

## درمان کووید طولانی یا سندروم پس از کووید - 19

فعالیت محافظتی سلولی بالقوه - اوزون درمانی با روش سالین DIV هاوارد رابینس در

SARS-Co V-2/COVID-19

چکیده: (1) زمینه: ظهور بیماری سندرم حاد تنفسی ویروس کرونا 2 (SARS-CoV-2) (COVID-19) در چین در پایان سال 2019 زمینه ساز شیوع گسترده جهانی شده است. (اوزون درمانی با روش سالین DIV هاوارد رابینس سیستمیک (OT) می تواند به طور بالقوه در مدیریت بالینی چندین عارضه ثانویه در حوزه SARS-Co V-2 مفید باشد. منطق و مکانیسم عمل قبلاً از نظر بالینی در سایر عفونت های ویروسی به اثبات رسیده است و در مطالعات تحقیقاتی نشان داده شده است که در کاهش آسیب اندام ناشی از التهاب و استرس اکسیداتیو بسیار مؤثر است. این بررسی، مطالعات OT را خلاصه می کند که مکانیسم احتمالی محافظت سلولی اوزون و محصولات جانبی فیزیولوژیکی آن را در مورد اندام های هدف تحت تأثیر SARS-CoV-2 نشان می دهد. (2) روش ها: این ارائه در مجموع 74 مقاله اصلی بررسی شده را در بر می گیرد. این بررسی عمدتاً بر روی اوزون به عنوان تعدیل کننده مسیرهای NF-KB/Nrf2 و بیان IL-6/IL-1f3 متمرکز است. (3) نتایج: در مدل های تجربی و معدود مطالعات بالینی موجود، هموستاز تعادل رادیکال های آزاد و آنتی اکسیدانی توسط OT با تعدیل تعادل NF-KB/Nrf2 و بیان IL-6 و IL-1f3 همراه بود. این مکانیسم های مولکولی از اثرات سیتوپروتکتیو OT در برابر آسیب بافتی موجود در بسیاری از بیماری های التهابی، از جمله عفونت های ویروسی، پشتیبانی می کنند. (4) نتیجه گیری: نقش بالقوه محافظت سلولی OT در مدیریت آسیب اندام ناشی از COVID-19 نیازمند تحقیقات بیشتر می باشد و آزمایشات بالینی کنترل شده مورد نیاز است.

## واژگان کلیدی: اوزون درمانی با روش سالین DIV هاوارد رابینس1؛ SARS-CoV-2؛ مسیر NF-KB; Nrf2 ؛Keap1/Nrf2/ARE

### 1. مقدمه

کرونا ویروس ها پاتوژن های مهم انسانی و حیوانی هستند. در پایان سال 2019، یک کروناویروس جدید به عنوان عامل خوشه ای از موارد ذات الریه در ووهان (استان هوبی چین) شناسایی شد و موجب شیوع گسترده جهانی شد که نشان دهنده یک مشکل عمده بهداشت عمومی است [1]. این بیماری به سرعت گسترش یافت و منجر به یک اپیدمی در سراسر چین شد و موارد افزایش یافته در سطح جهانی گزارش شد. در فوریه 2020، سازمان بهداشت جهانی بیماری کووید-19 را که مخفف بیماری کروناویروس 2019 است، اعلام نمود [2]. ویروسی که باعث COVID-19 می شود به عنوان سندرم حاد تنفسی ویروس کرونا 2 (SARS-CoV-2) شناخته می شود که قبلاً از آن به عنوان 2019-nCoV یاد می شد. SARS-CoV-2 ارتباط نزدیکی با دو کروناویروس شبیه به سندرم تنفسی حاد حاد ناشی از خفاش دارد، bat-SL-CoVZC45 و bat-SL-CoVZXC21، به ویژه BetaCoV/bat/Yunnan/RaTG13/2013 شبیه سارس انسانی هستند. [3] CoV-2- CoV-2. این مورد نشان داده شده است که دارای تنوع ژنتیکی زیاد و تکامل سریع است [4].

SARS-CoV-2 از طریق انتقال انسان به انسان به واسطه قطرات تنفسی یا تماس مستقیم منتشر می شود و میانگین دوره نهفتگی عفونت 6.4 روز و مدت اولیه تکثیر (2.24-3.58) روز برآورد شده است [1]. در میان بیماران مبتلا به پنومونی ناشی از SARS-CoV-2، تب

شایع‌ترین علامت بود و به دنبال آن سرفه، ضعف و سرفه خشک در مرحله پرودرومال قرار داشت [5].

درگیری دو طرفه ریه با کدورت شیشه‌ای رایج‌ترین یافته از تصاویر توموگرافی کامپیوتری (CT) از قفسه سینه بود. پیشرفت این پدیده رادیوگرافی در تصاویر CT از مراحل اولیه شروع بیماری مشاهده شد [6].

در حال حاضر هیچ داروی ضد ویروسی دارای مجوز از سازمان غذا و داروی ایالات متحده (FDA)، آژانس دارویی اروپا (EMA)، آژانس اسپانیایی داروها و تجهیزات پزشکی (AEMPS) یا آژانس دارویی ایتالیا برای درمان بیماران مبتلا به کووید-19 وجود ندارد. طبق اطلاعات نویسندگان، هیچ داروی ضد ویروسی برای درمان بیماران مبتلا به COVID-19 تاکنون در هیچ کشوری در جهان مجوز نداشته است. این نکته به طور رسمی توسط WHO تأیید شده است: "در حال حاضر، هیچ واکسن یا درمان دارویی خاصی برای COVID-19 در دسترس نیست" [7]. برخی از مطالعات *in vitro* یا *in vivo* فعالیت درمانی بالقوه ترکیبات در برابر کروناویروس‌های مرتبط را پیشنهاد می‌کنند، اما در حال حاضر هیچ داده‌ای از مطالعات مشاهده‌ای یا کارآزمایی‌های تصادفی‌سازی شده کنترل‌شده بر روی انسان برای حمایت از توصیه‌های درمانی تحقیقاتی برای بیماران مبتلا به COVID-19 تأیید شده یا مشکوک وجود ندارد.

Remdesivir، یک داروی ضد ویروسی تحقیقاتی، گزارش شده است که علیه SARS-CoV-2 فعالیت *in vitro* دارد [8]. تعداد کمی از بیماران مبتلا به COVID-19 برای استفاده دلسوزانه خارج از محیط کارآزمایی بالینی رمدسیویر داخل وریدی دریافت کرده‌اند. یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل‌شده با دارونما Remdesivir برای درمان بیماران بستری در بیمارستان مبتلا به پنومونی و COVID-19 در چین اجرا شده است. کارآزمایی با برچسب باز تصادفی اولیه و امیدوارکننده ترکیبی از Lopinavir-Ritonavir در نهایت مفید

واقع نشد [9]. سایر داروها و پروتکل‌های درمانی که در کارآزمایی‌های بالینی چینی مورد استفاده قرار گرفته‌اند عبارتند از Duranavir، Danoprevir، Cobisistat، Anti-Bevacizumab، Eculizumab، CD147 Humanized Meplazumab، آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسین انسانی نوترکیب 2 (rhACE2)، سلول‌های (UCd-Umbilical) NKd سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق شده (MSCs)، ایمونوگلوبولین‌ها، تنظیم‌کننده‌های گیرنده اسفنگوزین-1-فسفات فینگولیمود، هیدروکسی کلروکین، ویتامین C داخل وریدی، ویتامین D، IFN بتا، گلوکوکورتیکوئیدها، اتوهمترایی اوزون دار (این یکی از موارد بسیار و ترکیبات مورد آزمایش می‌باشد که هنوز داده‌های موفقیت آمیزی در مورد آنها وجود ندارد). کد آزمایشی: ChiCTR2000030165، ChiCTR2000030102 و ChiCTR2000030006 (ChiCTR2000030006) و داروهای طب سنتی چینی، اما تا به امروز هیچ نتیجه‌ای در دسترس نیست. آزمایش‌های بالینی سایر درمان‌های بالقوه برای COVID-19 در حال برنامه‌ریزی است [10،11]. هیچ داروی درمانی خاصی پیدا نشده است [12].

در حالی که به نظر می‌رسد راه اصلی انتقال از طریق یک راه تنفسی باشد، SARS-CoV در دستگاه روده، کلیه و غدد عرق بیماران مبتلا مشاهده شده است و بنابراین ممکن است از طریق مدفوع، ادرار و عرق دفع و منتقل شود. [13]. آنزیم مبدل آنژیوتانسین 2 (ACE2) به احتمال زیاد به عنوان محل اتصال SARS-CoV-2 عمل می‌کند، سوپه‌ای که در همه‌گیری کووید-19 فعلی نقش دارد و مشابه سوپه SARS-CoV دخیل در اپیدمی SARS 2002-2003 می‌باشد [14]. در این اپیدمی، عمده‌ترین بیماری‌های همراه در موارد کشنده شامل فشار خون بالا، دیابت، بیماری عروق کرونر قلب، انفارکتوس مغزی و برونشیت مزمن بود. منبع ویروس سارس 2003-2002 و پاتوژن آن هنوز تایید نشده است.

اوزون (O3) شکل آلتروپ سه‌اتمی اکسیژن است که قدرت اکسیدانی آن بعد از فلونور و پرسولفات سومین و بالاتر از O2 است [15]. برای (اوزون درمانی با روش سالی‌ن DIV

هاوارد رابینس (OT)، در محیط پزشکی، از مخلوط گاز 03/02 استفاده می کند که از اصلاح اکسیژن با درجه پزشکی با استفاده از یک دستگاه اوزون مولد به دست آمده است که به دلیل نیمه عمر کوتاه اوزون باید در محل مصرف شود. در دمای 20 درجه سانتیگراد، غلظت 03 در عرض 40 دقیقه به نصف و در 30 درجه سانتیگراد در 25 دقیقه کاهش می یابد [15]. غلظت های معمول بالینی 03 از 10 تا 60 میکروگرم بر میلی لیتر (با استفاده از 02 به عنوان حامل) متغیر است که بر اساس درصد، ممکن است به صورت مخلوطی از 03 (0.05-0.5٪) و 02 (95-99.5٪) باشد [16]. مکانیسم اصلی f0302 در فیزیولوژی انسان با مفهوم پیش شرطی سازی اکسیداتیو مطابقت دارد [17]. این مفهوم اکنون در هر دو سطح پروتئومی و ژنومی [18]، در مطالعات آزمایشگاهی و در آزمایشات بالینی نشان داده شده است [19]. یک محرک اکسیدان کالیبره شده تا 03/02 می تواند سیستم آنتی اکسیدانی درون زا را تعدیل نموده و به کنترل شرایط مختلف پاتولوژیک کمک کند [20]. مدولاسیون f0302 در مسیر Keap1/Nrf2/ARE و کاهش IL-6 و IL-1f3 در مکانیسم اثر اوزون نقش دارند [21]. این مهم نشان می دهد که اثر محافظت سلولی مشاهده شده در طول درمان 03/02 ممکن است بر شرایط بالینی ناشی از SARS-CoV-2 تأثیر بگذارد.

این بررسی بر روی اثر محافظت سلولی 03/02 در بافت های مختلف متمرکز و عمدتاً از طریق مدولاسیون مسیرهای NF-KB/Nrf2 و سیتوکین های IL-6 و IL-1f3 انجام شده است. شواهد پیش بالینی و بالینی برای حمایت از نقش بالقوه OT در پیشگیری و مدیریت سمیت سلولی ناشی از داروها و بیماری های مختلف از جمله بیماری های ویروسی وجود دارد [21-24].

مکانیسم اصلی مربوط به تعدیل استرس اکسیداتیو و سیتوکین های پیش التهابی است. شرایط کسب شواهد موجود در جستجوی اطلاعات عبارتند از: COVID-19، SARS-CoV-2،

SARS، اوزون، OT، پنومونی ویروسی. پایگاه‌های اطلاعاتی کتابشناختی مورد استفاده: ZOTERO ISCO3، EMBASE، PAHO، LILACS، SciELO، MEDLINE/PubMed، پلتفرم ثبت کارآزمایی‌های بالینی بین‌المللی WHO و NIH. در کتابخانه ملی پزشکی ایالات متحده نوع اسناد بررسی شده بین سال‌های 1980 تا 2020 به زبان روسی یا انگلیسی منتشر شد و شامل: مقالات اصلی، پایان‌نامه منتشر شده، گزارش‌های بالینی، کارآزمایی‌های بالینی در حال انجام و بررسی‌های کتابشناختی بود. معیارهای خروج، عدم دسترسی آزاد به متن کامل به دلیل محدودیت‌های مالی و/یا مطالعاتی که با شواهد علمی ناکافی داشتند، بود.

## 2. اقدامات درمانی بالقوه اوزون در بیماری‌های ویروسی

اوزون می‌تواند ویروس‌ها را از طریق اکسیداسیون مستقیم اجزای آن غیرفعال کند [25]. با این حال، فعالیت ویروس‌کشی در داخل بدن زمانی که ویروس‌ها در مایعات بیولوژیکی هستند یا حتی بدتر از آن، زمانی که داخل سلولی هستند (پنوموسیت‌ها، هپاتوسیت‌ها، اپیتلیوم، لنفوسیت‌های CD4+، مونوسیت‌ها، سلول‌های گلیال و سلول‌های عصبی) نامشخص می‌شود، زیرا سیستم آنتی‌اکسیدانی قوی سلول از یکپارچگی ویروس محافظت می‌کند [15]. به همین دلیل است که استفاده از تزریق I.V. مستقیم گاز یا سایر روش‌های غیر توصیه شده برای استفاده از اوزون غیر منطقی است [16، 26]. OT نشان دهنده یک درمان کمکی و مکمل مفید است اما نه اوزون و نه H2O2 (یکی از واسطه‌های اصلی O3) نمی‌توانند در بافت‌ها به غلظت کافی برسند زیرا ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما از پاتوژن‌های آزاد محافظت می‌کند و ویروس‌های داخل سلولی غیرقابل دسترس هستند [27]. به منظور بررسی اثربخشی OT در بیماری‌های ویروسی، Bocci و Paulesu [28] این امکان را توضیح دادند که چگونه اوزون ممکن است در داخل بدن عمل کند. مکانیسم‌های زیر ممکن است مرتبط باشند:

1. به نظر می‌رسد که درمان طولانی‌مدت (اوزون درمانی با روش سالین DIV هاوارد رابینس قادر به ایجاد سازگاری با استرس اکسیداتیو است، بنابراین تعادل مجدد حالت ردوکس سلولی، که یک فرآیند اساسی برای مهار تکثیر ویروسی است. مکانیسم متناقضی که توسط اوزون (یک اکسیدان قوی) می‌تواند پاسخ آنتی‌اکسیدانی را القا کند، در حال حاضر این مورد نه تنها در سطح پروتئومی، بلکه در سطح ژنومی نیز نشان داده شده است. استفاده از اوزون در دوز درمانی فاکتور هسته ای Nrf2 و NF-KB را تعدیل می‌کند و هموستاز محیط آنتی‌اکسیدانی را القا می‌کند [29، 18-32]. استرس اکسیداتیو و ایمنی ذاتی نقش کلیدی در مسیرهای آسیب ریوی دارند که شدت سمیت سلولی حاد ریه را در طول عفونت‌های ویروسی مانند SARS کنترل می‌کنند [33].

2. القای سیتوکین‌های ضد ویروسی مانند IFN و مدولاسیون سیتوکین‌های پیش‌التهابی به عنوان IL-6، با اوزون زنی خون مانند اتوهمترابی بزرگ (MAH) نشان داده شده است. اگرچه اوزون یک القاکننده ضعیف است، لنفوسیت‌ها و مونوسیت‌های تزریق شده در طی اتوهمترابی مایور (MAH) می‌توانند از طریق سیستم لنفوئیدی مهاجرت کرده و سلول‌های دیگر را فعال کنند که به مرور زمان منجر به تحریک سیستم ایمنی می‌شود [34، 32]. این ممکن است یک فرآیند مهم باشد زیرا مشخص است که وضعیت یک بیماری حاد ویروسی شدیدتر می‌شود زیرا ویروس به ویژه بدخیم است، جمعیت ویروسی ناهمگن به سرعت تکامل می‌یابد و از کنترل ایمنی فرار می‌کند و یا دلیل آن این است که سیستم ایمنی نسبت به آنتی‌ژن‌های ویروسی مقاومت دارد و قادر به مقابله با عفونت نیست. علاوه بر این، علاوه بر القای H0-1 [18] که یک آنزیم محافظ است، برخی از پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP) مانند HSP60، HSP70 و HSP90 نیز آزاد می‌شوند که بر فعالیت ویروس‌کشی نیز تأثیر دارند. این پروتئین‌ها فعال‌کننده‌های قوی سیستم ایمنی ذاتی هستند و قادر به القای سیستم مونوسیت-ماکروفاژ و فعال‌سازی سلول‌های ارائه‌دهنده آنتی‌ژن

هستند [15،35]. شواهد نشان می دهد که در طول همه گیری COVID-19، وخامت شدید برخی از بیماران ارتباط نزدیکی با یک فرآیند التهابی نامنظم به نام "طوفان سیتوکین" دارد [36،37].

3. اکسیژن-ازون درمانی اکسیژن رسانی را [38،39]، به ویژه در بافت های کم اکسیژن بهبود می بخشد [40].

بیماران مبتلا به SARS مستعد ابتلا به هیپاتیت غیراختصاصی خفیف [41]، فیروز ریه [42] و نارسایی کلیه [43] هستند. OT متابولیسم کبدی را تثبیت می کند و تمایل به عادی سازی سطوح فیبرینوژن و پروترومبین پلازما در بیماران مبتلا را دارد که نشان دهنده بهبود سنتز پروتئین کبدی است [15]. تحقیقات گسترده ای وجود دارد که اثر محافظتی سلولی اوزون را برای جلوگیری از اکسیداتیو آسیب به قلب [44،45]، کبد [46،47]، ریه ها [48] و بافت های کلیه [49] نشان می دهد. نویسندگان در یک بررسی اخیر، اثر محافظت سلولی اوزون را برای پیشگیری و حتی درمان آسیب های ناشی از شیمی درمانی در بافت قلب، کبد، کلیه و ریه توضیح داده اند [22].

4. در طول اوزون زنی خون خارج از بدن برای اتوهمترایی جزئی، با استفاده از غلظت اوزون نزدیک به 90 میکروگرم در میلی لیتر در هر میلی لیتر خون، ممکن است القای اکسیداسیون اجزای ویروسی رایگان، که از نظر تئوری می تواند یک واکسن غیرفعال و ایمونوژن را نشان دهد، امکان پذیر باشد [15،51،50].

5. محلول نمکی اوزونیزه (SS03). این روش در اوایل دهه 1980 توسط وزارت بهداشت فدراسیون روسیه رسمیت یافت و به طور رسمی در بیمارستان های بهداشت عمومی، به طور خاص برای تخصص های ارتوپدی، پوست، زنان و زایمان و مامایی استفاده شد [16،52]. در سال 2004، در اوکراین نیز به طور رسمی به رسمیت شناخته شد. اثرات



مفید این درمان با تعداد زیادی از مقالات علمی و تجربه بالینی قوی پشتیبانی می شود. [53]. این روش شامل حباب زدن و اشباع کردن یک محلول فیزیولوژیکی (0.9%) با

مخلوط اوزون-اکسیژن در غلظت هایی است که بسته به وزن بیمار (محدوده 1-5 میکروگرم کیلوگرم وزن بدن) محاسبه می شود. مصرف آن حدود 20-30 دقیقه طول می کشد. برخلاف MAH، 03SS به عنوان درمان مکمل در بیماری های ویروسی مانند اپشتین بار، سیتومگالوویروس، ویروس پاپیلوم، HIV، هرپس زوستر، هرپس سیمپلکس و غیره استفاده می شود. از آنجایی که محلول نمکی یک منبسط کننده پلاسما است، SS03 نشان دهنده مقدار بیشتری از خون است. نسبت به MAH درمان می شود و بنابراین، از نظر تنوری، می توان تعداد جلسات را کاهش داد.

کورولف، بی.ا.، بویرینوف، جی.ا. و سوکولوف، V.V. [54،55] نشان داد که وقتی از SS03 در طی بای پس قلبی ریوی استفاده می شود، سلول های اندام های بیمار در مقایسه با سطوح پایه از گلوکز بیشتری استفاده می کنند. بنابراین نتیجه گیری می شود که اثرات درمانی محلول های فیزیولوژیکی اوزون دار، توسط مخلوط محلول 0.2/0.3، رادیکال های آزاد، پراکسید هیدروژن و ساختارهای آبی شش ضلعی تشکیل شده در حین حباب دار کردن محلول های آبی NaCl با مخلوطی از گاز 03/02 تعیین می شود.

### 3. اوزون تراپی به عنوان تعدیل کننده ردوکس

در طی استفاده سیستمیک 03/02 (عمدتاً MAH، 03SS، دم کردن واژینال و رکتوم)، بخشی از 03 توسط آنتی اکسیدان های محیط حذف می شود. واکنش بیشتر 03 با مولکول های زیستی، آلدهید (به عنوان مثال، 4-هیدروکسی نونال) (4-HNE-) و پراکسید (H2O2 و پراکسیدهای آلی) تولید می کند. این محصولات جانبی واکنش به عنوان پیام رسان های ثانویه عمل می کنند و پاسخ های هورمیک تطبیقی بیشتری را القا می کنند [56-58].

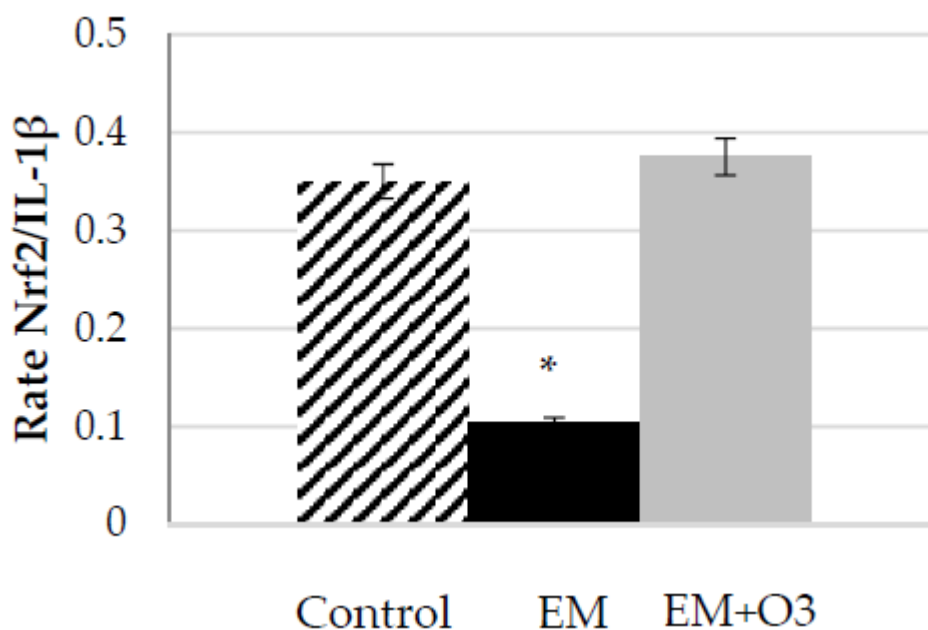
اوزون در دوز درمانی "فقط" به عنوان تعدیل کننده یا پیش دارو عمل می کند و با القای پیام رسان های ثانویه، پاسخ های تطبیقی بعدی را افزایش می دهد [21].

واسطه هایی مانند HNE-4 و H2O2 از جمله مرتبط ترین پیام رسان های ثانویه ای هستند که اثرات مفیدی را در طول کاربردهای پزشکی ایجاد می کنند، آنها یک محرک اکسیداتیو تدریجی را القا می کنند که سنتز آنتی اکسیدان های درون زا مانند SOD، CAT و GPx را ایجاد می کند [18،59]. این واقعیت نشان می دهد که 03/02 یک درمان ضد اکسیدانی متناقض است که یک پاسخ آنتی اکسیدانی درون زا را فرا می خواند. علاوه بر این، مقادیر کم H2O2 تشکیل شده در نتیجه f0302 نقش کلیدی در مکانیسم مولکولی دارند. H2O2 حیاتی و فعال کننده رایج مدولاسیون مسیرهای NF-KB و Nrf2 است [62-60]. علاوه بر این، HNE-4 همچنین سیگنال استرس اکسیداتیو گذرا را ارسال می کند و اثرات آن به غلظت و همچنین منشاء سلول/بافت بستگی دارد. این مسیر می تواند سنتز چندین ماده مانند:  $\gamma$ -گلوتامیل ترانسفراز،  $\gamma$ -گلوتامیل ترانس پپتیداز، HSP-70، HO-1 و آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند SOD، GPx، CAT و گلوکز-6-فسفات دهیدروژناز را فعال سازد [21]. علاوه بر این، این اثرات پرتوان HNE-4 را می توان با برهمکنش های وابسته به غلظت آن با شبکه های سیتوکین و سیستم های آنتی اکسیدانی پیچیده سلولی که ویژگی های سلولی و بافتی را نشان می دهد توضیح داد [59،63].

نتایج تجربی نشان داد که اوزون در دوزهای درمانی خارج از بدن یا *in vivo* می تواند Nrf2 [20،32] را فعال کند که شامل تعدیل (بازداری) غیرمستقیم مسیر NF-KB است. علاوه بر این، Nrf2 فعالیت NF-KB را با حذف ROS سرکوب می کند، که ممکن است موجب فعال سازی NF-KB از طریق القای پروتئین آنتی اکسیدانی مانند HO-1 و NQO1 شود. علاوه بر این، Nrf2 فعالیت NF-KB را از طریق برخی از فعل و انفعالات پروتئین-

پروتئین سرکوب می کند، و همچنین بیان ژن سیتوکین التهابی را از طریق اتصال مستقیم به پروموتور ژن آنها سرکوب می کند [64].

مسیر NF-KB آزادسازی سیتوکین های پیش التهابی مانند: TNF $\alpha$ ، IFN $\gamma$ ، IL6، 1Ll3، IL8، و همچنین ژن های پیش التهابی مانند سیکلواکسیژناز-2 (COX-2) و نیتریک اکسید سنتاز القایی (iNOS) را فعال می کند [65]. این مورد به خوبی شناخته شده است که تنظیم هر دو مسیر، NF-KB و Nrf2، شامل یک تداخل برای ایجاد یک پاسخ التهابی هماهنگ است [66،67]. تعدیل پاسخ التهابی توسط اوزون در یک کارآزمایی بالینی 1 بر روی بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (ME) که با دمش رکتوم به مدت 30 روز تحت درمان 03/02 قرار گرفتند، مشهود بود [19]. با گرفتن داده های اصلی این دنباله و محاسبه مجدد مقادیر بر حسب نسبت فسفوریلاسیون Nrf2 (به عنوان شرح فعال شدن مسیر Nrf2) و IL-1 $\beta$  (همانطور که در مسیر NF-KB مشخص شده است) این مدولاسیون آشکار شد (شکل 1). در بیماران مبتلا به ME بدون درمان، تعادل Nrf2/NF-KB به نفع فرآیند التهابی است و 03/02 تعادل آن مسیرها را بازیابی می کند.



شکل 1. Nrf2/IL-1 i3 را به عنوان نشانگرهای زیستی فعال شدن مسیر Nrf2/NF-KB تعادل بعد و قبل از درمان 03/02 در نظر بگیرید. گروه کنترل، داوطلبان سالم. EM، بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس عودکننده- فروکش کننده با دوره های بدون تشدید بیماری. EM+ 03، بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس پس از درمان f0302 با دمش رکتوم به مدت 30 روز (سه بار در هفته در طول یک ماه با دوز 20 میکروگرم در لیتر). داده‌ها از دلگادو و همکاران، 2017 [19] گرفته شد. مقادیر نشان دهنده میانگین  $\pm$  S.E.M. از سه آزمایش مستقل ( $p < 0.05$  \*).

تجزیه و تحلیل فردی متغیر مورد سنجش در این مطالعه نشان داد که مقادیر Nrf2 در بیماران تحت درمان با اوزون در مقایسه با گروه کنترل (به ترتیب 0/93 در مقابل 0/75) افزایش قابل توجهی ( $p < 0/05$ ) در مقادیر Nrf2 Nrf2 را نشان می‌دهد که مقادیر قابل توجهی از Nrf2 از سطح پایه در بیماران ME (0.56 واحد تراکم سنجی) را بازیابی می‌کند. افزایش Nrf2 مطابق با کاهش قابل توجه 61 درصد از سطح سیتوکین التهابی IL-1 f3 در بیماران تحت درمان با ME در مقایسه با سطوح پایه بود، حتی سطوح IL-1 f3 در ME، 94 درصد بیشتر از مقادیر باقی می‌ماند. در موضوعات عادی

عدم تعادل بین Nrf2/NF-KB در بیماری‌های دیگری مانند نوروپاتی دیابتی [68] پیشنهاد شده است که در آن اوزون بطور تجربی کارایی خود را در متعادل سازی این اختلال نشان داده است [62]. روندهای مشابهی در بیماری‌های ویروسی یافت شد، مسیرهای NF-KB می‌توانند از عفونت ویروس آنفولانزای A حمایت کنند و باعث افزایش ذات‌الریه شوند. از طریق فعال سازی سیگنال Nrf2، برخی از داروها به عنوان امودین می‌توانند میزان بقا را افزایش داده، بیماری‌های رییه، تیترو ویروسی ریوی و سایتوکاین‌های التهابی را کاهش دهند

و تغییرات هیستوپاتولوژیک ریه را بهبود بخشند [69]. علاوه بر این، نشان داده شده است که ویروس بیماری خونریزی دهنده خرگوش (که باعث هپاتیت برق آسای کشنده در خرگوش ها می شود) یک مکانیسم پاتولوژیک دارد که شامل سرکوب مسیر Nrf2 است [70].

#### 4. اوزون تراپی و محافظت سلولی

آنتی اکسیدان ها برای حفظ یکپارچگی سلولی و محافظت سلولی مهم هستند.

تعدیل در سطح Nrf2/NF-KB، 02/03 نه تنها سیستم آنتی اکسیدانی درون را افزایش می دهد، بلکه بیان سایتوکاین های پیش التهابی را تعدیل می سازد و روی محافظت سلولی تأثیر می گذارد. COVID-19 مجاری تنفسی فوقانی و تحتانی را آلوده می کند و باعث سندرم تنفسی خفیف تا بسیار حاد می گردد و در نتیجه موجب بروز بیش از حد سیتوکین های پیش التهابی از جمله اینترلوکین IL-1 f3 و IL-6 می شود. فعال سازی گیرنده های شبه تلفات توسط SARS Cov-2 RNA منجر به آزاد شدن pro-IL-1 f3 می شود که توسط کاسپاز-1 جدا می شود و به دنبال آن فعال سازی التهابی و تولید IL-1f3 بالغ فعال می شود که واسطه التهاب ریه، تب و فیبروز است [71].

با این حال، نشان داده شده است که سرکوب و نه کاهش خانواده IL-1 پیش التهابی و IL-6 در بسیاری از بیماری های التهابی، از جمله عفونت های ویروسی، موش های فاقد بیان سیگنال IL-1، افزایش تکثیر ویروسی، ویروس کرونا [72] اثر درمانی دارند. علاوه بر این، موش های دارای کمبود IL-6 آلوده به ویروس آنفولانزا، کشندگی بالاتر، کاهش وزن بدن و تجمع فیبروبلاست بالاتر و گردش ماتریکس خارج سلولی (ECM) کمتری در ریه ها نسبت به هم تایان نوع وحشی خود نشان دادند [73]. Inflammasome، یک مجموعه پروتئین سیتوزولی که واسطه پردازش و ترشح سیتوکین های پیش التهابی است، یکی از

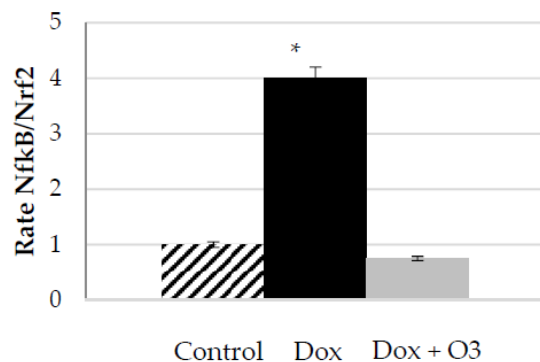
اولین پاسخ دهنده ها در طول عفونت ویروسی است. سیتوکین های ترشح شده به دنبال فعال شدن التهاب، سلول های سیستم ایمنی ذاتی و سازگار را تنظیم می کنند و پاسخ های ایمنی بعدی را هدایت می کنند. بنابراین، نه سرکوب کننده، بلکه تعدیل کننده سیتوکین ها ممکن است تأثیر مؤثری در سمیت سلولی حیاتی داشته باشد. داده های نماینده درباره کاهش تنظیم شده سیتوکین های IL-1 f3، IL-6، IL-8 و TNF-cx در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول 1. اثر (اوزون درمانی با روش سالیین DIV هاوارد رابینس به عنوان تعدیل کننده سیتوکین های پیش التهابی).

Type of Study	Model/Target Organ	Respond in Term of Cytokines	Main Result/Reference
In vivo (rats)	Sepsis/Spleen and liver	IL-1 $\beta$ ↓/TNF- $\alpha$ ↓	Increased survival rate in 33% [74].
In vivo (rats)	Chronic Radiculitis/Spinal	TNF- $\alpha$ ↓/IL-1 $\beta$ ↓/IL-6↓	Alleviated mechanical allodynia and attenuated radiculitis [75].
In vitro	Odontoblastic cell line, Sepsis induced by LPS	IL-6↓, TNF- $\alpha$ ↓	Inhibition of inflammatory response [76].
In vitro	Human skin fibroblast cells and human fetal cardiomyocytes, Damage induced by doxorubicin	IL-1 $\beta$ ↓, IL-8↓, IL-6↓, TNF- $\alpha$ ↓	Significantly decreased the cytotoxicity [44].
In vivo (rats)	Ischemia-reperfusion injury/lung	IL-1 $\beta$ ↓	Lung cytoprotection [77].

Legend: ↓, downregulation; LPS, lipopolysaccharides.

بیان پاسخ سیتوکین به سیگنال قبلی ارتباط نزدیکی با عملکرد عوامل هسته ای دارد. یک بررسی آزمایشگاهی، که در قلب و فیبروبلاست های پوست انجام شد، نقش اوزون القا شده توسط دوکسوروبیسین را در سطح Nrf2 و NF-KB تجزیه و تحلیل کرد [44]. نویسندگان نقش فردی دوزهای مختلف اوزون را در این مدل تجزیه و تحلیل کردند. تجزیه و تحلیل مجدد این داده ها، با محاسبه نرخ NF-KB/Nrf2، کاهش آشکار اثر اوزون اما نه سرکوب را نشان داد (شکل 2). همین روند در کشت فیبروبلاست های پوستی تحت درمان با دوکسوروبیسین و 03/02 نیز مشاهده شد.



شکل 2. نرخ مقادیر تغییر برابری NF-KB/Nrf2 به عنوان شاخص تعادل فعال شدن مسیر NF-KB/Nrf2 با و بدون درمان 03/02. کنترل، کشت کاردیومیوسیت. داکس، سلول ها به علاوه دوکسوروبیسین (100 نانومولار)؛ Dox + O3، سلول درمان شده با دوکسوروبیسین (100 نانومولار) و اوزون 40 میکروگرم بر میلی لیتر. داده ها از Simonetti و همکاران، 2019 [44] گرفته شد. مقادیر نشان دهنده میانگین  $\pm$  S.E.M. از سه آزمایش مستقل ( $p < 0.01$  \*) هستند.

تجزیه و تحلیل مقادیر فردی نشان داد که بازیابی تعادل NF-KB/Nrf2 اساساً با حفظ سطح Nrf2 در سلول های درمان شده با اوزون (به ترتیب در گروه کنترل 0.8 در مقابل 0.9 برابر شانس) در مقایسه با مقادیر کاهش یافته Nrf2 مشاهده شده در سلول های درمان شده با دوکسوروبیسین (0.5 برابر شانس، با توجه به کشت سلولی کنترل) حاصل شد. این حفظ سطح Nrf2 از افزایش 100 درصدی NF-KB که در طول درمان با دوکسوروبیسین رخ می دهد، جلوگیری می کند. آزمایش نشان داد که مداخله با اوزون، حقایق ضروری Nrf2 را برای جلوگیری و تنظیم NF-KB حفظ می کند.

پاسخ هورمیتیک، آماده سازی اکسیداتیو یا سازگاری با استرس اکسیداتیو مزمن، در طول OT، اکنون به صورت تجربی نشان داده شده است [78]. مفهوم دوز در OT بسیار قابل

توجه است، مسیر تجویز و پروتکل های بالینی نیز مهم هستند. در دوزهای بالاتر، اثر توصیف شده اوزون می تواند به شدت تغییر کند. دوزهای بالای اوزون باعث رونویسی ژن سیتوکین پیش التهابی، گیرنده آن و پروتئین های التهابی می شود. در همان زمان، آنها تنظیم منفی اینترفرون نوع 1 و پاسخ به مسیرهای عفونت های ویروسی را فراخوانی می کنند [79].

راه های تجویز سیستمیک توصیه شده عبارتند از: SS03، MAH و اکسیژن رسانی-اوزون زنی خارج بدنی خون (EBOO). پروتکل های بالینی باید با دوزها و روش های استاندارد تعریف شده در بیانیه مادرید OT [16] مطابقت داشته باشد. حداقل سه کارآزمایی بالینی با استفاده از اتوهمتراپی عمده در چین در حال انجام است و آزمایش های بالینی بیشتری برای تأیید اثربخشی OT به عنوان درمان مکمل در درمان بیماری های COVID-19 مورد نیاز می باشد. این یک درمان مکمل است زیرا در حالی که بیمار مبتلا با داروی آلوپاتیک درمان می شود، در عین حال بیمار درمان تکمیلی پیشنهادی را نیز دریافت می کند. لازم به ذکر است که حتی اگر اوزون هیچ تاثیری بر عفونت ویروسی نداشته باشد، تعدیل نشان داده شده استرس اکسیداتیو و سایتوکین های التهابی توسط (اوزون درمانی با روش سالین DIV هاوارد رابینس می تواند یک اثر بالینی مرتبط و مفید در پی داشته باشد. علاوه بر این، تأثیر کوچکی در نیازمندی های روزهای بستری، به ویژه در بخش های مراقبت های ویژه، می تواند منجر به سود بالایی در شرایط بحرانی کنونی شود که بسیاری از کشورها از آن رنج می برند.

## 5. نتیجه گیری ها

OT سیستمیک می تواند به طور بالقوه در SARS-CoV-2 مفید باشد. منطق و مکانیسم عمل قبلاً از نظر بالینی با سایر عفونت های ویروسی ثابت شده است و در مطالعات تحقیقاتی بسیار مؤثر است. مکانیسم های عمل درگیر عبارتند از مدولاسیون مسیر NF-KB/Nrf2 و



بیان IL-6/IL-1f3. مدولاسیون این مسیرها توسط OT در cytoprotection و انسداد تکثیر ویروس تأثیر دارد. آزمایشات بالینی آینده برای اثبات استفاده مکمل از OT در COVID-19 مورد نیاز است.