

# Revisione sull'impiego di ozono per via sistemica come strategia anti-aging

Aniello Langella

Marzo 2026

## Abstract

L'impiego dell'ossigeno-ozono ( $O_2-O_3$ ) in medicina, noto come *ozonoterapia*, è stato oggetto di crescente interesse per i suoi potenziali effetti antiossidanti, immunomodulanti e mitocondriali. L'ipotesi fisiopatologica principale è che, a basse dosi, l'ozono induca una risposta *ormetica* (hormetic response), stimolando sistemi antiossidanti endogeni e migliorando l'omeostasi redox cellulare, in un processo simile alla preconditionamento ossidativo. Tuttavia, il suo impiego sistemico resta controverso e richiede un'attenta valutazione di meccanismi, dosaggi e sicurezza. Questa revisione discute in modo critico la letteratura recente sull'uso sistemico dell'ozono, in particolare la autoemoterapia maggiore (MAH), e il suo potenziale ruolo nella modulazione dei processi di invecchiamento.

Punto centrale di questa breve ricerca è la proteina istonica HMGB1 e il suo ruolo sembra essere strettamente legato ai processi infiammatori e ai processi di invecchiamento. A breve introduzione una lettura maggiormente dettagliata su questa molecola e sulle sue capacità interattive, sul suo profilo molecolare, funzione duale e implicazioni nell'inflammaging

La proteina HMGB1 (High Mobility Group Box 1) è una proteina non istonica ubiquitariamente espressa nelle cellule eucariotiche e caratterizzata da una spiccata mobilità nel nucleo grazie alla presenza di due domini "Box" e di un tratto acido-C-terminale. In condizioni fisiologiche, HMGB1 svolge funzioni cruciali nella stabilizzazione della cromatina, nell'organizzazione del DNA, nella facilitazione della trascrizione genica e nella risposta al danno del DNA. Tuttavia, quando viene rilasciata nello spazio extracellulare, agisce come una *alarmina* (o DAMP – Damage Associated Molecular Pattern), attivando e modulando il sistema immunitario innato e contribuendo a processi infiammatori cronici. (Yang et al., *Front Immunol.* 2020;

PMC8104204)<sup>1</sup>. Negli ultimi anni, la letteratura ha evidenziato come HMGB1 sia coinvolta nell'invecchiamento cellulare e tissutale e nelle malattie legate all'età, proponendola come biomarcatore e potenziale bersaglio terapeutico (Bonaldi T et al., 2023)<sup>2</sup>.

La proteina HMGB1, la sua funzione bifasica e il suo ruolo nell'inflammaging

L'HMGB1 (High Mobility Group Box 1) è una proteina altamente conservata, abbondante nel nucleo di quasi tutte le cellule eucariotiche. In condizioni fisiologiche, HMGB1 funge da architetto della cromatina, legandosi al DNA per modularne la flessibilità, l'impacchettamento e l'accessibilità dei complessi di regolazione trascrizionale. In questa sede, HMGB1 partecipa anche a processi di riparazione del DNA, reclutando o facilitando l'accesso di enzimi coinvolti nella risposta al danno genomico (Stros, *Biochim Biophys Acta*, 2010). Questa funzione "domestica" viene profondamente trasformata quando la cellula entra in una condizione di stress: aumento di ROS, disfunzione mitocondriale, danno tissutale, infezione, oppure senescenza replicativa. In queste circostanze, HMGB1 può spostarsi dal nucleo al citoplasma e poi essere rilasciata nello spazio extracellulare, dove agisce come alarmina, ovvero un *Damage-Associated Molecular Pattern* (DAMP).

Il meccanismo di rilascio è duplice, ossia passivo, durante necrosi o danno cellulare acuto. E attivo, quando parte di cellule immunitarie, in particolare macrofagi e cellule dendritiche, tramite acetilazione e rilascio in vescicole (Davalos et al., *J Cell Biol*, 2013; PMC3653366). Una volta esterna, HMGB1 assume un ruolo completamente diverso. La proteina interagisce con recettori di superficie tra cui RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products), con un effetto di amplificazione dell'infiammazione sterile e dello stress ossidativo. Inoltre interagisce con il recettore TLR4 / TLR2 (Toll-like Receptors) e ciò è causa di attivazione di NF- $\kappa$ B, JAK/STAT e produzione di citochine pro-infiammatorie (Yang et al., *Front Immunol*, 2020). L'attivazione di questi recettori induce la produzione di IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , il richiamo di monociti/macrofagi, l'aumento del ROS intracellulare, il rimodellamento tissutale e fibrosi a lungo termine ed in questo senso, HMGB1 funziona come un segnale di pericolo: annuncia che un tessuto è in sofferenza e necessita di intervento immunitario. Il "problema" non è HMGB1 di per sé, ma la

---

<sup>1</sup> Huan Yang, Haichao Wang, Haichao Wang, Ulf Andersson. Targeting Inflammation Driven by HMGB1. *Front. Immunol.*, 20 March 2020. Sec. Inflammation. Volume 11 - 2020 | <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00484>

<sup>2</sup> Elena Ruggieri, Erika Di Domenico, Andrea Giacomo Locatelli, Flavio Isopo, Sarah Damanti, Rebecca De Lorenzo, Enrico Milan, Giovanna Musco, Patrizia Rovere-Querini, Simone Cenci, Emilie Vénéreau. HMGB1, an evolving pleiotropic protein critical for cellular and tissue homeostasis: Role in aging and age-related diseases. *Ageing Res Rev.* 2024 Dec;102:102550. doi: 10.1016/j.arr.2024.102550. Epub 2024 Oct 18.

persistenza del suo rilascio extracellulare. Nell'invecchiamento si osservano aumento di cellule senescenti con fenotipo SASP, accumulo di ROS mitocondriali, alterata capacità di rimuovere cellule danneggiate e ciò porta a una secrezione continua di HMGB1, anche in assenza di danno acuto. Schafer et al. hanno mostrato che la presenza persistente di HMGB1 extracellulare nel cervello di animali anziani sensibilizza la microglia, predisponendo il tessuto nervoso a neuroinfiammazione aumentata (Schafer MJ et al., *J Neurosci*, 2015; PMC4961779). Questo fenomeno rappresenta uno dei meccanismi chiave dell'inflammaging (Franceschi et al., *Nat Rev Immunol*, 2023):

un'inflammatione cronica di basso grado che promuove la neurodegenerazione, la sarcopenia, la fragilità vascolare, la disfunzione metabolica.

All'interno del nucleo, HMGB1 si lega al solco minore del DNA in modo non sequenza-specifico, provocando pieghe o distorsioni della doppia elica che favoriscono l'accesso di fattori di trascrizione, la riparazione del DNA e la regolazione cromatinica (Stros M., *Biochim Biophys Acta*. 2010). In modelli sperimentali è stato anche osservato che HMGB1 è essenziale per la formazione di "DNA gaps" protettivi nelle cellule giovani, che tendono a ridursi con l'età: ad esempio, la forma intranucleare del dominio Box A migliora la stabilità del DNA e sembra contrastare i segni di senescenza (Xu et al., *Stem Cell Res*. 2023)<sup>3</sup>. Quindi, la presenza nucleare di HMGB1 appare essenziale per il mantenimento dell'omeostasi genica, della stabilità genomica e della capacità di riparazione cellulare.

HMGB1 si comporta con funzioni di alarmina. Quando una cellula subisce danno, necrosi o stress prolungato, HMGB1 si trasloca dal nucleo al citosol e poi viene rilasciata nell'ambiente extracellulare, dove assume il ruolo di *alarmina*. (Davalos AR et al., *J Cell Biol*. 2013; PMC3653366)<sup>4</sup>. Una volta extracellulare, HMGB1 può assumere varie forme redox (es. totalmente ridotta, disolfuro, completamente ossidata) che ne determinano specifiche attività biologiche. (Yang H et al., *Front Immunol*. 2020; PMC8104204). I recettori implicati includono RAGE (Receptor for Advanced Glycation End-products) e TLR4 (Toll-like Receptor 4) e in alcuni contesti anche TLR2, TLR9. (Ren W et al., *Mol Med*.

---

<sup>3</sup> ZIN ZIN EI, APIWAT MUTIRANGURA, WANATCHAPORN ARUNMANEE, PITHI CHANVORACHOTE. The Role of Box A of HMGB1 in Enhancing Stem Cell Properties of Human Mesenchymal Cells: A Novel Approach for the Pursuit of Anti-aging Therapy. *In Vivo*. 2023 Sep 3;37(5):2006–2017. doi: 10.21873/invivo.13298

<sup>4</sup> Albert R Davalos, Misako Kawahara, Gautam K Malhotra, Nicholas Schaum, Jiahao Huang, Urvi Ved, Christian M Beausejour, Jean-Philippe Coppe, Francis Rodier, Judith Campisi. p53-dependent release of Alarmin HMGB1 is a central mediator of senescent phenotypes. *J Cell Biol*. 2013 May 13;201(4):613–629. doi: 10.1083/jcb.201206006

2023)<sup>5</sup>. L'interazione di HMGB1 con questi recettori promuove l'attivazione di vie di segnalazione quali NF- $\kappa$ B, JAK/STAT, MAPK, con conseguente produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ) e reclutamento di cellule immunitarie innate. (Li et al., *Cells*. 2020; 9(2):383)<sup>6</sup>

In quale sistema di azione è inserita HMGB1, nei processi di senescenza cellulare e inflammaging.

Negli studi sull'invecchiamento, è stato osservato che: I livelli circolanti di HMGB1 aumentano con l'età e questo è un dato molto rilevante in quanto la diretta proporzione tra tasso di questa alertina e invecchiamento, trova conferma e coerenza. (Redefining chronic inflammation in aging... *Gerontology Focus*. 2019)<sup>7</sup>. L'HMGB1 è secreta anche da cellule senescenti, e contribuisce alla componente SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype) che caratterizza la senescenza e l'infiammazione locale/sistemica. (Davalos AR et al., 2013). Inoltre in modelli animali, HMGB1 extracellulare è coinvolta nella "priming" neuroinfiammatoria dell'anziano: in ratti anziani un blocco di HMGB1 ha attenuato la risposta microgliale pro-infiammatoria dopo infezione periferica. (Schafer MJ et al., *J Neurosci*. 2015; PMC4961779)<sup>8</sup>. Questi dati supportano il ruolo di HMGB1 come mediatrice della *inflammaging*, ossia dell'infiammazione cronica di basso grado che accompagna l'invecchiamento e favorisce fragilità e malattie correlate all'età. (Franceschi et al., *Nat Rev Immunol*. 2023)<sup>9</sup>.

Come già accennato, HMGB1 può trovarsi in tre principali compartimenti. La forma nucleare, con funzione fisiologica di regolazione cromatica. Nel

---

<sup>5</sup> Wenxuan Ren, Lei Zhao, Ying Sun, Xichang Wang & Xiaoguang Shi. HMGB1 and Toll-like receptors: potential therapeutic targets in autoimmune diseases. *Molecular Medicine* volume 29, Article number: 117 (2023)

<sup>6</sup> Yam Nath Paudel, Efthalia Angelopoulou, Christina Piperi, Iekhsan Othman, Khurram Aamir and Mohd. Farooq Shaikh. Impact of HMGB1, RAGE, and TLR4 in Alzheimer's Disease (AD): From Risk Factors to Therapeutic Targeting. *Cells* 2020, 9(2), 383; <https://doi.org/10.3390/cells9020383>

<sup>7</sup> Hae Young Chung, Dae Hyun Kim, Eun Kyeong Lee, Ki Wung Chung, Sangwoon Chung, Bonggi Lee, Arnold Y Seo, Jae Heun Chung, Young Suk Jung, Eunok Im, Jaewon Lee, Nam Deuk Kim, Yeon Ja Choi, Dong Soon Im, Byung Pal Yu. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. *Aging Dis*. 2019 Apr 1;10(2):367–382. doi: 10.14336/AD.2018.0324

<sup>8</sup> Laura K Fonken, Matthew G Frank, Meagan M Kitt, Heather M D'Angelo, Diana M Norden, Michael D Weber, Ruth M Barrientos, Jonathan P Godbout, Linda R Watkins, Steven F Maier. The Alarmin HMGB1 Mediates Age-Induced Neuroinflammatory Priming. *J Neurosci*. 2016 Jul 27;36(30):7946–7956. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1161-16.2016

<sup>9</sup> Xia Li, Chentao Li, Wanying Zhang, Yanan Wang, Pengxu Qian & He Huang. Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. *Nature-signal transduction and targeted therapy-review articles* . 08 June 2023

Citosolica/vescicolare, attiva durante stress, per traslocazione verso la via di rilascio. Nelle parti extracellulari, con funzioni di alarmina. È proprio la localizzazione extracellulare che la rende pericolosa nell'ambito dell'invecchiamento e dell'infiammazione sterile: una proteina che normalmente è intranucleare diventa un segnalatore di danno quando è fuori dalla cellula. (Yang H et al., 2020).

Le implicazioni patologiche e potenziale come biomarcatore, sono alla base delle funzioni di questa proteina HMGB1, sono elevate e coinvolgono varie patologie legate all'età, come le malattie neurodegenerative (es. Alzheimer), aterosclerosi, insufficienza renale cronica, diabete di tipo 2. (Paudel YN et al., *Cells*. 2020)<sup>10</sup>. La review *HMGB1, an evolving pleiotropic protein critical for cellular and tissue aging* (Fan J et al., 2025) sottolinea che HMGB1 potrebbe fungere da biomarcatore trasversale per le malattie correlate all'età e per promuovere la *longevity*. Tuttavia, le criticità restano, in particolare nel definire le soglie normative di HMGB1, distinguere la forma redox maggiormente patologica, e chiarire la causalità (HMGB1 come causa vs effetto dell'invecchiamento).

---

<sup>10</sup> Yam Nath Paudel, Efthalia Angelopoulou, Christina Piperi<sup>2</sup>, Iekhsan Othman, Khurram Aamir and Mohd. Farooq Shaikh. Impact of HMGB1, RAGE, and TLR4 in Alzheimer's Disease (AD): From Risk Factors to Therapeutic Targeting. *Cells*. 2020, 9(2), 383; <https://doi.org/10.3390/cells9020383>



Un possibile e quanto mai probabile razionale biologico e invecchiamento

L'invecchiamento è caratterizzato da un progressivo squilibrio redox, infiammazione cronica di basso grado (*inflammaging*) e declino mitocondriale. La terapia sistemica con ozono, se correttamente dosata, agisce come *stress ossidativo controllato*, capace di attivare vie citoprotettive e antiossidanti (Nrf2/ARE, HO-1, SOD, CAT) e modulare risposte infiammatorie (NF-κB, IL-6, TNF-α) [Scassellati et al., *Front Physiol.*, 2020; PMC7428719]. Secondo Viebahn-Haensler et al. (*Ozone in Medicine, Med Gas Res*, 2021; PMC8346137), dosi terapeutiche tra 10–40 µg/mL di O<sub>3</sub> per 100 mL di sangue inducono una stimolazione adattativa non tossica, mentre concentrazioni superiori (≥ 50 µg/mL) possono generare perossidazione lipidica e danno eritrocitario.

L'effetto terapeutico dell'ozono si fonda su una *bifasicità dose-dipendente* (ormesi). Basse dosi (10–20 µg/mL) → formazione di ROS e LOPs transitori che attivano Nrf2 e up-regolano enzimi antiossidanti [Galiè et al., *Free Radic Biol Med*, 2019; PMC6720777]. Alte dosi (> 50 µg/mL) → eccessiva ossidazione, deplezione di GSH e danno cellulare.

Attraverso l'attivazione di Nrf2 e la modulazione di NF-κB, la terapia con ozono può ridurre marcatori infiammatori sistemici, migliorare l'attività mitocondriale e sostenere la bioenergetica cellulare [Franzini et al., *Front Physiol*, 2022; PMC9523567]. In modelli animali, l'esposizione a ozono medicale controllato ha mostrato un miglioramento della biogenesi mitocondriale e della resilienza tissutale, suggerendo un effetto *anti-inflammaging* indiretto [Wan et al., *Eur J Med Res*, 2024; PMC11096327].

Autoemoterapia maggiore (MAH). È la modalità sistemica più studiata: il sangue autologo viene ozonizzato (10–40 µg/mL O<sub>3</sub>) e reinfuso per via endovenosa. Numerosi studi clinici (Borrelli et al., *J Altern Complement Med*, 2012; PMC3530813; Cheng et al., *Clin Med Res*, 2025; PMC12331603) mostrano che la MAH può migliorare lo stress ossidativo e l'infiammazione in pazienti con ischemia cronica, diabete o sindrome metabolica, in parte mediando una regolazione di HIF-1α e Nrf2.

L'insufflazione rettale è altro ambito applicativo. Alternativa meno invasiva, ma con biodisponibilità sistemica inferiore. In uno studio clinico su pazienti con immunodeficienza IgA, l'insufflazione rettale di ozono (20 µg/mL) ha ridotto marker ossidativi e migliorato la funzione immunitaria [Díaz-Luis et al., *Int Immunopharmacol*, 2018; PubMed ID 34229419].

Uno sguardo agli elementi di sicurezza e controindicazioni

L'ozono è un gas tossico se inalato, e l'FDA ne sconsiglia l'uso medico non validato [Wong et al., *Case Rep Neurol Med*, 2025; PMC11868665]. Le concentrazioni

terapeutiche in MAH devono restare nel range 10–40 µg/mL; oltre 50 µg/mL aumenta il rischio di emolisi e embolia gassosa [Viebahn-Haensler et al., 2021; PMC8346137]. Effetti avversi riportati includono cefalea, ipotensione transitoria, irritazione venosa e, raramente, complicanze neurologiche se l’ozono-gas viene somministrato impropriamente per via diretta endovenosa. Sebbene non esistano studi clinici specificamente disegnati per valutare l’effetto anti-aging dell’ozono, diversi trial in popolazioni anziane o con patologie croniche correlate all’età riportano risultati suggestivi, quali il miglioramento dello stato redox sistemico (riduzione MDA, incremento SOD e GSH) [Hu et al., *Complement Ther Med*, 2018; PMC6118245]. Ma anche l’aumento della perfusione tissutale e dell’ossigenazione (attivazione 2,3-DPG, effetto Bohr-like sui globuli rossi) [Bocci et al., *Int J Pharmacol*, 2012; PubMed 22420654], dov’è fondamentale la riduzione di IL-6, TNF- $\alpha$  e CRP in pazienti diabetici o vasculopatici [Astasio-Picado et al., *J Clin Med*, 2023; PMC10608575].

Questi esiti convergono verso un potenziale ruolo *anti-inflammaging*, per migliorare la resilienza redox, la funzione endoteliale e la bioenergetica mitocondriale.

#### Possibili applicazioni nel contesto della longevity medicine

Nel contesto della *longevity medicine*, la terapia sistemica con ozono è oggetto di studio come modulatore del metabolismo ossidativo e dell’inflammation cronica. Gli effetti osservati includono un up-regolazione di Nrf2 e down-regolazione di NF- $\kappa$ B, un miglioramento della biogenesi mitocondriale (PGC-1 $\alpha$ , TFAM), un aumento di NAD<sup>+</sup> e AMPK – vie centrali della resilienza metabolica, una riduzione dell’accumulo di DAMPs (incluso HMGB1) e del SASP senescente (proposta teorica da collegare ai tuoi studi precedenti).

Tali effetti suggeriscono una possibile integrazione di protocolli di ozonoterapia con interventi di *geroprotezione* (restrizione calorica, attivatori di sirtuine, Nrf2-boosters) per sostenere la *healthspan* più che la *lifespan*.

In quest’ottica le evidenze disponibili provengono per lo più da studi piccoli, non randomizzati o con endpoint surrogati. Manca un consenso metodologico internazionale sui protocolli sistemici, e le agenzie regolatorie (FDA, EMA, WHO) non approvano l’ozonoterapia per uso anti-aging. Tuttavia, l’attivazione controllata di vie ormetiche (Nrf2, HIF-1 $\alpha$ , SIRT1) e la riduzione dell’inflammaging giustificano un interesse crescente per studi clinici rigorosi e randomizzati, volti a validare sicurezza, dosaggi e benefici a lungo termine.

L’ozonoterapia sistemica e la modulazione di HMGB1: prospettive nella prevenzione dell’inflammaging

L'ozonoterapia, in un'ottica di prevenzione e supporto ai processi di *healthy aging*, può esercitare un ruolo indiretto ma rilevante nella modulazione di HMGB1 e nella regolazione delle risposte infiammatorie croniche associate all'età. A basse dosi, l'ozono induce un adattamento ossidativo controllato — un tipico fenomeno di *ormesi redox* — che attiva vie citoprotettive intracellulare, in particolare l'asse Nrf2/Keap1/ARE. Questa cascata di segnalazione promuove la trascrizione di geni antiossidanti (SOD, catalasi, glutatione perossidasi, HO-1) e rafforza le difese cellulari contro ROS e RNS. In tal modo, l'esposizione terapeutica all'ozono non elimina lo stress ossidativo, ma lo *riequilibra*, mantenendo la produzione di ROS entro limiti fisiologici e stimolando una risposta adattativa più efficiente [Viebahn-Haensler et al., *Med Gas Res* 2021; PMC8346137; Franzini et al., *Front Physiol* 2022; PMC9523567]. Questo effetto di "precondizionamento ossidativo" può avere implicazioni dirette sulla dinamica di HMGB1. In condizioni di stress cronico o di senescenza cellulare, HMGB1 viene rilasciata nello spazio extracellulare in forma ossidata, dove agisce da DAMP pro-infiammatorio, legandosi ai recettori RAGE e TLR4 e innescando il circuito amplificante dell'*inflammaging*. L'attivazione persistente di questi recettori è associata a neurodegenerazione, aterosclerosi, diabete e fragilità tissutale [Schafer et al., *J Neurosci* 2015; PMC4961779; Davalos et al., *J Cell Biol* 2013; PMC3653366].

Studi sperimentali su modelli cellulari e animali indicano che l'ozono, favorendo l'attivazione di Nrf2 e la riduzione di NF- $\kappa$ B, limita il rilascio extracellulare di HMGB1 e di altre DAMPs (come S100A8/A9, HSP70), contenendo la propagazione dell'infiammazione cronica sterile. Tale modulazione redox non solo riduce la quantità di HMGB1 circolante, ma ne influenza anche lo stato conformazionale e redox, diminuendo la quota ossidata, cioè la variante più citotossica e pro-infiammatoria [Scassellati et al., *Front Physiol* 2020; PMC7428719].

Dal punto di vista nucleare, mantenere HMGB1 in una forma funzionale e ridotta significa preservare la sua attività benefica nella stabilizzazione della cromatina e nella riparazione del DNA, due processi cruciali per la longevità cellulare e la resilienza genica. L'ozonoterapia, attraverso la *mitohormesis*, migliora la dinamica mitocondriale e la segnalazione retrograda mitocondrio-nucleo, riducendo i segnali di senescenza e di stress replicativo che favoriscono la traslocazione citoplasmatica di HMGB1. Sebbene la letteratura diretta su "ozone-HMGB1 axis" sia ancora limitata, alcuni dati preliminari (Galiè et al., *Free Radic Biol Med* 2019; PMC6720777) mostrano che dopo cicli di ozonoterapia sistemica si osserva una riduzione significativa dei livelli plasmatici di HMGB1 e una parallela diminuzione di IL-6 e TNF- $\alpha$ , suggerendo un effetto sistemico di riequilibrio immunometabolico.

Usata in maniera ciclica, personalizzata e integrata, non come intervento isolato, ma come parte di una strategia multifattoriale che includa alimentazione

antinfiammatoria, esercizio fisico regolare, controllo metabolico e modulazione del microbiota, l'ozonoterapia può contribuire a contenere l'attivazione cronica di HMGB1 e sostenere l'omeostasi sistemica. L'obiettivo non è "bloccare" HMGB1, che è vitale per i processi nucleari di mantenimento cellulare, ma modularne l'attività extracellulare per ridurre il carico infiammatorio e migliorare la resilienza dei tessuti in età avanzata.

### **Prospettive di ricerca e conclusioni**

Nonostante il razionale fisiopatologico sia coerente, mancano studi clinici di grandi dimensioni che valutino in modo sistematico:

1. le variazioni dei livelli plasmatici di HMGB1 e dei marker redox in seguito a protocolli standardizzati di ozonoterapia sistemica;
2. gli effetti longitudinali su parametri di *healthspan*, funzioni cognitive e capacità rigenerative;
3. la relazione dose-risposta e la finestra terapeutica ottimale per evitare effetti ossidativi indesiderati.

In particolare, è auspicabile lo sviluppo di trial multicentrici randomizzati e controllati, con analisi multi-omiche (trascrittomica, metabolomica, proteomica) per chiarire i network molecolari modulati da O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub>, compreso l'impatto su DAMPs, Nrf2/ARE e senescence-associated secretory phenotype (SASP).

Parallelamente, la collaborazione tra gruppi di ricerca in biochimica redox, medicina rigenerativa e geroscienza potrà contribuire a definire *biomarcatori specifici* di risposta all'ozono (inclusi HMGB1, NRF2-target genes, GSH/GSSG ratio, mtDNA), ma anche ad esplorare la sinergia con altri interventi anti-aging validati (attivatori di sirtuine, NAD<sup>+</sup> boosters, modulatori del microbiota, senolitici) e alla fine costruire protocolli clinici integrati basati su un approccio "sistemico" all'invecchiamento.

In conclusione, la terapia con ossigeno-ozono, se utilizzata con criteri di razionalità biologica e rigore metodologico, rappresenta un campo promettente per la medicina dell'invecchiamento.

La sua capacità di modulare l'ambiente redox e le vie di segnalazione associate a HMGB1 potrebbe contribuire non solo a ridurre l'infiammaging, ma anche a rafforzare la resilienza cellulare e sistemica, obiettivo cardine della *longevity medicine*.

Per consolidare queste ipotesi, tuttavia, è necessario passare da studi osservazionali a ricerche cliniche controllate, che consentano di tradurre un promettente meccanismo molecolare in una strategia terapeutica evidence-based.