



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DEL EFECTO TERAPÉUTICO DE ACEITE
OZONIZADO POR VÍA ORAL SOBRE LA MUCOSA GÁSTRICA EN
CONEJOS

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

FERNANDA RAMÍREZ RODRÍGUEZ

Asesores:

MVZ Itzcoatl Felipe Aquino Díaz

MVZ Claudia Ledesma Carrasco

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A todas las mujeres de las cuales he aprendido algo que me ha formado como la persona que soy hoy.

A la mujer más importante de mi vida, mi madre Laura. Gracias a ella nace mi interés por la ciencia.

A mi padre Aureo. Por enseñarme a ser una persona amorosa pero a la vez fuerte.

A mi hermano Daniel, por ser mi cómplice y por impulsarme a perseguir mis sueños a pesar de las adversidades.

A Mónica, Renata y Liliana por ser mi contención, mi lugar seguro, y por seguir a mi lado a lo largo de los años.

A Brenda por cultivar conmigo una amistad llena de amor. Estoy infinitamente agradecida por ella.

A Diana y a Sebastian, por caminar a mi lado durante este largo proceso para convertirnos en médicos.

Y finalmente, a mis cuatro guías: Sid, Lilu, Nina y Kai, que son mi motivación para crecer como médica día con día.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores de tesis, el Dr Itzcoatl y la Dra Claudia por darle sentido a mis palabras y por guiarme durante todo este proceso.

A Omanu Labs por todo el apoyo brindado para poder realizar este trabajo y al personal del laboratorio por cuidar de las conejas.

Al Departamento de Fisiología y Farmacología de la FMVZ-UNAM por acogerme y apoyarme durante la realización de este trabajo.

Y a la Dra Sandra Ríos y al Dr Adrián Sánchez por toda su ayuda durante las endoscopías y administración de tratamientos.

ÍNDICE

<i>RESUMEN</i>	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Generalidades.....	3
1.2. Aplicaciones terapéuticas.....	4
1.2.1. Antioxidante	4
1.2.2. Antimicrobiano	7
1.2.3. Antiinflamatorio y analgésico.....	7
1.2.4. Inmunomodulador.....	7
1.2.5. Cicatrizante.....	8
1.2.6. Oxigenación y perfusión a tejidos.....	8
1.3. Efectos adversos.....	9
1.4. Aplicaciones clínicas en Medicina Veterinaria.....	10
1.4.1. Bovinos.....	10
1.4.2. Pequeños rumiantes	10
1.4.3. Equinos.....	11
1.4.4. Pequeñas especies	11
1.5. Vías de administración.....	11
1.6. Ozonoterapia en gas.....	13
1.7. Aceite ozonizado	14
1.8. Gastritis en perros y gatos	16
1.9. Antiinflamatorios no esteroideos (AINE's)	17
1.9.1. Tratamientos.....	19
1.9.2. Inhibidores de la bomba de protones (IBP's)	19
1.9.3. Antagonistas H ₂	20
1.9.4. Protectores de la mucosa gástrica	20
1.9.5. Reguladores de pH.....	21
2. OBJETIVO	22
3. HIPÓTESIS	22
4. MATERIAL Y MÉTODOS	22
4.1. Animales.....	22
4.2. Tratamientos	23
4.3. Evaluación de eficacia.....	24
4.3.1. Endoscopia.....	25
4.3.2. Diagnóstico de gastritis.....	26
4.3.3. Análisis estadístico	27
4.4. Evaluación de seguridad.....	27
5. RESULTADOS	28
6. DISCUSIÓN	32
7. CONCLUSIONES	37
8. REFERENCIAS	38

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Fórmula estructural del ozono, MarvinSketch®</i>	3
Figura 2. <i>Mecanismo de acción antioxidante del ozono, adaptado de Sciorsci, 2020</i>	6
Figura 3. <i>Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroidales y AINE's, adaptado de Sumano, 2006</i>	18
Figura 4. <i>Procedimiento de aplicación de tratamientos y endoscopias.</i>	27

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 1. Ejemplo de vías de administración de ozono en gas y mediante aceites o agua ozonizados.	12
Cuadro 2. Ejemplos de dosis y vías de administración de ozonoterapia en perros.	13
Cuadro 3. Escala de evaluación para diagnóstico de gastritis.....	26
Cuadro 4. Mediana (Mdna) de las calificaciones de lesión gástrica asignadas en cada grupo tratado.....	30
Cuadro 5. Imágenes representativas de los resultados obtenidos mediante la observación de la mucosa gástrica por gastroscopía por día y por tratamiento.	30
Cuadro 6. Valor promedio de los resultados obtenidos en el hemograma en los grupos tratados con aceite ozonizado en comprimidos vía oral al inicio (día 1) y al final del tratamiento (día 7) comparados con los valores de referencia.....	31
Cuadro 7. Valor promedio de los resultados obtenidos en la bioquímica sanguínea en los grupos tratados con aceite ozonizado en comprimidos vía oral al inicio (día 1) y al final del tratamiento (día 7) comparados con los valores de referencia.....	32

RESUMEN

RAMÍREZ RODRÍGUEZ FERNANDA. Evaluación del efecto terapéutico de aceite ozonizado por vía oral sobre la mucosa gástrica en conejos (bajo la dirección de: MVZ Itzcoatl Felipe Aquino Díaz y MVZ Claudia Ledesma Carrasco).

La gastritis representa un problema multifactorial que puede presentarse en cualquier individuo. Actualmente, los tratamientos están dirigidos a inhibir la secreción gástrica o disminuir el contacto del ácido clorhídrico con la mucosa gástrica. El ozono se ha combinado con aceites vegetales y han demostrado tener un efecto terapéutico como cicatrizante, antimicrobiano y antiinflamatorio, convirtiéndose en una alternativa para el tratamiento de la gastritis. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto terapéutico del aceite de girasol ozonizado en comprimidos sobre la mucosa gástrica en conejos con gastritis inducida con indometacina, y evaluada por medio de la observación macroscópica de la mucosa gástrica a través de endoscopia, además de evaluar la seguridad de su administración mediante hemograma y química sanguínea al día 7 postratamiento. Para la evaluación de la eficacia, las conejas se dividieron de forma aleatoria en 4 grupos: grupo control (GC), grupo dosis 9.4 mg/kg PO BID (GO9.4), grupo dosis 18.8 mg/kg PO BID (GO18.8) y grupo dosis 37.5 mg/kg de PO BID (GO37.5). A todas las conejas se les administró una dosis inicial de 20 mg/kg PO de indometacina para inducir gastritis. Se asignó una puntuación basada en una escala cualitativa para el diagnóstico de gastritis los días 1, 3, 5 y 7 del estudio. Se observó que al día 7 de tratamiento la Mdn en el grupo GO18.8 era de 2 y en el grupo GO37.5 era de 1, obteniendo los mejores resultados. El aceite ozonizado de girasol en comprimidos presentó un efecto

importante en la reducción del daño a la mucosa gástrica inducido por indometacina a dosis de 18.8 mg/kg PO BID por 7 días y a dosis de 37.5 mg/kg PO BID por 7 días, además de presentar seguridad con ambas dosis.

Palabras clave: gastritis, indometacina, aceite ozonizado, conejos, endoscopía.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

El ozono (O_3) es un gas conformado por 3 átomos de oxígeno con una estructura inestable debido a la presencia de estados mesoméricos. (**Figura 1**) (1,2)

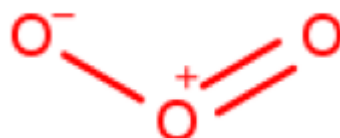


Figura 1. Fórmula estructural del ozono, MarvinSketch® (3)

Es color azul cielo y de olor ligeramente ácido. Tiene propiedades explosivas en su estado líquido y sólido. (1) Tiene una vida media de 40 minutos a temperatura de 20° C y cerca de 140 minutos a temperatura de 0° C. (4)

Aunque el ozono no es una molécula radical, es el tercer oxidante más potente después del flúor y el persulfato. (5)

El ozono es un componente natural de la atmósfera, cuya distribución varía según la capa atmosférica. En la estratósfera, la capa atmosférica externa, filtra la radiación ultravioleta. En la tropósfera, la capa atmosférica interna, el ozono es considerado un contaminante producido por la reacción entre óxidos de nitrógeno y la luz solar. (1)

Se genera por la activación de la molécula de oxígeno diatómico (O_2), dicha activación puede ser provocada por la energía de los rayos UV en longitud de onda inferior a 220 nm, como sucede en la estratósfera, o bien, por la acción de una descarga eléctrica a través de una masa de gas que contenga oxígeno, como en una tormenta eléctrica, cuando esto ocurre, el O_2 se descompone en

dos átomos independientes de oxígeno ($O^{\cdot-}$) que reaccionan rápidamente con moléculas de O_2 para formar el ozono. (6,7)

El ozono para uso terapéutico debe ser producido en un generador atóxico, en el cual todos los materiales en contacto con él permitan mediciones precisas y reproducibles en las concentraciones de O_3 (1 - 80 $\mu\text{g/ml}$) a través de un dispositivo adecuado. (8)

El ozono para uso terapéutico es una mezcla de ozono en oxígeno, en el rango de concentraciones de 0.5 a 5 % de O_3 aproximadamente. La dosis total de ozono es equivalente al volumen del gas (ml) multiplicado por la concentración de ozono ($\mu\text{g/ml}$). (8) Comúnmente es administrado como gas pero también existen otras alternativas de aplicación mediante aceites vegetales que le confieren ventajas de estabilidad. (9)

1.2. Aplicaciones terapéuticas

Más allá de sus efectos tóxicos cuando se encuentra en altas concentraciones, el ozono, en dosis controladas, tiene efectos terapéuticos gracias a su capacidad de reaccionar con muchas de las moléculas presentes en los líquidos corporales, y de esta manera enviar una señal de estrés oxidativo que desencadena una serie de efectos benéficos en el cuerpo. (5)

1.2.1. Antioxidante

El O_3 reacciona con las macromoléculas de las membranas celulares, incluyendo lípidos, proteínas y carbohidratos. Su mecanismo de acción está estrechamente ligado a la producción de tres compuestos fundamentales al reaccionar con los fosfolípidos de la membrana celular: ozónidos, aldehídos, peróxidos. (5,10)

A su vez, el H₂O₂ promueve la vía del factor nuclear eritroide similar al factor 2 (Nrf2) y la síntesis de proteínas para favorecer la supervivencia celular. (1)

El 4-Hidroxinonal (4-HNE) es un hidroxialquenal que se produce por la peroxidación de lípidos de las membranas celulares y puede ser considerado como un biomarcador de estrés oxidativo. (11)

La degradación del 4-HNE envía la señal de estrés oxidativo y activa la síntesis de múltiples sustancias, entre ellas:

- γ -glutamil transpeptidasa (GGT):

Enzima glucosilada localizada en múltiples tejidos que cataliza la transferencia del grupo γ -glutamil de donadores de péptidos a diferentes receptores, incluyendo aminoácidos, dipéptidos y agua. Uno de los múltiples productos de dichas reacciones es la combinación de residuos de cisteína con glutatión, cuyos metabolitos juegan un papel importante en la homeostasis intracelular del estrés oxidativo. (1,12)

- Proteína de shock térmico 70 (HSP-70):

Proteína inducida por la respuesta fisiológica de las células al estrés. En este caso, al estrés oxidativo. Su mecanismo de acción es a través de su habilidad para mejorar la supervivencia celular gracias a la catalización del reensamblaje de ribonucleoproteínas dañadas. (13)

- Hemo oxigenasa-1:

La hemo oxigenasa-1 (HO-1) es una enzima responsiva al estrés celular involucrada en el catabolismo del grupo hemo a biliverdina. La expresión de HO-1 promueve la transcripción de elementos reguladores que responden a factores sensibles a reacciones de oxidación, incluyendo la vía Nrf2. (14)

- Enzimas con acción antioxidante:

Las principales enzimas sintetizadas son: superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px), catalasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH). Estas enzimas constituyen secuestrantes endógenos de especies reactivas de oxígeno (ROS). (1,10)

Estos procesos representan las bases de un fenómeno paradójico donde el O₃, una molécula oxidante, detona una reacción antioxidante terapéutica. (Figura 2)

(1)

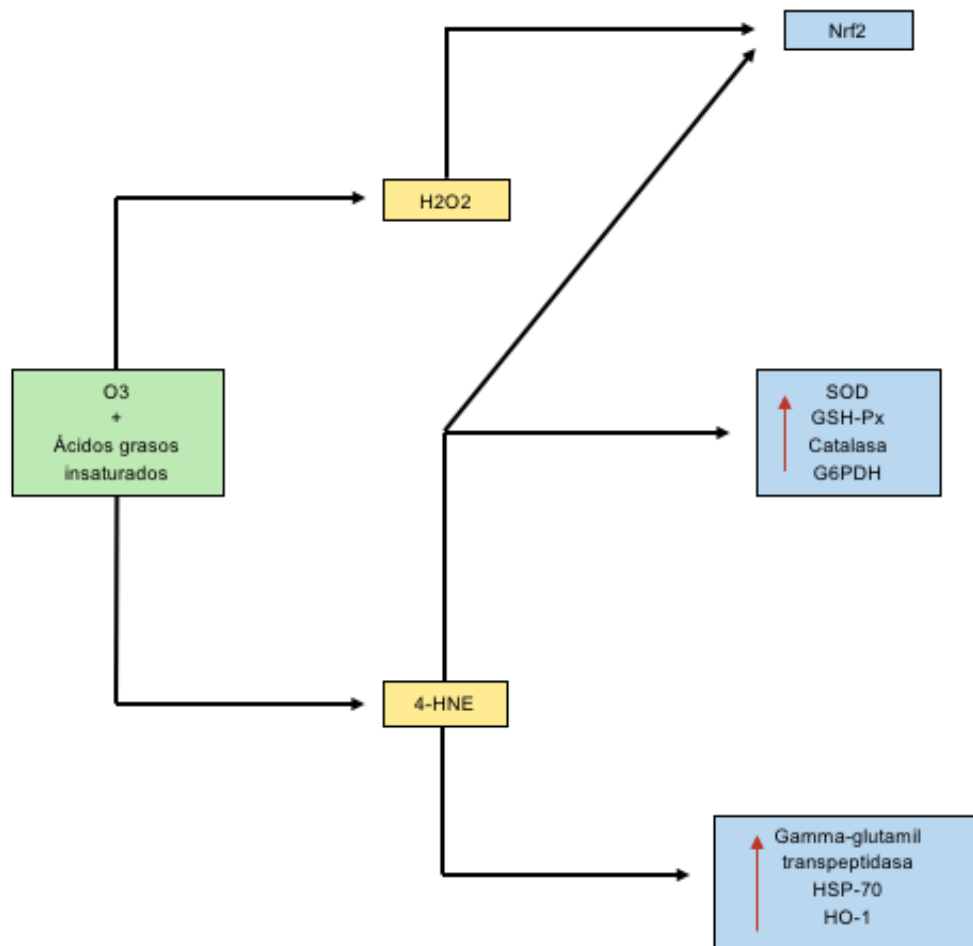


Figura 2. Mecanismo de acción antioxidante del ozono, adaptado de Sciorsci, 2020 (1)

1.2.2. Antimicrobiano

El mecanismo de acción del ozono como antibacteriano involucra la ruptura de la membrana citoplasmática bacteriana, así como otras estructuras de pared celular, lo que resulta en la alteración de la permeabilidad de la membrana y en la pérdida de la viabilidad celular. (15)

Como antimicótico, actúa sobre los enlaces disulfuro de la pared celular, alterando la difusión de moléculas a través de la membrana celular. Se ha demostrado que posee un efecto inhibitorio sobre la esporulación fúngica y sobre algunas enzimas como ureasa, amilasa, lipasa y keratinasa. (15)

Como antiviral, actúa como un potente oxidante de la cápside viral y del material genético, haciéndolos incapaces de reproducirse. (15)

1.2.3. Antiinflamatorio y analgésico

El ozono contribuye a disminuir los niveles de las citocinas proinflamatorias IL-1 β , IL-6, IL-12 y TNF- α y al incremento de los niveles de la citocina antiinflamatoria IL-10. (16)

Los mecanismos analgésicos aún no son conocidos del todo, es probable que algunos de ellos sean; activación del sistema antinociceptivo descendente, liberación de endorfinas, degeneración de los receptores de dolor y estimulación del sistema analgésico central. (17)

1.2.4. Inmunomodulador

El peróxido de hidrógeno producido por las reacciones del O₃ es capaz de ingresar a los leucocitos y mejorar su actividad fagocítica, principalmente de los neutrófilos. También promueve la liberación de citocinas que regulan la respuesta inmune, como IFN- γ , IL-8 y algunas proteínas de fase aguda. (15,18)

La liberación de citocinas con efecto sobre el sistema inmune es estimulada por la activación del NF- κ B y el TFG- β , activados a su vez por el H₂O₂. (15,19)

1.2.5. Cicatrizante

El aceite ozonizado como cicatrizante promueve la migración de fibroblastos a través de la activación de factores para la reparación de heridas. (15,20)

El O₃ disminuye el número de células inflamatorias en tejidos dañados y estimula el depósito de colágeno. Se cree que el O₃ causa una mayor expresión de FGF-2, que es responsable de regular la reparación de tejidos. (15,21)

La exposición de tejidos a niveles terapéuticos de O₃ causa un aumento en los niveles de Factor de Crecimiento Transformante beta (TGF- β), una proteína que actúa como modulador inflamatorio, estimula la angiogénesis y la remodelación de la matriz extracelular. (15,22)

El ingreso de H₂O₂ a las plaquetas causa un aumento en la liberación de factores de crecimiento e IL-8, lo que ayuda al proceso de cicatrización. (15,18)

1.2.6. Oxigenación y perfusión a tejidos

En los eritrocitos, el ingreso de H₂O₂ a la célula causa la activación de la glucólisis y un aumento en la producción de ATP y 2,3-difosfoglicerato. A causa de esto, ocurre el efecto de Bohr y aumenta la disociación del oxígeno y la hemoglobina, lo que permite una mayor concentración de O₂ en los tejidos. (15,18,19)

Además, el O₃ estimula el flujo transmembranal de O₂ y vuelve más efectiva la cadena respiratoria. (15)

La ozonoterapia también es capaz de incrementar los niveles de la enzima óxido nítrico sintasa, para producir óxido nítrico, que actúa como vasodilatador, lo que aumenta el flujo sanguíneo y la oxigenación de los tejidos. (15,18)

El preconditionamiento oxidativo causado por el O₃ es capaz de proteger al tejido hepático contra isquemia, a través de la producción de adenosina y NO, que juegan un papel importante en la señalización celular para preservar el balance redox y la función mitocondrial. El aumento de las enzimas antioxidantes puede incrementar la diferenciación de eritroblastos y llevar a un aumento progresivo en el recuento de eritrocitos. (15,23)

1.3. Efectos adversos

Las reacciones adversas a los tratamientos con la mezcla de ozono-oxígeno son muy raras y en su mayoría están relacionadas con errores en la técnica de administración. (5)

El ozono no causa reacciones alérgicas y en general no se han descrito interacciones con otros fármacos. (5)

Existen estudios sobre la toxicidad del ozono sobre las vías respiratorias altas y el parénquima pulmonar, esto se debe a que los sistemas antioxidantes naturales están prácticamente ausentes en estos tejidos. Por otras vías de administración, los sistemas antioxidantes neutralizan rápidamente el ligero estrés oxidativo transitorio que acompaña la administración terapéutica de O₃. (8)

Los efectos adversos, en general, están relacionados con: (5)

- Altas dosis de ozono: al inocularse un gran volumen de gas en el torrente sanguíneo se origina un émbolo que activa los mecanismos de la coagulación
- Uso de materiales inapropiados: el uso de bolsas plásticas no resistentes al ozono puede causar compuestos tóxicos para el paciente

- Incorrecta introducción de la aguja: asociado al trauma que genera la aguja al introducirse sobre las estructuras anatómicas
- Factores propios del paciente: relacionado con el estímulo doloroso y el estado de excitación del paciente

1.4. Aplicaciones clínicas en Medicina Veterinaria

La ozonoterapia en Medicina Veterinaria es utilizada para el tratamiento de numerosas enfermedades en múltiples especies.

1.4.1. Bovinos

El principal uso del O₃ en bovinos es para el tratamiento de mastitis aguda, cuyo tratamiento de elección consiste en el uso de antibióticos. Se han administrado infusiones de O₃ directamente en el cuarto afectado, dando como resultado que las vacas tratadas con ozono no necesiten tratamiento con antibiótico para su recuperación, además no se ha detectado residuos de ozono en leche. (1,24)

El ozono también es utilizado en la reproducción de bovinos, especialmente en casos de urovagina, su aplicación en este padecimiento se hace en forma de espuma inmediatamente después del retiro de orina, resultando en un incremento de la fertilidad del hato. (1,25)

También se ha utilizado en presentación de espuma para prevenir metritis. (1)

1.4.2. Pequeños rumiantes

Se ha administrado ozono como terapia intrauterina en caprinos como parte del tratamiento de la retención de membranas fetales, distocias y partos. Este tratamiento ha tenido resultados similares a la antibioterapia estándar (1), lo que indica que podría ser una alternativa de tratamiento.

En ovinos se ha utilizado para el tratamiento de la pododermatitis interdigital junto con plasma rico en plaquetas y ha tenido resultados similares al tratamiento antibiótico de elección. (26)

1.4.3. Equinos

En la clínica de equinos también se ha utilizado el ozono como tratamiento de mastitis aguda, osteoartritis y laminitis. (27) Además, la terapia con O₃ representa una alternativa para el tratamiento antiinflamatorio de dolor lumbar. (1,28)

Una nueva formulación de aceite ozonizado oftálmico se ha utilizado para el tratamiento de múltiples patologías comunes del ojo en equinos. (1,29)

1.4.4. Pequeñas especies

En la clínica de pequeñas especies el ozono también se ha utilizado para el tratamiento de diferentes alteraciones, como es el caso del aceite ozonizado como tratamiento de patologías oculares (1), la administración intradiscal de oxígeno-ozono en la reducción del tamaño de los discos intervertebrales en casos de hernia discal (1,30) y en procedimientos dentales como tratamiento para infecciones bacterianas y extracciones de piezas dentales. (1,31)

Recientemente una formulación de O₃ liposomal ha demostrado tener buenos resultados como tratamiento para piodermas. (32)

1.5. Vías de administración

El ozono, como cualquier otro gas, se disuelve inmediatamente en agua, tanto en plasma (en el líquido extracelular) como en la película hidrolipídica de la piel, particularmente en las mucosas del tracto respiratorio, vagina, entre otras.

La ozonoterapia se ha administrado por diferentes vías parenterales sin efectos tóxicos, ya sea en forma de gas, agua o aceite ozonizado, excepto por la vía inhalatoria donde es potencialmente tóxico. (8)

En el **Cuadro 1** se presentan las principales vías de administración del ozono.

Cuadro 1. Ejemplo de vías de administración de ozono en gas y mediante aceites o agua ozonizados. (8)

Gas	Aceite o agua ozonizados
Intravenosa*	Oral
Intramuscular	Vaginal
Subcutánea	Uretral
Intraperitoneal	Rectal
Intrapleural	Cutánea
Intrarticular	
Peritumoral	

*En combinación con sangre (autohemoterapia)

Existen diferentes concentraciones recomendadas para la administración de O₃ y estas dependen de la patología presente, se han reportado concentraciones de 5 a 60 µg/ml e inclusive dosis aún más pequeñas que logran ejercer efectos terapéuticos con un amplio margen de seguridad. Este rango incluye tanto técnicas de administración local como sistémica. (18,32)

Se debe de tomar en cuenta que cada vía de administración tiene su dosis máxima y mínima, así como concentración y volumen. (32)

Cuadro 2. Ejemplos de dosis y vías de administración de ozonoterapia en perros.
(32,33)

Vía de administración	Patologías		Concentración	Volumen de gas
Autohemoterapia menor	Procesos inflamatorios		20 a 30 µg/ml	10 ml
Intraperitoneal	Enfermedades oncológicas		50 µg/ml	200 a 300 ml
Intradiscal	Hernia de discos		15 a 20 µg/ml	2.5 a 5 ml
Intraarticular	Enfermedades degenerativas de las articulaciones		10 a 15 µg/ml	1 a 10 ml
Subcutánea	Dolor neuropático		5 a 10 µg/ml	1 a 2 ml por punto (no rebasar el volumen total de 50 ml)
Insuflación rectal	Procesos oncológicos	Dosis baja	20 a 45 µg/ml	5 a 40 ml
	Enfermedades músculo-esqueléticas Enfermedades del sistema inmunológico	Dosis media		
	Enfermedades dermatológicas	Dosis altas		
Embolsado (mediante aceite)	Desinfección de heridas		50 µg/ml	
	Cicatrización de heridas		10 a 20 µg/ml	

1.6. Ozonoterapia en gas

El uso del ozono en el área médica se ha desarrollado desde el siglo XIX. Su valor medicinal ha sido controversial a pesar de múltiples investigaciones.

Se ha demostrado que la ozonoterapia brinda beneficios sustanciales que abarcan una gran variedad de patologías crónicas y agudas. (19)

Se conocen múltiples modalidades de administración dependiendo de la patología a tratar. En general, la ozonoterapia en gas es utilizada para el tratamiento de enfermedades sistémicas y locales con éxito. Esto se debe a sus

múltiples mecanismos de acción; antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorio, analgésico, inmunomodulador y cicatrizante. (18)

Existe una amplia variedad de generadores de ozono medicinal disponibles en el mercado capaces de monitorear la producción de ozono como gas, determinando así la concentración de ozono. (18)

El ozono gaseoso puede administrarse con gran flexibilidad debido a sus múltiples vías de administración como son: autohemoterapia, subcutánea, intramuscular, intradiscal, intracavitario (peritoneal y pleural), intravaginal, intrauretral, vesical, aplicación dental y como agua ozonizada. (18) (véase

Cuadro 1)

En contraste, la gran desventaja es su vida media corta, por lo cual debe ser generado inmediatamente antes de ser utilizado. (9)

La ozonoterapia en gas debe ser ejecutada por un médico, médico veterinario u odontólogo especializado en el uso de ozono medicinal, ya que si se administra de forma inapropiada se expone al paciente a diferentes riesgos, como émbolos por vía intravenosa o inflamación del sitio de aplicación de manera local. (9)

Además, para su obtención se deben utilizar oxígeno médico para evitar los contaminantes del oxígeno ambiental como el nitrógeno. (18)

Sin embargo, existen escasos controles sobre esta terapia (e incluso pueden ser inexistentes) en la mayoría de los países donde se practica. (9)

1.7. Aceite ozonizado

Previamente se mencionó que una de las grandes desventajas de la ozonoterapia en gas es su inestabilidad, sin embargo, existen técnicas para prolongar su efecto terapéutico. Una de estas técnicas es la reacción controlada

de ozono con los ácidos grasos de los aceites vegetales principalmente, que produce derivados oxidativos con una elevada actividad terapéutica y puede ser estabilizado por un periodo de hasta 3 años. (9)

Los aceites que se ozonizan son los refinados de girasol, oliva, maíz, entre otros. La ozonización se lleva a cabo bajo diferentes concentraciones y tiempos de burbujeo en dependencia de la aplicación que se pretende dar al aceite. En la literatura se ha reportado la evaluación de diferentes aceites ozonizados con diferentes porcentajes de ozono, así como índices de peróxido. (9)

Para que no pierda sus cualidades terapéuticas, el aceite ozonizado se debe almacenar en recipientes que impidan el paso de los rayos UV. (9)

Los aceites ozonizados destinados al uso médico deben ser preparados según las buenas prácticas de fabricación que regularmente sigue la industria farmacéutica, lo cual implica entre otros elementos el uso de materias primas de alta calidad y el control de indicadores de calidad durante el proceso productivo. Existen múltiples estudios donde se ha demostrado su efecto terapéutico como:

(9)

- Cicatrizante
- Antimicrobiano
- Antiinflamatorio

Se ha sugerido que los aceites ozonizados tienen un efecto gastroprotector en la mucosa gástrica que es mediado parcialmente por su efecto estimulante sobre enzimas como la superóxido dismutasa (SOD), un importante secuestrante de radicales superóxido y la glutatión peroxidasa (GSH-Px), involucrada en la eliminación del peróxido de hidrógeno y de hidroperóxidos lipídicos; ambas

constituyen secuestrantes endógenos de especies reactivas de oxígeno (ROS); (34) además, su efecto cicatrizante estimula la regeneración del tejido dañado. Existen numerosos medicamentos o cosméticos en el mercado que utilizan como principio activo al aceite ozonizado. Por ejemplo: Oxaktiv® (Alemania), OleoForte® (España), Ozonia 10® (Italia), OzoneBella® (Rusia), OleoSan® (Italia), Oxizon® (Turquía), Bi-ono® (Italia). El más estudiado bajo el punto de vista clínico es el aceite de girasol ozonizado producido en Cuba bajo la marca Oleozon®. (9)

El aceite ozonizado conserva su actividad a temperatura ambiente durante 3 meses y en refrigeración (4 - 8°C) durante 3 años. (9)

Se han reportado efectos adversos asociados a su uso de forma poco frecuente como prurito, sensación de quemadura, eritema y edema, dichos signos siendo de corta duración. (9)

1.8. Gastritis en perros y gatos

La gastritis se define como un proceso inflamatorio que afecta a la mucosa y a otros tejidos del estómago. Existen 2 tipos:

- Gastritis aguda:

Su etiología es variada, sus causas más comunes son: ingestión de comida contaminada, cuerpos extraños, químicos y fármacos que irritan la mucosa gástrica (AINE's). (35)

Los perros frecuentemente son más afectados que los gatos debido a sus hábitos alimenticios. (35)

Los signos clínicos principalmente son: vómitos (ya sea bilis o alimento), que pueden tener o no presencia de sangre y anorexia. Hipertermia y dolor abdominal son signos poco comunes. (35)

- Gastritis crónica

Existen 5 tipos de gastritis crónica: linfocítica, linfoplasmocítica, eosinofílica, granulomatosa y atrófica. (35)

La gastritis linfocítica o linfoplasmocítica es una respuesta inmune y/o inflamatoria a una variedad de antígenos, entre los que se encuentra *Helicobacter* (especialmente en gatos) y *Physaloptera rara* (en perros). (35)

La gastritis eosinofílica representa una reacción alérgica muy probablemente hacia el alimento. (35)

La gastritis atrófica puede ser resultado de una gastritis crónica como resultado a la inflamación persistente. (35)

El parásito *Ollulanus tricuspis* se asocia con el desarrollo de gastritis granulomatosa en gatos. (35)

1.9. Antiinflamatorios no esteroidales (AINE's)

Como ya se mencionó, una de las principales causas de gastritis aguda es el uso de fármacos, principalmente antiinflamatorios no esteroidales (AINE's) que son de uso frecuente en Medicina Veterinaria.

Los mecanismos de acción generales de los AINE's se explican por la inhibición sobre la actividad de las ciclooxigenasas y por consiguiente la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, tromboxanos y prostaciclina. (36)

En Viena en 1940 identificaron una nueva ciclooxigenasa en caninos que denominaron COX-3 y que actúa independientemente de COX-1 y COX-2 Así,

COX-3 es considerada una nueva e importante clave en la biosíntesis de mediadores antiinflamatorios endógenos, aunque aún no se conocen por completo sus funciones y características. (37)

Los AINE's con gran capacidad de inhibir a COX-3 demostraron preferencia como inhibidores de COX-1, en lugar de COX-2. (37)

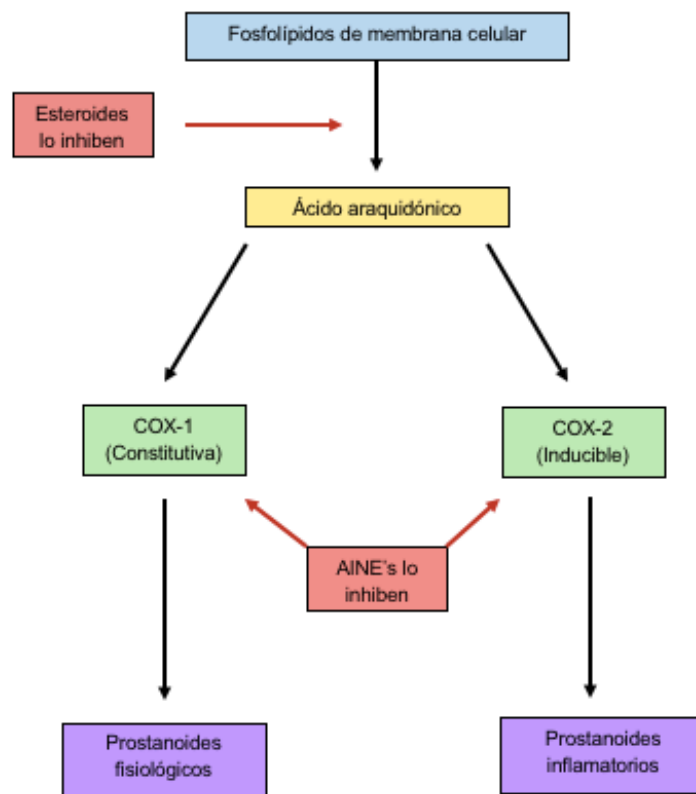


Figura 3. Mecanismo de acción de los antiinflamatorios esteroidales y AINE's, adaptado de Sumano, 2006 (38)

La mayoría de los fármacos utilizados actualmente son efectivos en procesos agudos, pero cuando se administran durante largos periodos de tiempo para el tratamiento de enfermedades crónicas (principalmente ortopédicas y neoplásicas) su empleo suele estar limitado por la presencia de efectos secundarios gastroirritativos y nefrotóxicos. (36)

1.9.1. Tratamientos

Existen múltiples fármacos actuales con distintos mecanismos de acción para el tratamiento de gastritis en varias especies.

1.9.2. Inhibidores de la bomba de protones (IBP's)

El mecanismo de acción de los IBP's se da por la inhibición de la bomba de protones que causa una disminución de la secreción de ácido clorhídrico, son muy eficaces para el tratamiento y la prevención de enfermedades frecuentes e importantes del aparato digestivo relacionadas con la secreción ácida gástrica. Al inhibir la bomba de protones, disminuye la cantidad de ácido clorhídrico en el estómago reduciendo el contacto con la mucosa gástrica. (39) Dentro de este grupo de fármacos los más utilizados en Medicina Veterinaria son el omeprazol y el pantoprazol. (40)

La exposición de este fármaco al pH gástrico lo degrada en su mayor parte y le confiere una biodisponibilidad escasa, por lo que se formula en gránulos sensibles al pH, capaces de liberar la sustancia exclusivamente cuando los valores de este sean superiores a 6 y evitar el contacto del omeprazol con el pH gástrico. (41)

Existen múltiples estudios de las reacciones adversas de estos fármacos entre las que destacan las dadas por su uso crónico, entre ellas: (41)

- Incremento del riesgo de osteoporosis y fracturas
- Incremento del riesgo de infecciones entéricas
- Nefritis intersticial aguda
- Hipomagnesemia
- Inhibición de la absorción de hierro
- Incremento del riesgo de neoplasias

- Disbiosis

1.9.3. Antagonistas H₂

Son fármacos inhibidores competitivos de la histamina sobre los receptores H₂ de las células parietales. Los fármacos de este grupo más utilizados en Medicina Veterinaria son la ranitidina y la famotidina. (40)

Este grupo de fármacos son bien tolerados y existen múltiples presentaciones comerciales, incluso disponible en soluciones orales palatables, son de bajo costo y ampliamente disponibles en el mercado. (42)

Se ha reportado que en algunos pacientes se produce tolerancia al efecto supresor de la acidez con disminución del efecto terapéutico. Se pueden producir reacciones de hipersensibilidad, incluso entre fármacos. Se han observado incrementos de los analitos hepáticos, especialmente transaminasas y bilirrubinas, que son transitorios y reversibles, y que desaparecen al suspender el tratamiento. (43)

1.9.4. Protectores de la mucosa gástrica

El fármaco más utilizado en Medicina Veterinaria de este grupo es el sucralfato, el cual es un agente antiulceroso local. Después de su administración oral, reacciona con el ácido clorhídrico en el estómago para formar complejos similares a pastas que se unen a los exudados proteínicos que se encuentran sobre las úlceras. Forman una barrera que protege a la mucosa de más daño causado por la pepsina, el ácido o la bilis. (38,40)

No existen contraindicaciones para el uso del sucralfato y tiene un efecto de hasta 6 horas después de su administración. (40)

El sucralfato puede afectar la absorción oral de otros medicamentos, por lo que debe separarse de su administración por lo menos 2 horas para minimizar estos efectos. Su uso a largo plazo puede causar constipación. (38)

1.9.5. Reguladores de pH

Se trata de antiácidos orales y secuestradores de fósforo. Los más utilizados en Medicina Veterinaria son el hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio e hidróxido de calcio. (40)

Además de neutralizar el pH en casos de hiperclorhidria gástrica, son auxiliares en el tratamiento de hiperfosfatemia secundaria a enfermedad renal. (38)

Son fármacos fáciles de adquirir y de utilizar debido a su presentación en suspensiones orales. (40)

Pueden inhibir vaciamiento gástrico y disminuir la absorción de algunos fármacos como los inhibidores H₂ y algunos antibióticos. (40)

A pesar de que existen diversos fármacos que se pueden utilizar para el tratamiento de gastritis en perros y gatos, estos no promueven directamente la recuperación de la mucosa gástrica, únicamente reducen el contacto del ácido clorhídrico con la mucosa mediante distintos mecanismos de acción, (39) por lo cual se requiere del desarrollo de una alternativa terapéutica que actúe directamente sobre la regeneración y cicatrización de la mucosa gástrica mejorando el tiempo de tratamiento, siendo este uno de los principales efectos terapéuticos de aceite ozonizado.

2. OBJETIVO

Evaluar el efecto terapéutico del aceite de girasol ozonizado en comprimidos sobre la mucosa gástrica en conejos con gastritis inducida, mediante observación macroscópica de la mucosa gástrica.

3. HIPÓTESIS

La administración de aceite de girasol ozonizado en comprimidos por vía oral ejercerá un efecto terapéutico sobre la mucosa gástrica en conejos con gastritis inducida.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Animales

El presente trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del laboratorio farmacéutico Omanu Labs en la alcaldía Coyoacán de la Ciudad de México. Este trabajo se realizó bajo la autorización del Comité Interno para el Cuidado y uso de los Animales (CICUA) de la FMVZ-UNAM bajo lo establecido por la NOM-062-ZOO-1999. (44)

Se realizó un estudio preclínico (45). Se trabajó con 46 conejos raza Nueva Zelanda, hembras, clínicamente sanas, no gestantes, de 16 semanas de edad con un peso promedio de 3.4 kg. Estos animales fueron adquiridos directamente por el laboratorio farmacéutico. De las 46 conejas, se utilizaron 40 para la evaluación de eficacia y 6 para la evaluación de seguridad.

Dichos animales fueron desparasitados 7 días antes de su llegada a las instalaciones del bioterio con mebendazol a dosis de 10 mg/kg PC PO por 5 días (Vermicell®, 20 mg de mebendazol por 1 ml). (40)

Las conejas tuvieron un periodo de adaptación a las instalaciones de 15 días.

El experimento se realizó en las instalaciones del bioterio del laboratorio farmacéutico. El bioterio contó con un área para realizar las endoscopías y un área de encierro primario. Cada área contó con un extractor de aire y un termómetro ambiental digital, manteniendo una temperatura entre 16 a 20° C. Los animales fueron expuestos a iluminación natural y artificial para garantizar 14 horas de luz y 10 horas de oscuridad. (46)

Encierro primario: se realizó en jaulas individuales colocadas en batería, con medidas de 75 cm de largo x 50 cm de ancho x 40 cm de alto. El área de piso de la jaula fue de 0.37 m², respetando las especificaciones de la NOM-062-ZOO-1999 (para conejos de hasta 4 kg: 0.28 m² y 36 cm de piso a techo).

Las jaulas contaron con tablas que funcionaban como descansa patas y tubos de cartón como enriquecimiento ambiental. (46)

Cada jaula contó con un comedero de lámina y un bebedero de chupón.

Los animales fueron alimentados *ad libitum* con alimento comercial en pellet de la marca Purina® (Conejina), con una ración aproximada de 200 g de alimento al día por coneja. (46) El agua de bebida fue ofrecida *ad libitum*.

4.2. Tratamientos

Para este estudio se elaboraron comprimidos de aceite ozonizado en polvo, estos comprimidos contienen 46% de aceite de girasol el cual presenta una inclusión de 9% de ozono. El aceite ozonizado en polvo para preparar los

comprimidos es polvo blanco con ligeros gránulos blancos. A partir de este polvo se prepararon comprimidos de 150 y 300 mg. Los comprimidos fueron elaborados por el laboratorio farmacéutico Omanu labs siguiendo sus estándares de calidad internos.

4.3. Evaluación de eficacia

Para la evaluación de eficacia se realizó un estudio de bloques aleatorizados con una población total de 40 animales, asegurando que todos los individuos se encontraran bajo las mismas condiciones.

A cada animal se le asignó un número y un color visible en un formato colocado fuera de la jaula, según el grupo experimental al que correspondían.

A todos los animales utilizados para la evaluación de eficacia se les administró directamente cápsulas de indometacina a una dosis de 20 mg/kg PC vía oral (Malival®, cápsulas de 25 mg) 24 h antes de la administración de los tratamientos con aceite de girasol ozonizado en polvo. (34)

Las dosis administradas de comprimidos de aceite de girasol ozonizado en polvo fueron las siguientes:

- 9.4 mg/kg PC de polvo de aceite ozonizado en comprimidos.
- 18.8 mg/kg PC de polvo de aceite ozonizado en comprimidos.
- 37.5 mg/kg PC de polvo de aceite ozonizado en comprimidos.

Debido al tamaño del bioterio, el estudio tuvo que llevarse a cabo en dos fases, por lo que las conejas se dividieron en 2 bloques de 20 conejas cada uno, que fueron trabajados primero uno y después el otro. A su vez, estos bloques se dividieron en 4 grupos según la dosis de tratamiento con aceite de girasol ozonizado:

Bloque 1

- Grupo control (GC): 5 conejas
- Grupo con dosis 9.4 mg/kg PC PO BID (GO9.4): 5 conejas
- Grupo con dosis 18.8 mg/kg PC PO BID (GO18.8): 5 conejas
- Grupo con dosis 37.5 mg/kg PC PO BID (GO37.5): 5 conejas

Bloque 2

- Grupo control (GC): 5 conejas
- Grupo con dosis 9.4 mg/kg PC PO BID (GO9.4): 5 conejas
- Grupo con dosis 18.8 mg/kg PC PO BID (GO18.8): 5 conejas
- Grupo con dosis 37.5 mg/kg PC PO BID (GO37.5): 5 conejas

4.3.1 Endoscopia

Los animales se sometieron a un protocolo de anestesia disociativa con xilacina a dosis de 3 mg/kg PC (Procin®, 20 mg de xilacina por 1 ml) y ketamina a dosis de 10 mg/kg PC (Anesket®, 100 mg de ketamina por 1 ml) vía IV por medio de la vena marginal de la oreja derecha o izquierda con jeringas de 1 ml con aguja calibre 25 G (40). Se contó con doxapram (Cloxapram®, 20 mg de doxapram por 1 ml) para administrar a dosis de 2 a 5 mg/kg PC IV en caso de que se presentará alguna complicación con el procedimiento anestésico. (40) Una vez que el animal se encontraba en plano quirúrgico se realizó el diagnóstico de gastritis y la evaluación de la eficacia de los tratamientos por medio de endoscopias con un endoscopio veterinario de 1.5 m marca Ekuore®.

4.3.2. Diagnóstico de gastritis

Se realizaron endoscopías a dos individuos de cada grupo en cada día de muestreo de forma alternada, de manera que a cada coneja se le realizó el procedimiento solamente dos veces, bajo la siguiente cronología:

- Día 0: administración de indometacina vía oral como inductor de gastritis.
- Día 1: se administró el protocolo anestésico al animal correspondiente y se realizó la endoscopia. Para el diagnóstico de gastritis se les asignó una puntuación de acuerdo con la escala presentada en el **Cuadro 3**.

Cuadro 3. Escala de evaluación para diagnóstico de gastritis (47):

Puntuación	Descripción
1	Normal (sana y sin alteraciones)
2	Una hemorragia en mucosa
3	De dos a cinco hemorragias en mucosa
4	Más de cinco hemorragias en mucosa
5	Una erosión
6	De dos a cinco erosiones
7	Más de cinco erosiones
8	Una úlcera
9	Dos úlceras
10	Tres o más úlceras
11	Úlcera perforante

La puntuación fue asignada 24 horas después de la administración de la indometacina y este resultado se consideró como lesión inicial (día 1).

Se inició la medicación con los comprimidos de aceite ozonizado a la dosis correspondiente según el grupo experimental cada 12 horas durante 7 días.

- Día 3, 5 y 7: se administró el protocolo anestésico xilacina/ketamina a una coneja de cada grupo y se realizó el diagnóstico de gastritis mediante endoscopia.

Al término de los 7 días se realizó la evaluación y comparación de los resultados obtenidos en las endoscopias.

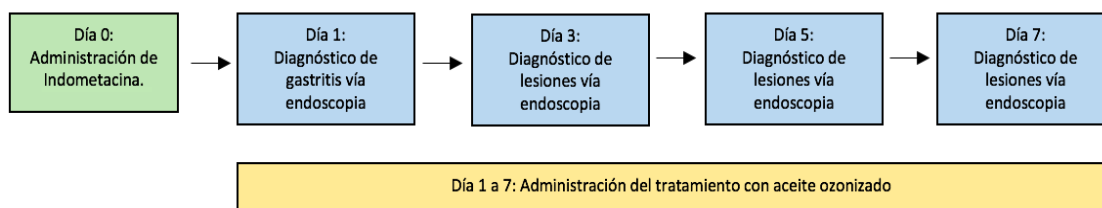


Figura 4. Procedimiento de aplicación de tratamientos y endoscopias.

4.3.3. Análisis estadístico

Los resultados de las puntuaciones asignadas a las lesiones se analizaron mediante la prueba no paramétrica de Friedman para muestras relacionadas para análisis de la varianza de dos factores relacionados con ayuda del software IBM® SPSS Statistics 27.0.

4.4 Evaluación de seguridad

Para esta evaluación se utilizaron 6 conejas de 16 semanas de edad con un peso aproximado de $3.4 \text{ kg} \pm 0.45 \text{ kg}$. Se dividieron en dos grupos y éstas no recibieron tratamiento con indometacina, a tres conejas se les administró polvo de aceite ozonizado en comprimidos a dosis de $18.8 \text{ mg/kg PC PO BID}$ durante 7 días y las tres conejas restantes se les administró polvo de aceite ozonizado en comprimidos a dosis de $37.5 \text{ mg/kg PO BID}$ por 7 días. Se tomaron 2 mL de muestra sanguínea por individuo mediante punción de la arteria auricular con una jeringa de 3 ml y aguja de calibre 25 G para el estudio de hemograma en

tubo vacutainer con EDTA y bioquímica sanguínea en tubo vacutainer sin anticoagulante, al inicio y al final finalizar los 7 días de tratamiento. (46)

Con el hemograma se evaluaron los siguientes componentes sanguíneos: (48)

- Leucocitos (polimorfonucleares y linfocitos)
- Plaquetas
- Eritrocitos y hemoglobina

Con la bioquímica sanguínea se evaluaron distintas enzimas y productos del metabolismo de distintos órganos, además de la relación de proteínas y de electrolitos (calcio, fósforo, potasio, cloro, sodio y bicarbonatos). (48)

En la bioquímica sanguínea los principales analitos que se toman en cuenta para evaluar toxicidad son: (48)

- Urea y creatinina: evaluación de la función renal.
- ALT, AST, FA, bilirrubinas y proteínas totales (albúmina y globulinas): evaluación de la función hepática.

5. RESULTADOS

Como se observa en el **Cuadro 4**, 24 horas después de la administración de indometacina se registró una calificación con Mdn entre 5 y 6 en todos los grupos debido al efecto gastroirritativo de la indometacina.

Al tercer día post tratamiento, las lesiones encontradas en la mucosa aún obtenían una puntuación con una Mdn entre 5 y 6 en la mayoría de los animales de los diferentes tratamientos, sin embargo, un conejo del grupo GO18.8 ya obtuvo una calificación de 4.

Al quinto día post tratamiento los grupos GC y GO9.4 continuaban con una Mdna entre 5 y 6. Por otra parte, el grupo GO18.8 presentó calificaciones con Mdna de 3 y de este grupo solo un conejo obtuvo una calificación de 4. Para el grupo GO 37.5 también se registraban calificaciones con Mdna de 3.5, aunque aún se registró un individuo con una calificación de 5.

Al final del estudio en el día 7 en el grupo GC se registraron calificaciones con Mdna de 6, en el grupo GO9.4 se registró una calificación de 3, pero con una Mdna de 4. Para el grupo GO18.8 ya se presentaba una Mdna de 2 y en el grupo GO37.5 ya se presentó una Mdna de 1.

Los grupos GC y GO9.4 no presentaron diferencia estadísticamente ($P > 0.05$) significativa entre la Mdna de los diferentes días de observación a lo largo del estudio. Por el contrario, a partir del día 5 GO18.8 y GO37.5 presentaron diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) con respecto a la Mdna de los días 1 y 3, presentando una disminución en el valor asignado de lesión.

Por lo tanto, se considera que existe una diferencia estadísticamente significativa entre el día 7 y los días 1 y 3 de los grupos GO18.8 y GO37.5, en el día 5 de estos tratamientos no se encontró diferencia significativa.

En el **Cuadro 5** se observan imágenes representativas de los resultados obtenidos por día y por tratamiento.

Cuadro 4. Mediana (Mdna) de las calificaciones¹ de lesión gástrica asignadas en cada grupo² tratado.

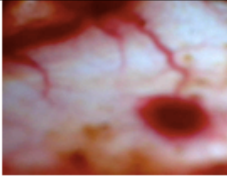
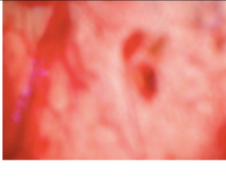
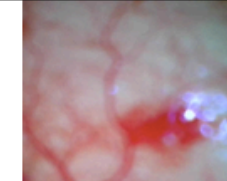
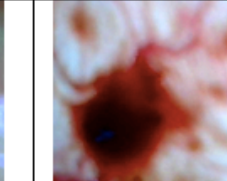

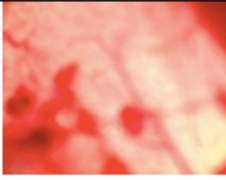

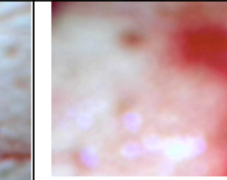

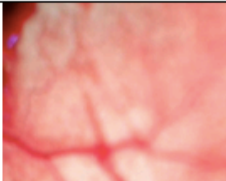
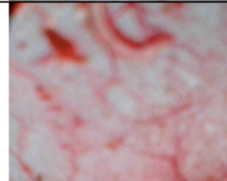
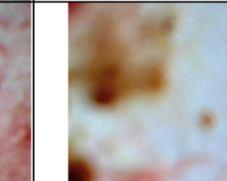

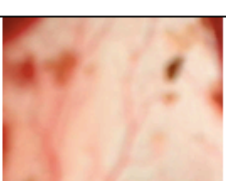


Día	GC	GO 9.4	GO 18.8	GO 37.5
1	6 ^a	5 ^a	6 ^a	6 ^a
3	6 ^a	5 ^a	5.5 ^a	5.5 ^a
5	5 ^a	5 ^a	3 ^{ab}	3.5 ^{ab}
7	6 ^a	4.5 ^a	2 ^b	1 ^b

^{a-b}Diferentes literales entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) en cada tratamiento.

¹Escala de calificaciones: 1: normal (sana y sin alteraciones) a 11 (úlceras perforantes).

²GC: Grupo control; GO9.4: 9.4 mg/kg PO BID, GO18.8 mg/kg PO BID, GO37.5: 37.5 mg/kg PO BID

Cuadro 5. Imágenes representativas de los resultados obtenidos mediante la observación de la mucosa gástrica por gastroscopia por día y por tratamiento.

Tratamientos ¹				
Día	GC	GO9.4	GO18.8	GO37.5
1				
3				
5				
7				

¹GC: Grupo control; GO9.4: 9.4 mg/kg PO BID, GO18.8 mg/kg PO BID, GO37.5: 37.5 mg/kg PO BID

En el **Cuadro 6**, se observan los valores registrados en el hemograma antes y al final del tratamiento con aceite ozonizado en polvo, estos se mantuvieron dentro del rango normal para la especie cuando se administró una dosis de 18.8 mg/kg y 37.5 mg/kg durante 7 días continuos.

Cuadro 6. Valor promedio de los resultados obtenidos en el hemograma en los grupos tratados con aceite ozonizado en comprimidos vía oral al inicio (día 1) y al final del tratamiento (día 7) comparados con los valores de referencia. (48)

Día	18.8 mg/kg		37.5 mg/kg		Valor de referencia
	1	7	1	7	
Eritrocitos	4.9	5.3	5.1	5.3	$4 - 7 \times 10^{12}/L$
Leucocitos	7.1	7.6	6.9	7.4	$5 - 12 \times 10^3$
Plaquetas	272.5	327	287.5	340	$250 - 600 \times 10^3$
Hemoglobina	11.6	12.1	11.9	12.6	10 – 15 g/dL

Como se observa en el **Cuadro 7**, los valores registrados en los principales analitos de la bioquímica sanguínea antes y al final del tratamiento con comprimidos de aceite ozonizado en polvo se mantuvieron dentro de rango normal para la especie cuando se administró a dosis de 18.8 mg/kg y 37.5 mg/kg durante 7 días.

Cuadro 7. Valor promedio de los resultados obtenidos en la bioquímica sanguínea en los grupos tratados con aceite ozonizado en comprimidos vía oral al inicio (día 1) y al final del tratamiento (día 7) comparados con los valores de referencia. (48)

	18.8 mg/kg		37.5 mg/kg		Valor de referencia
	Día 1	Día 7	Día 1	Día 7	
Urea	6.8	6.6	7.1	6.7	6.14 – 8.38 mmol/L
Creatinina	182.5	219.5	189.5	216.35	44.2 – 229 µmol/L
ALT*	42	48	44	46	25 – 65 UI/L
AST*	50	58	54	60	10 – 98 UI/L
FA*	36	42	38	42	10 – 70 UI/L
Bilirrubinas	4.6	4.95	3.6	4.2	3.4 – 8.5 µmol/L
Albúmina	32	38	30	40	27 – 50 g/L
Proteínas totales	64	68	58	66	54 – 75 g/L

*Alanina aminotransferasa (ALT); Aspartato aminotransferasa (AST); Fosfatasa alcalina (FA)

6. DISCUSIÓN

La gastritis es un problema multifactorial que se presenta con mayor frecuencia en perros que en gatos debido a sus hábitos alimenticios, sin embargo al ser una enfermedad multifactorial no se relaciona con edad, raza o sexo por lo que podría presentarse en cualquier momento. (35) En la actualidad, los tratamientos están dirigidos a la inhibición de la secreción gástrica o en la disminución del contacto del ácido clorhídrico con la mucosa gástrica, reduciendo el grado de lesión pero sin favorecer directamente la regeneración de la mucosa gástrica. (49)

A las 24 h de administrar indometacina se presentó el efecto gastroirritativo tal como se ha reportado cuando se administra en ratas a dosis de 20 mg/kg por medio de una sonda. (10) Dicho efecto puede ser similar con el uso de AINE's

en diferentes especies, por lo que es necesario que la evaluación de un nuevo tratamiento se realice mediante una evaluación clínica y bajo las condiciones que normalmente estén presentes en un paciente, tal como ha sucedido con la evaluación del efecto terapéutico de omeprazol y cimetidina para el tratamiento de úlceras gástricas inducidas mecánicamente en conjunto con la administración de ácido acetilsalicílico a dosis de 25 mg/kg SID por 20 días en perros. (50)

En este estudio se pudo observar que el grado de lesión fue similar durante los siete días de observación en los grupos GC y GO9.4, por lo que la dosis utilizada en GO9.4 no presentó un efecto terapéutico, razón por la cual es importante evaluar diferentes dosis de tratamiento tal como se ha reportado en un estudio en el que se compararon dos diferentes dosis de omeprazol (20 mg PO SID y 40 mg PO SID) y un placebo para el tratamiento de esofagitis erosiva. (51)

Por el contrario, en los grupos GO18.8 y GO37.5 sí se presentó una disminución de la puntuación asignada a partir del día 5 y ésta continuó disminuyendo para el día 7, por lo que se podría considerar que esto puede deberse al efecto del aceite ozonizado, para el que se ha reportado que al ser administrado por vía tópica en heridas produce vasodilatación incrementando el flujo sanguíneo y por consiguiente la oxigenación y el metabolismo celular, acelerando el proceso de cicatrización (52). Se conoce que el ozono también es capaz de activar la expresión de múltiples citocinas que son importantes para la reparación de heridas (VEGF, TGF- β y PDGF), además de su efecto antibacteriano e inmunomodulador. (20)

Como antiinflamatorio se ha demostrado que el ozono contribuye a disminuir los niveles de citocinas proinflamatorias, además de aumentar los niveles de las citocinas antiinflamatorias, por lo que este efecto podría haber ayudado durante

el proceso de regeneración y de esta forma redujo el grado de lesión inicial en 7 días. (16)

En ratas se ha reportado la administración de un producto comercial de aceite ozonizado con 8 a 12,8% de hidroxihidroperóxidos de triglicéridos insaturados como oxígeno activo por vía intragástrica a través de una cánula, observándose una reducción importante del daño a la mucosa gástrica inducida por indometacina, similar a lo observado en este estudio para GO18.8 y GO37.5.

(10) En otro estudio también con ratas, se administró aceite ozonizado por vía intragástrica cuyo índice de peróxidos (IP) es de 650 mmol/kg a dosis de 4, 12 y 24 mg/kg de aceite ozonizado mediante una cánula y posteriormente administraron una sola dosis de etanol puro (1 ml/200 g PC), en este estudio se observó que el aceite ozonizado presentó un efecto gastroprotector disminuyendo el tamaño de las úlceras gástricas inducidas por el etanol comparado con un grupo control al cual no se le administró ningún tratamiento de aceite ozonizado. (34)

A diferencia de los estudios previamente señalados, en este caso se utilizaron comprimidos a base de aceite de girasol ozonizado en polvo, para estos comprimidos se utilizó aceite de girasol para el cual se ha demostrado que no presenta diferencias con otros aceites naturales cuando se ozonifican. (53)

Por otro lado, el ozónido es un peróxido que se forma durante la ozonización de aceites. Los hidroperóxidos que se forman cuando la ozonización del aceite se hace en presencia de agua o por la descomposición de los ozónidos, los primeros son un tipo de peróxido más reactivo. Además de estas dos especies principales de peróxidos, pueden existir otros subproductos de la ozonización y de las reacciones posteriores en los aceites ozonizados, que pueden influir en el

resultado del IP. El método ISCO3 tiene el objetivo de alcanzar la determinación de todos los tipos de peróxidos presentes en el aceite ozonizado, incluidos los ozónidos y cualquier otro, a diferencia de los métodos convencionales, que subestiman el valor del IP de los aceites ozonizados, por lo que se puede considerar que el efecto terapéutico observado en el grupo GO18.8 y GO37.5 puede deberse a estos peróxidos tal como se ha mencionado anteriormente en otros estudios con aceites líquidos ozonizados. (10,34,54)

En general, los aceites ozonizados no presentan efectos adversos, sin embargo, en humanos se ha reportado que por vía tópica en el 0.3% de los pacientes presentó prurito, sensación de quemadura, eritema y edema. En humanos por vía oral en el 2.6% de los pacientes se ha reportado vómito. En animales no se han reportado efectos como los descritos anteriormente y en este estudio tampoco se observó signología que indicara la presencia de efectos adversos durante los 7 días de administración del tratamiento. (9)

Los resultados obtenidos mediante el estudio de hemograma y bioquímica sanguínea permanecieron dentro de los valores de referencia, lo que puede indicar que la administración de comprimidos de aceite de girasol ozonizado en polvo es seguro durante el tiempo que se administró el tratamiento en este estudio (7 días), tal como se ha reportado al cuantificar la relación de eritrocitos policromáticos con los eritrocitos normocromáticos de ratones tratados con aceite de girasol ozonizado por 5 días SID por vía intragástrica a través de una cánula y sin reportar alteraciones en la hematopoyesis. (55)

En otro estudio se expuso sangre humana entera a autohemoterapia con distintas concentraciones de ozono para determinar la concentración de fibrinógeno, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL, antes y después de la

autohemoterapia resultando en que el ozono no modifica la concentración de estos compuestos, (56) lo cual es similar a los resultados de la bioquímica sanguínea en este trabajo de los individuos con el tratamiento de comprimidos de aceite de girasol ozonizado a dosis de 18.8 mg/kg y 37.5 mg/kg por 7 días donde tampoco hubo diferencias en los analitos evaluados antes y después del tratamiento.

Se ha reportado que la supresión crónica de ácido clorhídrico debido al uso de inhibidores de la bomba de protones puede resultar en un sobrecrecimiento bacteriano y disbiosis en estómago e intestino delgado, exacerbando el daño gástrico e intestinal inducido por el uso crónico de AINE's, por lo tanto es imprescindible el uso de otro tipo de fármacos que permita la protección y regeneración de la mucosa gástrica e intestinal sin alterar la microbiota, por lo que los aceites ozonizados podrían considerarse como una alternativa prometedora. (57)

Los resultados obtenidos en este estudio reflejan que la administración de aceite ozonizado por vía oral puede tener un efecto regenerador y antiinflamatorio sobre la mucosa gástrica con gastritis inducida, además de ser seguro mientras se administra por 7 días dosis de 18.8 mg/kg PC PO BID y 37.5 mg/kg PC PO BID, sin embargo, es necesario que este fármaco sea probado en la especie objetivo para determinar si tiene el mismo efecto que en conejos, tal como se observó en este estudio. También es necesario realizar una comparación entre diferentes duraciones de tratamiento para determinar si continúa presentando el mismo efecto, además de evaluar su seguridad.

Es importante considerar que en este estudio el diagnóstico de gastritis y evaluación de la respuesta al tratamiento se realizó únicamente con observación

macroscópica de la mucosa gástrica, procedimiento que se ha reportado confiable para la evaluación de eficacia de tratamientos, (58) no obstante, sería importante correlacionar los hallazgos macroscópicos con un análisis histopatológico de la mucosa para tener una mejor descripción de las lesiones. Por último, es esencial realizar una comparación de los efectos terapéuticos entre el aceite ozonizado en polvo con otros medicamentos que ya se encuentran en el mercado, por ejemplo: inhibidores H₂, IBP's y protectores de la mucosa gástrica (tratamientos de gastritis) para determinar las diferencias terapéuticas a corto y largo plazo.

7. CONCLUSIONES

En este estudio se observó que al administrar una dosis de 18.8 mg/kg y 37.5 mg/kg de aceite de girasol ozonizado en polvo se presentó un efecto terapéutico sobre la mucosa gástrica en conejos con gastritis inducida por indometacina (AINE), por lo que se puede asumir que la dosis de 18.8 mg/kg sería adecuada como posible dosis terapéutica al considerar el volumen por dosis. El polvo de aceite de girasol ozonizado en comprimidos podría ser una alternativa para el tratamiento de gastritis una vez que se realicen evaluaciones complementarias de eficacia y seguridad en la especie objetivo, además de complementar con estudios de eficacia comparativa contra otros fármacos como IBP's, inhibidores H₂ y protectores de la mucosa gástrica. Esta formulación permite la estabilidad de los derivados del ozono (aldehídos, ozónidos y peróxidos), tal como en los aceites líquidos ozonizados con la ventaja de administrar un menor volumen de producto final y también la posibilidad de combinar con otros ingredientes.

8. REFERENCIAS

1. Sciorsci R, Lillo E, Occhiogrosso L, Rizzo A. Ozone therapy in veterinary medicine: A review. *Res vet sci.* 2020;130(2020):240–6.
2. Oyama T. Chemical and Catalytic Properties of Ozone. *Catal Rev.* 2000;42(3):279–322.
3. Ltc C. MarvinSketch. 2020. p. 20.
4. Di Paolo N, Bocci V, Gaggiotti E. Ozone Therapy. *Int J Artif Organs.* 2004;21(3):168–75.
5. Schwartz Tapia A, Martínez-Sánchez G. La Ozonoterapia y su fundamentación científica. *Rev.esp.ozonoter.* 2012;2(1):163–98.
6. Schwartz Tapia A. Aspectos generales y fisicoquímicos del ozono. In: Schwartz Tapia A, editor. *Manual de ozonoterapia clínica.* 1a ed. Madrid: Medizeus; 2017. p. 1–17.
7. Wallington T, Seinfeld J, Barker J. 100 years of progress in gas-phase atmospheric chemistry reaserch. *Meterorol Monogr.* 2019;9(1i):101–52.
8. World Federation of Ozone Therapy Scientific Advisory Committee. *WFOT's Review on Evidence Based Ozone Therapy.* 1st ed. WFOT, editor. 2015.
9. Martínez-Sánchez G, Re L, Pérez-Davison G, Howart Delaporte R. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. *Rev esp ozonoter.* 2012;2(1):121–39.
10. Zamora Z, González R, Guanche D, Merino N, Menéndez S, Hernández F. Ozonized sunflower oil reduces oxidative damage induced by indomethacin in rat gastric mucosa. *Inflamm res.* 2008;57(11):39–43.
11. Breitzig M, Bhimineni C, Lockey R, Kolliputi N. 4-Hydroxy-2-nonenal: a

- critical target in oxidative stress? *Am J physiol Cell Physiol*. 2016;311(4):C573–C543.
12. Shi Y, Carroll K. Activity-Based Sensing for Site-Specific Proteomic Analysis of Cysteine Oxidation. *Acc Chem Res*. 2020AD;53(1):20–31.
 13. Albakova Z, Armeev G, Kanevskiy L, Kovalenko E, Sapozhnikov A. HSP70 Multi-Functionality in Cancer. *Cells*. 2020;9(3):587.
 14. Ogborne R, Rushworth S, O'Connell M. Haemoxygenase-1: a target for dietary antioxidants. *Biochem Soc Trans*. 2004;32(6):1003–5.
 15. Lima De Souza A, Ribeiro Colares R, Lima de Souza C. The main uses of ozone therapy in diseases of large animals: A review. *Res Vet Sci*. 2021;136(2021):51–6.
 16. Delgado-Roche L, Riera-Romo M, Mesta F, Hernandez-Matos Y, M BJ, Martínez-Sánchez G. Medical ozone promotes Nrf2 phosphorylation reducing oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in multiple sclerosis patients. *Eur J Pharmacol*. 2017;15(811):148–54.
 17. Borrelli E. Mechanism of action of oxygen ozone therapy in the treatment of disc herniation and low back pain. *Acta Neurochir Suppl*. 2011;108:123–5.
 18. Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Oxygen/ozone as a medical gas mixture. A critical evaluation of the various methods clarifies positive and negative aspects. *Med Gas Res*. 2011;1(6).
 19. Smith N, Wilson A, Gandhi J, Vatsia S, Sardar A. Ozone therapy: An overview of pharmacodynamics, current research and clinical utility. *Med Gas Res*. 2017;7(3):212–9.
 20. Xiao W, Tang H, Wu M, Liao Y, Li K, Li L, *et al*. Ozone oil promotes

- wound healing by increasing the migration of fibroblasts via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway. *Biosci Rep.* 2017;37(6).
21. Soares C, Morais T, Araújo R, Meyer P, Oliveira E, Silva R, *et al.* Effects of subcutaneous injection of ozone during wound healing in rats. *Growth Factors.* 2019;37(1–2):95–103.
 22. Penn J, Grobbelaar A, Rolfe K. The role of the TGF- β family in wound healing, burns and scarring: a review. *Int J Burn Trauma.* 2012;2:18–28.
 23. Fernández O, Ajamieh H, Berlanga J, Menéndez S, Viebahn-Hánsler R, Re L, *et al.* Ozone oxidative preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in a rat model of liver ischemia/ reperfusion. *Transpl Int.* 2007;21:39–48.
 24. Ogata A, Naghata H. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. *J Vet Med Sci.* 2000;62:681–6.
 25. Zobel R, Tkalcic S, Stokovic I, Pipal I, Buic V. Efficacy of ozone as a novel treatment option for urovagina in dairy cows. *Reprod Domest Anim.* 2011;47:293–8.
 26. Ansari M, Dar K, Tantra H, Bjat M, Dar S, Naikoo M. Efficacy of different therapeutic regimens for acute foot rot in adult sheep. *J Adv Vet Anim Res.* 2014;1(3):114–8.
 27. Shinozuka Y, Uematsu K, Takagi M, Taura Y. Comparison of the amounts of endotoxin released from *Escherichia coli* after exposure to antibiotics and ozone: an in vitro evaluation. *J Vet Med Sci.* 2008;70:419–22.
 28. Vigliani A, Boniperti E, Scudo E. Paravertebral O₂-O₃ treatment in mechanical lumbar pain in riding horses. *Riv Ital Ossigeno-Ozonoterapia.* 2005;4:64–9.

29. Spadea L, Tonti E, Spaterna A, Marchegiani A. Use of ozone-based eye drops: a series of cases in veterinary and human spontaneous ocular pathologies. *Case Rep Ophthalmol*. 2018;9:287–98.
30. Han H, Kim J, Jang H, Lee B, Yoon J, Jang S, *et al*. Fluoroscopic-guided intradiscal oxygen-ozone injection therapy for thoracolumbar intervertebral disc herniations in dogs. *In Vivo (Brooklyn)*. 2007;21:609–14.
31. Silveira A, Lopes H, Siqueira Jr J, Macedo S, Consolaro A. Periradicular repair after two-visit endodontic treatment using two different intracanal medications compared to single visit endodontic treatment. *Braz Dent J*. 2007;18:299–304.
32. Colín González A. Manual de uso de la ozonoterapia en perros. Universidad Autónoma del Estado de México; 2016.
33. Rodekahr S. Ozone-oxygen injections into acupuncture points. A new approach. *Rev esp ozonoter*. 2012;2:42–3.
34. Zamora Z, González R, Guanche D, Merino M, Hernández F, Menéndez S. Antioxidant mechanism is involved in the gastroprotective effects of ozonized sunflower oil in ethanol-induced ulcers in rats. *Mediat Inflamm*. 2007;2007(1).
35. Nelson R, Couto C. *Small animal internal medicine*. 5th ed. Elsevier, editor. Missouri; 2014.
36. Boeris M, Toso R. Comparación de la acción antiinflamatoria y analgésica del polvo de *Salpichroa organifolia* con AINES utilizados en medicina veterinaria. *Rev soc quim Perú*. 2009;75(3):310–9.
37. Schawb J, Schluesener H, Meyermann R, Serhan C. COX-3 the enzyme

- and the concept: steps towards highly specialized pathways and precision therapeutics? *Prostaglandins Leukot.* 2003;69:339–43.
38. Sumano H, Ocampo L. *Farmacología veterinaria*. 3ra ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2006.
 39. Castro Aguilera L, De Argila De Prados C, Albillos Martínez A. Consideraciones prácticas en el manejo de los inhibidores de la bomba de protones. *Rev Esp Enferm Dig Madrid.* 2016;108(3):145–53.
 40. Plumb D. *Veterinary Drug Handbook*. 7ma ed. Wisconsin: PharmaVet Inc; 2011.
 41. Cardona-Ospina J, Medina-Morales D, Rodríguez-Morales A, Machado-Alba J. Efectos adversos a largo plazo de los inhibidores de la bomba de protones. Perspectiva desde la medicina basada en la evidencia. *Rev Col Gastroenterol Bogotá.* 2016;31(4).
 42. Ryan M, Barker C, Hawcutt D. Ranitidine in short supply: why now, and where next? *Arch Dis Child.* 2020;105(4):382–3.
 43. Del Valle A. Fármacos antiulcerosos. *Actual en Farmacol y Ter.* 2012;10(3):180–93.
 44. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. NOM-062-ZOO-1999. Ciudad de México; 2001.
 45. Tordera M, Poveda J. Investigación e investigación con medicamentos. In: *Ensayos clínicos en España Ética, normativa, metodología y aspectos prácticos*. 1a ed. Madrid: Astellas Pharma S.A.; 2010. p. 11–31.
 46. Hrapkiewicz K, Colby L, Denison P. Rabbits. In: *Clinical Laboratory Animal Medicine: An Introduction*. 4ta ed. Oxford: John Wiley & Sons Inc; 2013. p. 249–97.

47. O’Kell A, Gallagher A, Cooke K. Gastroduodenal ulceration in dogs with liver disease. *J Vet Intern Med.* 2022;36(3):986–92.
48. Varga M. *Textbook of rabbit medicine.* 2da ed. Reino Unido: Elsevier; 2014. 111–131 p.
49. Masuy I, Oudenhove L Van, Tack J. Review article: treatment options for functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2019;49(9):1134–72.
50. Jenkins C, DeNovo R, Patton C, Bright R, Rohrbach B. Comparison of effects of cimetidine and omeprazole on mechanically created gastric ulceration and on aspirin-induced gastritis in dogs. *Am J Vet Res.* 1991;52(5):658–61.
51. Spontag S, Hirschowitz B, Holt S, Robinson M, Behar J, Berenson M, *et al.* Two doses of omeprazole versus placebo in symptomatic erosive esophagitis: the U.S. Multicenter Study. *Gastroenterology.* 1992;102(1):109–18.
52. Anzolin AP, Lucca da Silveira-Kaross NL, Dallazem Bertol C. Ozonated oil in wound healing: what has already been proven? *Med Gas Res.* 2020;10(1):54–9.
53. De Almeida N, Beatriz A, Micheletti A, Arruda E. Ozonized vegetable oils and therapeutic properties: A review. *Orbital.* 2012;4(4):313–26.
54. Schwartz Tapia A, Martínez-Sánchez G, Sabah F, Alvarado Guémez F, Bazzano Mastrelli N, Bikina O, *et al.* ISCO3/QAU/01/03. Madrid Declaration on Ozone Therapy. 2da ed. Madrid: ISCO3; 2015. 50 p.
55. Remigio Montero A, González Carvajal Y, Zamora Rodríguez Z, Fonseca López G, Molerio Mirabal J. Evaluación genotóxica del OLEOZON mediante los ensayos de micronúcleos en médula ósea y sangre de

- ratón. RCCB. 3221;29(3):200–2.
56. Travagli V, Zanardi I, Silviotti A, Bocci V. A physicochemical investigation on the effects of ozone on blood. *Int J Biol Macromol.* 2007;41(5):504–5011.
 57. Wallace JL, Syer S, Denou E, De Palma G, Vong L, McKnight W, *et al.* Proton pump inhibitors exacerbate NSAID-induced small intestinal injury by inducing dysbiosis. *Gastroenterology.* 2011;141(4):1314–22.
 58. Çolakoglu E, Börkür K, Haydardedeoglu AE, Alihosseini H, Senel OO, Yumusak N, *et al.* Correlation between Endoscopic and Histopathological Findings in Dogs with Chronic Gastritis. *J Vet Res.* 2017;61(3):351–5.