kann. Weitere Untersuchungen gerade auch im Hinblick auf die geringe Nebenwirkungsrate wären wünschenswert.

7 Anhang

Befindlichkeitskala

Bf-S´

Institution:

I-Nr.:

Station:

ICD-Nr.:

Bf´

Datum:

Uhrzeit: /

V-IQ:

Wt:

Tz:

Ab hier vom Patienten auszufüllen:

Name:

Vorname:

Beruf:

Geburtsname:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Alter:

Im folgenden finden Sie eine Reihe von Eigenschaftspaaren. Bitte entscheiden Sie - ohne lange zu überlegen -, welche der beiden Eigenschaften Ihrem augenblicklichen Zustand am ehesten entspricht. Machen Sie in das Kästchen hinter der eher zutreffenden Eigenschaft ein Kreuz. Nur wenn Sie sich gar nicht entscheiden können, machen Sie ein Kreuz in der Spalte „weder - noch“. Lassen Sie keine Zeile aus.

Ich fühle mich jetzt:

		eher		eher	weder - noch
1.	aufgeschlossen	0	gehemmt	2	1
2.	guter Dinge	0	trübsinnig	2	1
3.	antriebslos	2	betriebsam	0	1
4.	anfällig	2	robust	0	1
5.	zielstrebig	0	ziellos	2	1
6.	ernst	2	heiter	0	1
7.	einfallsarm	2	einfallsreich	0	1
8.	empfindlich	2	unempfindlich	0	1
9.	pessimistisch	2	optimistisch	0	1
10.	sorglos	0	grüblerisch	2	1
11.	zerschlagen	2	munter	0	1
12.	liebesfähig	0	liebesunfähig	2	1
13.	schuldig	2	unschuldig	0	1
14.	erschöpft	2	erholt	0	1
15.	lebensmüde	2	lebenslustig	0	1
16.	gut	0	böse	2	1
17.	fröhlich	0	traurig	2	1
18.	geliebt	0	ungeliebt	2	1
19.	träge	2	aktiv	0	1
20.	verschlossen	2	zugewandt	0	1
21.	lebendig	0	lebloß	2	1
22.	temperamentvoll	0	lahm	2	1
23.	aufmerksam	0	zerstreut	2	1
24.	verzweifelt	2	hoffnungsvoll	0	1
25.	zufrieden	0	unzufrieden	2	1
26.	ängstlich	2	draufgängerisch	0	1
27.	kraftvoll	0	kraftlos	2	1
28.	ausgeglichen	0	rastlos	2	1

Beschwerdenliste

B-L´

B´

Institution:

Station:

Datum:

Wt:

I-Nr.:

ICD-Nr.:

Uhrzeit: /

Tz:

V-IQ

Ab hier vom Patienten auszufüllen:

Name:

Geburtsname:

Vorname:

Geburtsdatum:

Alter:

Beruf:

Geschlecht:

	Ich leide unter folgenden Beschwerden	stark	mäßig	kaum	gar nicht
1.	Kopfschmerzen bzw. Druck im Kopf oder Gesichtsschmerzen	3	2	1	0
2.	Müdigkeit	3	2	1	0
3.	Gleichgewichtsstörungen	3	2	1	0
4.	Anfallsweise Atemnot	3	2	1	0
5.	Erstickungsgefühl	3	2	1	0
6.	Neigung zum Weinen	3	2	1	0
7.	Appetitlosigkeit	3	2	1	0
8.	Schluckauf	3	2	1	0
9.	Herzklopfen, Herzjagen oder Herzstolpern	3	2	1	0
10.	Rasche Erschöpfbarkeit	3	2	1	0
11.	Angstgefühl	3	2	1	0
12.	Leibschmerzen (einschl. Magen- oder Unterleibsschmerzen)	3	2	1	0
13.	Verstopfung	3	2	1	0
14.	Energielosigkeit	3	2	1	0
15.	Gelenk- oder Gliederschmerzen	3	2	1	0
16.	Konzentrationsschwäche	3	2	1	0
17.	Kalte Füße	3	2	1	0
18.	Mangel an geschlechtlicher Erregbarkeit	3	2	1	0
19.	Leichtes Erröten	3	2	1	0
20.	Frieren	3	2	1	0
21.	Aufsteigende Hitze, Hitzewallungen	3	2	1	0
22.	Trübe Gedanken	3	2	1	0
23.	Innere Gespanntheit	3	2	1	0
24.	Taubheitsgefühl („Einschlafen“, „Absterben“, Brennen oder Kribbeln in Händen und/oder Füßen	3	2	1	0

8 Alphabetisches Literaturverzeichnis

- AKEY DH, WALTON TE. Liquid phase study of ozone inactivation of venezuelan equine encephalomyelitis virus. *Appl Environ Microbiol* 1985; 50: 882
- ALBRECHT HP, FRANK K, KESSLER M. Erfassung der kutanen Sauerstoffversorgung in vivo mit dem Erlanger Mikrolichtleiter Spektrophotometer EMPHO I. *Zentralbl Haut Geschlechtskr* 1990; 158: 110-123
- ALBRECHT HP. Systematische Untersuchungen der lokalen intrakapillären Hämoglobinoxigenierung und Hämoglobinkonzentration und des kutanen Sauerstoffpartialdruckes an der menschlichen Haut. Inauguraldissertation Universität Erlangen, Nürnberg 1987
- ANDERSON RR, PARRISH JA. The optics of human skin. *J Invest Dermatol* 1981; 77: 13-19
- ANDREULA CF, SIMONETTI L, DE SANTIS F, AGATI R, RICCI R, LEONARDI M. Minimally-invasive oxygen-ozone therapy for lumbar disc herniation. *Am J Neuroradiol* 2003; 24: 996-1000
- AU AM, CHAN PH, FISHMAN RA. Stimulation of phospholipase A₂ activity by oxigen-derived free radicals in isolated brain capillaries. *J Cell Biochem* 1985; 27:449-453
- AUBOURG P. L'ozone médical: production, posologie, modes d'application cliniques. *Bull Med Paris* 1938; 52: 745-749
- BAILEY PS. Ozonation in organic chemistry (vol 1). Olefinic Compounds, Academic Press, New York, 1978(A): 220-237
- BAILEY PS. The reaction of ozone with organic compounds. *Chem Rev* 1978(B); 58: 925-930
- BALTIN H. Sauerstoff-Partialdruckmessung im arteriellen und venösen Blut vor, während und nach Ozon-Behandlung. *OzoNews* 1983; 2: 40
- BECKER S, MADDEN MC, NEWMAN SL, DEVLIN RB, KOREN HS. Modulation of human alveolar Macrophage properties by ozone exposure in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol* 1991; 110: 403-415
- BELLHORN M, BLUMENFELD OO, GALLOP PM. Acetylcholinesterase of the human erythrocyte membrane. *Biochem Biophys Res Commun* 1970; 39: 267
- BENDER LF, BLANCHARD K. Ozone in oil. *Med Soc NY*. 1938; 35: 551
- BEUTLER E, WEST C. Storage of red cell concentrates in CPD-A2 for 42 and 49 days. *J Lab Clin Med* 1983; 102: 53-62
- BOCCI V. Determinants of erythrocyte ageing: A reappraisal. *Brit J Haematol* 1981; 48: 515-522
- BOCCI V. Roles of interferon produced in physiological conditions. A speculative review. *Immunology* 1988; 64: 1-9
- BOCCI V. Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and immunodeficiencies. A hypothesis. *Med Hypotheses* 1992; 39: 30-34
- BOCCI V. A reasonable approach for the treatment of HIV infection in the early phase with ozone therapy (auto-hemotherapy). How inflammatory cytokines may have a therapeutic role. *Mediat Inflamm* 1994(A); 3: 315-321
- BOCCI V. Autohemotherapy after treatment of blood with ozone. A reappraisal. *J Int Med Res* 1994(B); 22: 131-144
- BOCCI V. Ozone therapy today. In: Proceedings of the 12th Ozone World Congress, May 1995. Lille, France. Tours. Intaprint, SA 1995: 13-28

- BOCCI V. Ozone: a mixed blessing. *Forsch Komplementärmed* 1996; 3: 25-33
- BOCCI V, PAULESU L. Studies on the biological effects of ozone. 1. Induction of Interferon- γ on human leucocytes. *Haematologica* 1990; 75: 510-515
- BOCCI V, LUZZI E, CORRADESCHI F, PAULESU L, DI STEFANO A. Studies on the biological effects of ozone. 3. An attempt to define conditions for optimal induction of cytokines. *Lymphokine Cytokine Res* 1993(A); 12: 121-126
- BOCCI V, LUZZI E, CORRADESCHI F, PAULESU L, ROSSI R, CARDAIOLI E, DI SIMPLICIO P. Studies on the biological effects of ozone: 4. Cytokine production and glutathione levels in human erythrocytes. *J Biol Regul Homeost Agents* 1993(B); 7: 133-138
- BOCCI V, LUZZI E, CORRADESCHI F, PAULESU L. Studies on the biological effects of ozone: 5. Evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy. *Biotherapy* 1994(A); 7: 83-90
- BOCCI V, LUZZI E, CORRADESCHI F, SILVESTRI S. Studies on the biological effects of ozone: 6. Production of transforming growth factor b by human blood after ozone treatment. *J Biol Regul Homeost Agents* 1994(B); 8: 108-112
- BOCCI V, VALACCHI G, CORRADESCHI F, ALDINUCCI C, SILVESTRI S, PACCAGNINI E, GERLI R. Studies on the biological effects of ozone: 7. Generation of reactive oxygen species (ROS) after exposure of human blood to ozone. *J Biol Regul Homeost Agents* 1998(A); 12; 3: 67-75
- BOCCI V, VALACCHI G, CORRADESHI F, FANETTI G. Studies on the biological effects of ozone: 8. Effects on the total antioxidant status and on interleukin-8 production. *Mediat Inflamm* 1998(B); 7: 313-317
- BOREK C. Ozone carcinogenesis in vitro and its co-carcinogenesis with radiation. *Ann NY Acad Sci* 1988; 534: 106-110
- BRÜGGER U. Persönliche Mitteilung. Kant. Badewasserinspektor, Bern 1985
- BUCHWALD D ET AL. Functional status in patients with chronic fatigue syndrome, other fatiguing illnesses, and healthy individuals. *Am J Med* 1996; 101: 364-370
- BUCKLEY RD, HACKNEY JD, CLARK K, POSIN C. Ozone and human blood. *Arch Environ Health* 1975; 30: 40-43
- BUTTKE TM, SANDSTROM PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today* 1994; 15: 7-10
- CARDILE V, JIANG X, RUSSO A, CASELLA F ET AL. Effects of ozone on some biological activities of cells in vitro. *Cell Biol Toxicol.* 1995; 11: 11-21
- CARPENDALE MT, FREEBERG J, MCLEOD GRIFFISS J: Does ozone alleviate AIDS diarrhea? *J Clin Gastroenterol* 1993; 17: 142-145
- CSEF H. Chronische Müdigkeit. *Internist* 2001; 42: 1495-1505
- CSEF H. Gemeinsamkeiten von Chronic Fatigue Syndrom, Fibromyalgie und multipler chemischer Sensitivität. *Dtsch Med Wochenschr* 1999; 124: 163-169
- CLARKE NA, BREMAN D. Disinfection of drinking water, swimming pool water and treated sewage effluents, in: Block SS (ed): *Disinfection, Sterilization and Preservation*. Philadelphia, PA, Lea and Febiger, 1983; 524
- CLAVO B, PÉREZ JL, LÓPEZ L, SUÁREZ G, LLORET M, RODRÍGUEZ V, MACÍAS D, SANTANA M, MORERA J, FIUZA D, ROBAINA F, GÜNDEROTH M. Effect of ozone therapy on muscle oxygenation. *J Alt Compl Med* 2003, 9; 2: 251-256
- CONSUMERS´ ASSOCIATION, LONDON. Ozone and ions from air conditioners. *Drug Ther Bull* 1967; 5: 95-96

- COOKE ED, POCKLEY AG, TUCKER AT, KIRBY JDT, BOLTON AE. Treatment of severe Raynaud's syndrome by injection of autologous blood pretreatment by heating, ozonation and exposure to ultraviolet light (H-O-U) therapy. *Int Angiol* 1997; 16: 250-254
- COSMA FA, SIMONETTI L, DE SANTIS F, AGATI R, RICCI R, LEONARDI M. Minimally invasive oxigen-ozone therapy for lumbar disc herniation. *Am J Neuroradiol* 2003; 24: 996-1000
- 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: 347-352
- DASCHNER F. Infektionsgefahr durch Ozontherapie. *DTSCH ÄRZTEBL* 1989; 86; 25/26: 1203
- DEHMLow R, JUNGMANN M-T. Handbuch der Ozon-Sauerstoff-Therapien. Haug Verlag, Heidelberg, 2000
- DER BUND. „Ozon-Wolke“ im Opstermundiger Hallenbad. 1985; 219: 21
- DTSCH FORSCHUNGSGEMEINSCH: Verlag Chemie, Weinheim (1994), MAK- und BAT-Werte-Liste 1994
- DTSCH ÄRZTEBL 2000; 97: Stickoxid bessert Raynaud-Syndrom.
- DEVLIN RB, McDONNELL WF, MANN R, BECKER S, HOUSE DE, SCHREINEMACHERS D, KOREN HS. Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6,6 hours causes cellular and biochemical changes in the lung. *AM J RESPIR CELL MOL BIOL* 1991; 4; 72-81
- DEVLIN RB, KOREN HS. The use of two-dimensional gel electrophoresis to analyze changes in alveolar macrophage proteins in humans exposed to ozone. *Resp Cell Mol Biol* 1990; 2: 281-288
- DIANZANI F, MONAHAN T, SANTIANO M. Mechanism of induction of γ -interferon. *Texas Rep Biol Med* 1981; 41: 99-107
- DIEHM C, RECHTSTEINER HH. Wer heilt hat recht? Ozontherapie, Hämatogene Oxidations- und Sauerstoff-Mehrschritt-Therapie bei arterieller Verschlusskrankheit. Zuckschwerdt (München, Bern, Wien), 1988
- DORSTEWITZ H. The proceedings of the Ninth Ozone World Congress, New York, 1989, Vol 3: 17
- DRISCOLL KE, SCHLESINGER RB. Exposure to ambient air pollutant ozone stimulates arachidonic acid metabolism of rabbit alveolar macrophages. *Pharmacologist* 1986; 28: 183-189
- DÜMLER W. Bestimmung von Hämoglobinoxidierung und relativer Hämoglobinkonzentration in biologischen Systemen durch Auswertung von Remissionsspektren mit Hilfe der Kubelka-Munk-Theorie. In: Dissertation Nat Fak d Univ Erlangen-Nürnberg, 1988
- DYAS A, BOUGHTON BJ, DAS BC. Ozone killing action against bacterial and fungal species; microbiological testing of a domestic ozone generator. *J Clin Pathol.* 1983; 36: 1102-1104
- DZIEDZIC D, WHITE HJ. Response of T-cell-deficient miceto ozone exposure. *J Toxicol Environ Health* 1987; 21: 57-71
- EISENMENGER W. Zur Ozontherapie. In: Oepen I, Prokop O. Außenseitermethoden in der Medizin. Ursprünge, Gefahren, Konsequenzen. Wissensch Buchges. (Darmstadt), 1986
- ERFAHRUNGSHILF 1991; 4: 298
- ESTERBAUER H. Estimation of peroxidative damage. A critical review. *Pathol Biol* 1996; 44: 25-28
- EVANS MD, PRYOR WA. Cigarette smoking, emphysema, and damage to all-proteinase inhibitor. *Amer J Physiol* 1994; 266: L593-L611
- FAHMY Z. Influence of ozone therapy in rheumatoid arthritis. 10th Ozone World Congress. Monac, International Ozone Association 1991; 3: 85
- FISCH EA. Meine Erfahrungen mit der Ozon-Behandlung gangränöser Zähne. *Dtsch Zahnärztl Ztg* 1948; 3: 105

- FOCK RRE, KRUEGER GRF. Chronisches Erschöpfungssyndrom. Eine Standortbestimmung. Dtsch Ärztebl 1991; 2946-2952
- FORSTERMANN U, SCHMIDT HW, POLLOCK JS ET AL. Isoforms of nitric oxide synthase. Characterization and purification from different cell types. Biochem Pharmacol. 1991; 42: 1849-1857
- FRANK K, FUNK R, KESSLER M, ROHEN JW. Spectrometric measurements in the anterior eye vasculature of the albino rabbit – a study with the EMPHO I. Exp Eye Res 1991; 52: 302
- FRANK K, ZÜNDORFF J, KESSLER M, APPELBAUM K, SIEBENHAAR G. In situ monitoring of organs. In: James LB, James ES, eds., Handbook of Critical Care, 3. ed., Little, Brown & Company, Boston, 1990: 145-159
- FRANK KH, KESSLER M, APPELBAUM K, DÜMLER W. The Erlangen micro-lightguide spectrophotometer EMPHO I: Phys Med Biol 1989; 34: 1883-1900
- FRANK KH. Optische Streuung an biologischen Partikeln und Zellen. Inauguraldissertation Universität Erlangen-Nürnberg, 1985
- FLESCHER E, LEDBETTER JA, SCHIEVEN GL, VELA-ROCH N, FOSSUM D, DANH H, OGAWA N, TALAL N. Longitudinal exposure of human T lymphocytes to weak oxidative stress suppresses transmembrane and nuclear signal transduction. J Immunol 1994; 153: 4880-4889
- FREEBERG JK, CARPENDALE MT. Ozone inactivates extracellular HIV at noncytotoxic concentrations. IV. Int Conference on AIDS, Stockholm, 12.-16. Juni 1988, abstract 3560
- FREEMAN BA, MUDD JB. Reaction of ozone with sulfhydryls of human erythrocytes. Arch Biochem Biophys 1981; 208: 212-220
- FREEMAN BA, MILLER BE, MUDD JB. Reaction of ozone with human erythrocytes, in: Assessing Toxic Effect of Environmental Pollutants. Lee SD, Mudd JB (eds), p 151. Ann Arbor Science Publisher, Ann Arbor 1979
- FRIEDBERG F, JANSON LA. Understanding chronic fatigue syndrome. An empirical guide to assessment and treatment. American Psychological Association, Washington DC, 1998
- FRIEDBERG F, DECHEHE L, MCKENZIE MJ, FONTANETTA R. Symptom patterns in long-duration chronic fatigue syndrome. J Psychosom Res 2000; 48: 59-68
- FÜEßL HS. Ozon bei AIDS. Z Allg Med 1991; 67: 1334-1336
- FUKUDA K, STRAUS SE, HICKIE I, SHARPE MC, DOBBINS JG, KOMAROFF A. The chronic fatigue syndrome: A comprehensive approach to its definition and study. Ann Intern Med 1994; 121: 953-959
- FURNHAM A. How the public classify complementary medicine: a factor analytic study. Compl Ther Med 2000; 8: 82-87
- GARBER GE, CAMERON DW, HAWLEY-FOSS N ET AL. The use of ozone-treated blood in the therapy of HIV infection and immune disease. A pilot study of safety and efficacy. AIDS 1991; 5: 981-984
- GIAMALVA DH, CHURCH DF, PRYOR WA. A comparison of the rates of ozonation of biological antioxidants and oleate and linoleate esters. Biochem Biophys Res Commun 1985; 133: 773-779
- GIAMALVA DH, CHURCH DF, PRYOR WA. Effect of bilayer structure on the rates of reaction of ozone with polyunsaturated fatty acids in phosphatidylcholine liposomes. Chem Res Toxicol 1988; 1: 144
- GILGEN A, WANNER HU. Die toxikologische und hygienische Bedeutung des Ozons. Arch Hyg Bakt 1967; 150: 62-78

- GIUNTA R, COPPOLA A, LUONGO C, SAMMARTINO A, GUASTAFIERRO S, GRASSIA A, GIUNTA L, MASCOLO L, TIRELLI A, COPPOLA L. Ozonized autohemotransfusion improves hemorheological parameters and oxygen delivery to tissues in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Ann Hematol* 2001; 80: 745-748
- GOLDSTEIN BD, LAI LY, CUZZI-SPADA R. Potentiation of complement-dependent membrane damage by ozone. *Arch Environ Health* 1974; 28: 40-42
- GOLDSTEIN BD, BALCHUM OJ. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967; 126: 356-9
- HAEUFELE A, SPROCKHOFF H. Ozon als Desinfektionsmittel gegen vegetative Bakterien, Bazillensporen, Pilze und Viren in Wasser. *Zbl Bakt Hyg* 1973; 175: 53-70
- HALLIWELL B, GUTTERIDGE JMC. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 1990; 280: 1-8
- HAMILTON RFJR, LI L, ESCHENBAKER WL, SZWEDA L, HOLIAN A. Potential involvement of 4-hydroxynonenal in the response of human lung cells to ozone. *Amer J Physiol* 1998; 274: L8-16
- HANNA GB, NEWTON DJ, HARRISON DK, BELCH JJF, MCCOLLUM PT. Use of lightguide spectrophotometry to quantify skin oxigenation in a variable model of venous hypertension. *Br J Surg* 1995; 82: 1352-1356
- HARRISON DK, KESSLER M, KNAUF S. Regulation of capillary blood flow and oxygen supply in skeletal muscle in dogs during hypoxaemia. *J Physiol* 1990; 420: 431-446
- HARRISON DK, BIRKENHAGE S ET AL. Regulation of capillary blood flow: A new concept. *Adv Exp Med Biol* 1989; 11: 583-588
- HARRISON DK, BIRKENHAGE S ET AL. The role of high flow capillary channels in the local oxygen supply to the skeletal muscle. *Adv Exp Med Biol* 1988; 222: 623-630
- HART H. Organic chemistry – A short course, ed. 7. Boston, Houghton Mifflin, 1987
- HAVEMEISTER G, JENTSCH F. Ozon- Aktivkohle-Behandlung von Schwimmbad-Meerwasser. *Arch Hyg Bakt* 1971; 154: 447-461
- HEINRICH R, GÜNDEROTH-PALMOWSKI M, MACHAC N. Effects of hemodilution with middle molecular HES solution on muscle tissue pO₂ in healthy volunteers. In: Ehrly AM, Fleckenstein W, Hauss J, Huch R, eds. *Clinical Oxygen Pressure Measurement II*. Berlin: Blackwell Ueberreuter Wissenschaft, 1990: 30-37
- HERNÁNDEZ F, MENÉNDEZ S, WONG R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Rad Biol Med* 1995; 19: 115-119
- HESS ÄRZTEBL 6/85. Ozon-Therapie, Sauerstoff-Therapie nach Regelsberger und Chelat-Therapie, 355
- HOIGNE J, BADER H. Ozonation of water: Selectivity and rate of oxidation of solutes. *Ozone Sci Engin* 1979; 1: 73-85
- HÖPER J, PLASSWILM L. Micro-light guide Spectrophotometric measurement of changes in local hemoglobin oxygenation and concentration in the rabbit lung induced by hypoxia and hyperoxia. *Int J Microcirc* 1994; 14: 286
- HÖPER J, KUCHENREUTHER S, ADLER J. Noninvasive monitoring of intracapillary HbO₂ and Hb in human skin by use of the EMPHO. *Clin Int Care* 1992, Suppl 3: 36
- ILIAKIS E, VALADAKIS V, VYNIOS DH, TISIGANOS CP, AGAPITOS E. Rationalization of the activity of medical ozone on intervertebral disc: a histological and biochemical study. *Riv Neuroradiol* 2001; 14(Suppl 1): 23-30

- ISRAEL N, GOUGEROT-POCIDALO MA, AILLET F, VIRELIZIER JL. Redox status of cells influences constitutive or induced NF- κ B translocation and HIV long terminal repeat activity in human T and monocytic cell lines. *J Immunol* 1992; 149: 3386-3393
- JACOBS M-T. Zwischenfälle und typische Komplikationen in der Ozon-Sauerstoff-Therapie. *Naturheilpraxis* 1982; 3: 444-452
- KÁSLER M, GLAß W VON, ALBRECHT H-P, LANG T. Nichtinvasive intraoperative Messung der intrakapillären Hämoglobinoxigenierung und relativen Hämoglobinkonzentration in Hautlappenplastiken. *HNO* 1990; 38: 375-378
- KAUFMANN SHE. Heat shock proteins and the immune response. *Immunol Today* 1990; 11: 129-136
- KBV, Bundesausschuss der Ärzte und Krankenkassen; 2001: Ozon-Therapie, Ozon-Eigenbluttherapie, Sauerstoff-Ozon-Eigenbluttherapie, Oxyontherapie, hyperbare Ozontherapie
- KESSLER M, HÖPER J. Spatial distribution of oxygen supply units in heart and skeletal muscle and their regulatory significance. In: Erdmann, ed. *Oxygen transport to tissue XIV*. *Adv Exp Med Biol* 1992; 317: 593-598
- KIEBACK D. *Pharmacopsychiat* 1982; 15: 98
- KIEF H. Study of chronic hepatitis and ozone therapy. *Proceedings of the Sixth World Ozone Conference, Washington, DC, 1983, Medical applications of ozone*, 154
- KNIGHT KL, MUDD JB. The reaction of ozone with glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys* 1984; 229: 259
- KNIGHT KL, MUDD JB. The reaction of ozone with glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *Arch Biochem Biophys* 1984; 229: 259-269
- KNOCH HG, KLUG W, ROSCHKE W. Blutgasanalytische Untersuchungen nach rektaler Insufflation von ozonisier-tem Sauerstoff – tierexperimentelle Untersuchungen. *Colo-Proctology* 1987(A); 9: 336-340
- KNOCH HG, ROSCHKE W, KLUG W. Die Sauerstoff-Ozontherapie in der Proktologie. In: Forstmann P et al. (Hrsg.) *Aktuelle Koloproktologie*. Vol 4, Nymphenburg, München, 1987(B)
- KNOWLES RG, MONCADA S. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 1994; 298: 249-258
- KOMAROFF AL ET AL. Health status in patients with chronic fatigue syndrome and in general population and disease comparison groups. *Am J Med* 1996; 101: 281-290
- KONRAD H. Ozone therapy for viral diseases. In: *Proceedings 10th Ozone World Congress, 19-21 March 1991, Monaco*. Zürich: International Ozone Association, 1991, 75-83
- KOREN HS, DEVLIN RB, GRAHAM DE, MANN R, MCGEE MP, HORSTMAN DH, KOZUMBO WJ, BECKER S, HOUSE D, McDONNELL WF, BROMBERG PA. Ozone-induced inflammation in the lower airways of human subjects. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 407-415
- KROGH A. The number and distribution of capillaries in muscles with calculations of the oxygen pressure necessary for supplying the tissue. *J Physiol* 1919(a); 52: 409-415
- KROGH A. The supply of oxygen to the tissues and the regulation of the capillary circulation. *J Physiol* 1919(b); 52: 457-477
- KUCHENREUTHER S, ADLER J, SCHÜTZ W, EICHELBRÖNNER O, GEORGIEFF M. The Erlanger Microlightguide Photometer: A new concept for monitoring intracapillary oxygen supply of tissue – first results and a review of the physiological basis. *J Clin Monitor* 1996; 12: 211-224
- KURODA M, SAKIYAMA F, NARITA K. *J Biochem* 1975; 78: 641-651

- LEE SD, MUSTAFA MD, MEHLMAN MA (HRSG) 1983. The biomedical effects of ozone and related photochemical oxidants. In: *Advances in modern environmental toxicology*. Princeton Scientific Publishers, Princeton, NY; 5: 1-671
- LENDER C. *Das unreine Blut und seine Reinigung durch negativ elektrischen Sauerstoff*. Seehagen (Berlin) 1870; 55-85
- LENARDO M, SIEBENLIST U. Bcl-3-mediated nuclear regulation of the NF- κ B trans-activating factor. *Immunol Today* 1994; 15: 145-147
- LEONARDI M, SIMONETT L, BARBARA C. Effeti dell'ozono sul nucleo polposo: reperti anatomico-patologici su un caso operato. *Riv Neuroradiol* 2001; 14 (Suppl 1): 57-59
- LIPPMANN M. Health effects of ozone, a critical review. *J Am Air Pollut Control Ass* 1989; 39: 672-695
- LIU Y, LEHMANN M, BAUR C, STORCK M, SUNDER-PLOSSMANN L, STEINACKER JM: HSP70 Expression in skeletal muscle of patients with peripheral arterial occlusive disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002; in print:1–5.
- MACKENSEN A, GALANOS C, ENGELHARDT R. Treatment of cancer patients with endotoxin induces release of endogenous cytokines. *Pathobiology* 1991; 59: 264-267
- MADDEN MC, ELING TE, FRIEDMAN M. Ozone inhibits endothelial cell cyclooxygenase activity through formation of hydrogen peroxide. *Prostaglandins* 1987; 34: 445
- MADDEN MC, ELING TE, DAILEY LA, FRIEDMAN M. The effect of ozone exposure on rat alveolar macrophage arachidonic acid metabolism. *Exp Lung Res* 1990; 17: 47-63
- MATTASSI R, D'ANGELO F ET AL. Ozone vs hepatitis and herpes – the choice. *Proceedings of the Sixth World Ozone Conference, Washington, DC, 1983, Medical applications of ozone*, 134
- MATTASSI R. *Ozonoterapia*. Milano: Organizzazione Editoriale Medico Farmaceutica; 1985; 1-179
- MEISTER A. Glutathione-ascorbic acid antioxidant system in animals. *J Biol Chem* 1994; 269: 9397-9400
- METKA M, ENZENSBERGER H, SALSER H, ROKITANSKY A. Zur Frage der Teratogenität und Toxizität von medizinischem Ozon-eine Studie an trächtigen Ratten. *OzoNachr* 1988; 7:21-29
- MEYERS ENZYKLOPÄDISCHES LEXIKON. Ozon. 18: 47-8; Bibliographisches Institut, Mannheim/Wien/Zürich. Lexikonverlag 1978
- MIAN EU; AGOSTINI G. *Principi di balneoterapia ozonizzata*. Pisa, Editioni Dedalus, 1988
- MONCADA S, PALMER RMJ, HIGGS EA. NITRIC OXIDE. *Physiology, pathophysiology and pharmacology*. *Pharmacol Rev.* 1991; 43: 109-142
- MUDD JB, DAWSON PPJ, ADAMS RJ, WINGO J, SANTROCK J. Reaction of ozone with enzymes of erythrocyte membranes. *Arch Biochem Biophys* 1996; 335: 1; 145-151
- MUDD JB, FREEMAN BA. Reaction of ozone with biological membranes. *Biochem Eff Environ Poll Ann Arbor Science* 1977; 97-133
- MYRON AM, BOREK C. Toxicity and biochemical mechanisms of ozone. *Environ Res* 1987; 42: 36-53
- NANNI P, COLOMBO MP, DE GIOVANNI C ET AL. Impaired H-2 expression in B16 melanoma variants. *J Immunogenet* 1983; 10: 361-370
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL 1977. *Toxicology: Ozone and other photochemical oxidants*, National Academy of Sciences, Washington D.C.; 19: 323-387

- OEPEN I, EISENMENGER W, SCHMITT H; MAROSKE D. Nutzen und Risiko der Ozontherapie. *Öff Gesundheitswes* 1983; 45: 323
- OEPEN I, NEIDEL U. Hepatitis C nach Ozon-Eigenblutbehandlung. *Skeptiker* 1996; 9: 44
- O'NEILL CA, VAN DER VLIET A, HU M-L, KAUR H, CROSS CE, LOUIE S, HALLIWELL B. Oxidation of biologic molecules by ozone: The effect of pH. *J Lab Clin Med* 1993; 122: 497-505
- PAULESU L, LUZZI E, BOCCI V. Studies on the biological effects of ozone: 2. Induction of tumor necrosis factor (TNF- α) on human leucocytes. *Lymphokine-Cytokine Res* 1991; 10: 409-412
- PAVLACOVIC M. Erfahrungen mit der Ozontherapie bei peripheren Durchblutungsstörungen. *Schriftenreihe Erfahrungsheilkunde: „Ozon-Therapie“*, S. 155ff.; Hrsg: Wolff HH; Haug-Verlag, Heidelberg 1975
- PAYR, E. Über Ozonbehandlung in der Chirurgie. *Münch Med Wschr* 82, 1935, 220-291
- PELHAM HRB. Speculations on the functions of the major heat shock and glucose-regulated proteins. *Cell* 1986; 46: 959-961
- PHYSIKALISCH-CHEMISCHE GRUNDLAGEN DER OZONTHERAPIE. *Erfahrungsheilkunde* 1975; 5: 129
- PIIPER J, MAYER M. Diffusion-perfusion relationships in skeletal muscle: Models and experimental evidence from inert gas. *Adv Exp Med Biol* 1984: 169
- PRUESS A. Combination immuno-therapy in 14 patients with AIDS. *OzoNachr* 1986; 5: 3-5
- PRYOR WA, LIGHTSEY JW, PRIER DG. The production of free radicals in vivo from the action of xenobiotics: The initiation of autoxidation of polyunsaturated fatty acids by nitrogen dioxide and ozone. In: Yagi K, ed. *Lipid peroxides in biology and medicine*. New York: Academic Press, 1982, 1-22
- PRYOR WA, GIALALVA DH, CHURCH DF. Kinetics of ozonation. 2. Amino acids and model compounds in water and comparisons to rates in nonpolar solvents. *J Am Chem Soc* 1984; 106: 7094-7100
- PRYOR WA, MIKI M, DAS B, CHURCH DF. The mixture of aldehydes and hydrogen peroxide produced in the ozonation of dioleoylphosphatidylcholine causes hemolysis of human red blood cells. *Chem Biol Interact* 1991(A); 79: 41
- PRYOR WA, DAS B, CHURCH DF. The ozonation of unsaturated fatty acids: Aldehydes and hydrogen peroxide as products and possible mediators of ozone toxicity. *Chem Res Toxicol* 1991(B); 4: 341-348
- PRYOR WA, CHURCH DF. The reaction of ozone with unsaturated fatty acids: aldehydes and hydrogen peroxide as mediators of ozone toxicity. In: Davies KJA, ed. *Oxidative damage and repair: chemical, biological and medical aspects*. New York. Pergamon Press, 1991: 496
- PRYOR WA, WANG K, BERMÚDEZ E. Cholesterol ozonation products as biomarkers for ozone exposure in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1992; 188: 618
- PRYOR WA. The antioxidant nutrients and disease prevention – what do we know and what do we need to find out? *Am J Clin Nutr* 1991; 53 (Suppl): 391S-3S
- PRYOR WA. How far does ozone penetrate into the pulmonary air/tissue boundary before it reacts? *Free Radical Biol Med* 1992; 12: 83
- PRYOR WA. Ozone in all its reactive splendor. *J Clin Lab Med* 1993; 122: 483
- PRYOR WA. Mechanisms of radical formation from reactions of ozone with target molecules in the lung. *Free Radic Biol Med* 1994; 17: 451-465
- PRYOR WA, SQUADRITO GL, FRIEDMAN M. The cascade mechanism to explain ozone toxicity: The role of lipid ozonation products. *Free Radical Biol Med* 1995; 6: 936

- RAINBAUER H. Chemische und mikrobiologische Untersuchungen an ozonisiertem Olivenöl. Diplomarbeit, Techn. Univ. Wien, 1979
- RAPPOLT RT. The Ozone Generator. Clin Toxicol 1972; 5: 419-425
- RAZUMOVSKII SD, ZAIKOV GE. Ozone and its reactions with organic compounds, Elsevier, New York, 1984: 1-403
- REID HL, BARNES AJ, LOCK PJ, DORMANDY DL. A simple method for measuring erythrocyte deformability. J Clin Pathol 1976; 29: 855
- RIECHE A, MEISTER R, SAUTHOFF H. Über Ozonide und ihre Spaltung. Ann Chemie 1942-43; 553: 187
- RILLING S, VIEBAHN R. Praxis der Ozon-Sauerstoff-Therapie, 1990. 3. Aufl., 17-27; Fischer (Heidelberg)
- RILLING S, VIEBAHN R. The use of ozone in medicine. Heidelberg: Hang KF; 1987; 1-87
- RIVA SANSEVERINO E, MEDURI RA, PIZZINO A, PRANTERA M, MARTINI E. Effects of oxygen-ozone therapy on age-related degenerative retinal maculopathy. Panminerva Medica 1990; 32: 77-84
- RODIEK SO. Therapie mit Ozon-Sauerstoff. Ärztl Praxis 1977; 29: 3516
- ROGERS G. Ozone and the politics of medicine. Treshold Film Inc., #301 6th Avenue, Vancouver, Canada, 1993
- ROKITANSKI O, ROKITANSKI A, STEINER I, TRUBEL W, VIEBAHN, R, WASHÜTTL J. Die Ozontherapie bei peripheren, arteriellen Durchblutungsstörungen: Klinik, biochemische und blutgasanalytische Untersuchungen in Wasser. Berlin, Ozon-Weltkongress 1981, 53
- ROKITANSKI O. Klinik und Biochemie der Ozontherapie. Hospitalis 1982; 52: 643-647
- ROKITANSKI O, ROKITANSKI A. Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Kapillarendothelzellen nach Ozon-Sauerstoff-Applikation im Tierversuch. OzoNews 1984; 3: 54
- RÖMPP H. Ozon. In: Chemie Lexikon; 4: 4621-6. Francksche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1966
- ROSEN HM. Use of ozone and oxygen in advanced waste-water treatment. J WPCF 1973; 45: 2521-2536
- ROSSLENBROICH B. Ozontherapie und Hämatogene Oxidationstherapie (HOT, UVB) im Überblick. In: Bühring M, Kemper FH: Naturheilverfahren und Unkonventionelle Medizinische Richtungen, 1995; 11.01. Springer Loseblattsystem. Berlin-Heidelberg
- ROY D, WONG PKY, ENGELBRECHT RS, CHIAN ESK. Mechanism of enteroviral inactivation by ozone. Appl Environ Microbiol 1981; 41: 718
- SANTROCK J, GORSKI RA, O'GARA JF. Products and mechanism of the reaction of ozone with phospholipids in unilamellar phospholipid vesicles. Chem Res Toxicol 1992; 5: 134
- SCHERRER M. Ozon (O₃). Ars Medici 1986; 5: 200-209
- SCHMITT H. Zur Ozontherapie. Eine kritische Analyse unter besonderer Berücksichtigung der bei dieser Behandlungsmethode beobachteten Zwischenfälle. 1982. Diss. Marburg
- SCHRECK R, RIEBER P, BÄUERLE PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-κB transcription and HIV-1. EMBO J 1991; 10: 2247-2258
- SCHULZ S. Ozonisiertes Olivenöl. Experimentelle Ergebnisse bei der Wundheilung. OzoNachr 1982; 2: 29-33
- SCHULZ S, SCHMITT H, OBERMEYER R, OEPEN I. Einige Ergebnisse und therapeutische Aspekte von ozonisiertem Olivenöl in der Veterinärdermatologie. D Prakt Tierarzt 1: 18ff, 1982
- SCHWARZBACH E: Die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK-Wert) für Ozon-Messergebnisse aus dem häuslichen und industriellen Bereich. VDI-Ber 1977; 270: 149-151
- SCHWEIZ RUNDSCH MED (Praxis) 1996; 33: 85

- SHALLENBERGER F. Intravenous ozone in the treatment of AIDS and HIV-related disorders. Proceedings of the Fourth International Bio-Oxidative Medicine Conference, Reston, VA, 1993
- SHALLENBERGER F. Selective compartmental dominance: an explanation for a noninfectious, multifactorial etiology for acquired immune deficiency syndrome (AIDS), and a rationale for ozone therapy and other immune modulating therapies. *Medical Hypotheses* 1998; 50: 76 (67-80)
- SHINRIKI N, SUZUKI T, TAKAMA K, FUKUNAGA K, OHGIYA S, KUBOTA K, MIURA T. Susceptibilities of plasma anti-oxidants and erythrocyte constituents to low levels of ozone. *Haematologia* 1998; 29/3: 229-239
- SIMMONS ML, MURPHY S. Induction of nitric oxide synthase in glial cells. *J Neurochem* 1992; 59: 897-905
- SLENCZKA W. Hepatitis C nach Ozon-Eigenblutbehandlung. *Dtsch Ärztebl* 1990; 87;C:2274
- SLENCZKA W. Hepatitis-Risiko der Ozon-Eigenblutbehandlung. *Dtsch Ärztebl* 1991; 88: B-337
- STEFFEN H. Blutungszeit und Quickwert bei der Ozontherapie. *Erfahrungsheilkunde* 1977; 26: 219ff
- STENKAMP E. Kardiovaskuläre und metabolische Effekte der „Großen Eigenblutbehandlung mit Ozon“ bei Patienten mit milder arterieller Hypertonie. Dissertation der medizinischen Fakultät der Universität Bonn, 1997
- STOUTEN B. Identification of ambiguities in the 1994 chronic fatigue syndrome research case definition and recommendations for resolution. *BMC Health Serv Res.* 2005; 5: 37
- SUZUKI YJ, MIZUNO M, PACKER L. Signal transduction for nuclear factor kappa B (NF κ B) activation. Proposed location of antioxidant-inhibitable step. *J Immunol* 1994; 153: 5008-5015
- SWEET F, KAO MS, LEE SC, HAGAR WL, SWEET WE. Ozone selectivity inhibits growth of human cancer cells. *Science* 1980; 209: 931-933
- TEIGE B, MCMANUS TT, MUDD JB. *Chem Phys Lipids* 1974; 12: 153-171
- THORP EE; zitiert nach Wolff HH; 1979
- TOWBIN H, SCHMITZ A, JAKSCHIES D, VON WUSSOW P, HORISBERGER MA. A whole blood immunoassay for the interferon-inducible human Mx protein. *J Interferon Res* 1992; 12: 67-74
- TREIB J, GRAUER MT, HAASS A, LANGENBACH J, HOLZER G, WOESSNER R. Chronic fatigue syndrome in patients with Lyme borreliosis. *European Neurology* 2000; 43: 107-109
- UMWELTBUNDESAMT BERICHT 3/90: Luftverschmutzung durch Stickstoffoxide – Ursachen, Wirkungen, Minderung. E. Schmidt Verlag, Berlin, 1990; 97-104
- UPPU RM, PRYOR WA. The reactions of ozone with proteins and unsaturated fatty acids in reverse micelles. 1993 (unpublished)
- VALACHI G, BOCCI V. Studies on the biological effects of ozone: 11. Release of factors from human endothelial cells. *Mediators of Inflammation* 2000; 9: 271-276
- VALDÉS AR, GONZALEZ RB, CEPERO SM ET AL. Atherosclerosis obliterante y ozonoterapia. Administracion por diferentes vias. *Angiologia* 1993; 5: 177-179
- VAN DER ZEE J; TIJSSSEN-CHRISTIANSE K, DUBBELMANN TMAR, VAN STEVENINCK J. The influence on human red blood cells. Comparison with other mechanisms of oxidative stress. *Biochem Biophys Acta* 1987; 924: 111-118
- VERRAZZO G, COPPOLA L, LUONGO C, SAMMARTINO A, GIUNTA R, GRASSIA A, RAGONE R, TIRELLI A. Hyperbaric oxygen, oxygen-ozone-therapy, and rheologic parameters of blood in patients with peripheral occlusive arterial disease. *Undersea & Hyperbaric Medicine* 1995; 22: 17-22
- VIEBAHN R. The use of ozone in medicine. Heidelberg: Karl F. Haug publishers, 1994: 178
- VIEBAHN R, BUSCH KH. *Deutsche und Europäische Patentschrift* 1989

- VIEBAHN R, WASHÜTTL J. Biochemische Aspekte der Ozon-Sauerstoff-Therapie. *Ars Medici* 1986; 5: 194-199
- VIEBAHN R. Deutsches Bundespatent P. DE 41 00 782 Wässrige Ozonpräparate, 1992
- VIEBAHN R: The use of ozone in medicine. Heidelberg, Haug, 1994
- VIEBAHN-HÄNSLER R. Ozontherapie-therapeutische Grundidee und Wirksamkeitsmodelle. *Erfahrungsheilk* 1991; 4: 298
- VIEBAHN-HÄNSLER R. Das Mikro-Perl-System, eine Applikationstechnik zur Immunaktivierung und durchblutungsfördernden Wirkung bei niedrig dosierter Ozontherapie. *Erfahrungsheilk* 1992; 5: 367-372
- VIEBAHN-HÄNSLER R. Ozon-Handbuch. Grundlagen, Prävention, Therapie. In: Beck EG (Hrsg), Beck Verlag 1995; II/1.1: 1-14; V/8.1: 1-8
- WAGNER K, MAYERS D, TORO L ET AL. Der Effekt von Ozon auf Lymphozytenpopulationen in normalem und HIV-infiziertem Blut. V Intern Conf on AIDS, Montreal, June 4-9, Abstract (1989)
- WANNER HU, GILGEN A. Untersuchungen über Raumozoneisatoren und über Ozon-Vorkommen in der Außenluft und in Industriebetrieben. *Arch Hyg Bakt* 1966; 150: 78-91
- WANNER HU. Untersuchungen in Hallenschwimmbädern mit Ozonisierungsanlagen. *Arch Hyg* 1971; 154: 462-473
- WANNER U. Gesundheitliche Gefährdungen durch Ozon. *NZZ* 1985; 72: 69
- WEHRLI F, STEINBART H. Erfahrungen mit der Hämatogenen Oxidations-Therapie (HOT). *Ars medici* 1954; 10: 44-51
- WELCH WJ, MAMMALIAN STRESS RESPONSE. Cell physiology, structure, function of stress proteins and implication for medicine and disease. *Physiol Rev* 1992; 72: 1063-1081
- WERBACH MR. Nutritional strategies for treating chronic fatigue syndrome. *Alternative Medicine Rev* 2000; 5: 93-108
- WERKMEISTER H. Ozon-Sauerstoff-Injektionsbehandlung Krebskranker unter besonderer Berücksichtigung gleichzeitiger Strahlentherapie. *Deutscher Röntgenkongress 1968*, Stuttgart, Thieme 1968
- WERKMEISTER H. The efficacy of O₂/O₃ low-pressure application in badly healing wounds. *Proc. 10th Ozone World Congress 19.-21. März 1991*, Monaco, Zürich, International Ozone Association 1991, 41
- WERNICKE HJ, MAYER D. Ozon. In *Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie*, 1981; 20: 400-409. Verlag Chemie, Weinheim, Dearfield Beach, Florida, Basel
- WESTERMANN J, PABST R. Distribution of lymphocyte subsets and natural killer cells in the human body. *Clin Invest* 1992; 70: 539-544
- WICKRAMANAYAKE GB, RUBIN AJ, SPROUL OJ. Inactivation of Giardia Lamblia cysts with ozone. *Appl Environ Microbiol* 1984; 48: 671-672
- WINDSTOSSER K. Einer Methode der vereinfachten Blutwäsche nach Windstosser. *Erfahrungsheilk* 1977; 26: 193
- WOLFF HH. Über die „kassenübliche“ Ozontherapie. *Erfahrungsheilk* 1975; 24: 123-128
- WOLFF HH. Das medizinische Ozon. 1979(A). Fischer (Heidelberg)
- WOLFF HH. Ergebnisse venöser pO₂-Messungen unter der Ozon-Therapie. Bericht zum Ozon-Therapie-Kongress im Rahmen der Medizinischen Woche , Baden-Baden; S. 39ff, 1979(B)
- WOLFSTÄDTER D. Ozontherapie. In: Bühring M, Kemper FH (Hrsg). *Naturheilverfahren und unkonventionelle medizinische Richtungen*. Heidelberg, New York, London. Springer Verlag, 1994, Bd 2, 11.05: 1

- YAGI K. Assay for blood plasma or serum. *Meth Enzymol* 1984; 105: 328-331
- YU BP. Cellular defences against damage from reactive oxygen species. *Pysiol Rev* 1994; 74: 139-162
- ZABEL W. Ganzheitsbehandlung der Geschwulsterkrankungen. *Hippokrates* 1960; 31: 751-760
- ZÄNKER KS, KROCZEK R. In-vitro synergistic activity of 5-fluorouracil with low dose ozone against a chemo-resistant tumor cell line and fresh human tumor cells. *Chemotherapy* 1990; 36: 147-154
- ZELLER WP, EYZAGUIRRE M, HANNIGAN J, OZOG K, SUAREZ C, SILBERMAN S, HOFFSTADTER A, HURLEY RM. Fast hemoglobins and red blood cell metabolites in citrate phosphatedextrose adenine stored blood. *Ann Clin Lab Sci* 1985; 15: 61-65
- ZERSSEN DV., KOELLER DM, REY ER. Die Befindlichkeitsskala – ein einfaches Instrument zur Objektivierung von Befindlichkeitsstörungen, insbesondere im Rahmen von Längsschnittuntersuchungen. *Arzneimittel-Forsch* 1970; 20: 915-918
- ZERSSEN DV. Die Befindlichkeitsskala. Weinheim, Beltz, 1976
- ZERSSEN DV, KOELLER DM. Die Befindlichkeitsskala. In: *Klinische Selbstbeurteilungsskalen (KSb-S) aus dem Münchner Psychiatrischen Informationssystem (PSYCHIS München)*, Beltz-Test
- ZERSSEN DV. Befindlichkeits-Skala (Bf-S). In *Collegium Internationale Psychiatriae Salarum (Hrsg.)*, Internationale Skalen für Psychiatrie, Weinheim: Beltz-Test, 1981
- ZERSSEN DV. *Klinische Selbstbeurteilungsskalen (KSb-S)*, Beltz Test Gesellschaft, Weinheim, 1981
- ZIMRAN A, WASSER G, FORMAN L, GELBART T, BEUTLER E. Effect of ozone on red blood cell enzymes and intermediates. *Acta Haematol* 1999; 102: 148-151
- ZÜNDORFF J. Intraoperative Untersuchungen zur intrakapillären Sauerstoffversorgung am Myokard des Koronarpatienten und experimentelle Untersuchungen zur zellulären Sauerstoffversorgung am isoliert arbeitenden Rattenherzen. Dissertation, Med Fak der Univ Erlangen-Nürnberg, 1992