



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

EVALUACIÓN DEL EFECTO TERAPÉUTICO DE ACEITE DE  
GIRASOL OZONIZADO EN GEL SOBRE LA MUCOSA  
GÁSTRICA EN EQUINOS CON SÍNDROME DE ÚLCERA  
GÁSTRICA.

TESIS

Que para obtener el título de:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

ANDREA HERNÁNDEZ LEAL

Asesores:

MVZ. Itzcoatl Felipe Aquino Díaz

MVZ. León Ramírez López



Ciudad universitaria, Cd, Mx

2023

## **DEDICATORIA**

A mis papás Jorge y Erika por siempre creer en mí y apoyarme durante toda mi vida a lograr mis metas y sueños, sin ellos no sería quien soy y no estaría donde estoy, me han dado la fortaleza para afrontar cualquier problema que se me presente, y nunca me han dejado sola, y yo nunca los dejare solos a ellos, son mi fortaleza y los admiro mucho.

A mi hermana Abigail por siempre ser mi compañera incondicional, por siempre apoyarme emocionalmente.

A mi familia por impulsarme a salir adelante.

A Héctor Langruen por apoyarme en cada uno de mis pasos, aconsejarme y nunca dejarme sola.

Al doctor Sergio Hayen Valles, por enseñarme tanto de la vida profesional y apoyarme a concluir mi proyecto.

A Edith Lara por estar siempre a mi lado y ser mi mejor amiga.

A todos los doctores que me han enseñado sobre el mundo de los caballos.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al departamento de fisiología y farmacología veterinaria de la Facultad de Medicina veterinaria y zootecnia de la UNAM.

Al jefe de departamento.

A mis asesores Itzcoatl Felipe Aquino Díaz, León Ramírez López que sin su apoyo no se habría concretado el proyecto.

A Armando Uribe por apoyarme en los inicios de la tesis.

A todos los caballos que fueron parte del estudio, gracias a ellos pudimos evaluar un producto nuevo.

A laboratorio Omanu labs por facilitar el producto y los recursos económicos necesarios.

Al equipo de Sayavedra por cuidar bien de los caballos.

## **CONTENIDO**

<b>1.INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1    ANATOMÍA GÁSTRICA DEL EQUINO.....	1
1.2    ANATOMÍA TISULAR.....	3
1.3    FISIOLOGÍA GÁSTRICA.....	4
1.4    SÍNDROME DE ÚLCERA GÁSTRICA.....	9
1.5    TRATAMIENTO.....	14
1.6    GENERALIDADES DEL OZONO.....	16
1.7    OZONOTERAPIA .....	17
1.8    ACEITES VEGETALES OZONIZADOS.....	22
1.9    ALTERNATIVAS DE APLICACIÓN PARA EL ACEITE OZONIZADO.....	24
<b>2.HIPÓTESIS.....</b>	<b>25</b>
<b>3.OBJETIVO.....</b>	<b>25</b>
<b>4.MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
4.1 ANIMALES.....	25
4.2 TRATAMIENTO.....	25
4.3 DIAGNÓSTICO DE INTEGRIDAD DE LA MUCOSA GÁSTRICA.....	27
4.4 EVALUACIÓN DE SEGURIDAD.....	29
4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO. ....	30
<b>5.RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
5.1 EVALUACIÓN LESIONES GÁSTRICAS .....	30
5.2 SEGURIDAD .....	39

<b>6. DISCUSIÓN .....</b>	<b>43</b>
<b>7. CONCUSIÓN .....</b>	<b>50</b>
<b>8. REFERENCIAS .....</b>	<b>51</b>

## **Índice de cuadros**

**Cuadro 1:** Sistema de clasificación del consejo de úlceras gástricas en equinos. (Andrew F et al., 1999)

**Cuadro 2:** Sistema de clasificación por Numero/severidad (Macallister et al., 1997).

**Cuadro 3:** Sistema internacional de clasificación por asignación de puntajes de las úlceras gástricas en equinos, adaptada de Bertone, 2000. (Bertone, 2000)

**Cuadro 4:** Imágenes y calificaciones asignadas en los dos días de evaluación de los caballos del grupo GPO.

**Cuadro 5:** Imágenes y calificaciones asignadas en los dos días de evaluación de los caballos del grupo GC.

**Cuadro 6:** Mediana obtenida al inicio y al final de los diferentes tratamientos administrados en los diferentes grupos.

**Cuadro 7:** Promedio y desviación estándar (DE) de los analitos evaluados en la bioquímica sanguínea día 0 y 14

**Cuadro 8:** Promedio y desviación estándar (DE) de los analitos evaluados en el hemograma día 0 y día 14.

## **Índice de figuras**

**Figura 1:** Estómago equino vista derecha. Se observa la disposición del cardias, fondo, cuerpo y píloro. Adaptado de (White Nathaniel A. et al., 2009).

**Figura 2:** Vista izquierda de los órganos abdominales de equino. Adaptado de White et all 2009 (White Nathaniel A. et al., 2009)

**Figura 3:** Vista derecha de los órganos abdominales del equino. Adaptado de White et all 2009 (White Nathaniel A. et al., 2009)

**Figura 4:** Corte histológico de la región glandular y a- glandular del estómago equino y el margo plicatus. (White Nathaniel A. et al., 2009).

**Figura 5:** Glándula del cuerpo estomacal adaptado de Bradley G., 2014. (Bradley G., 2014).

**Figura 6:** . Diagrama de los distintos sistemas de control de la función del tracto gastrointestinal. Adaptado de Bradley G. 2014 (Bradley G., 2014).

**Figura 7:** Úlceras grado 5 en la región A- glandular de la mucosa gástrica del equino. (*Luthersson & Nadeau, 2013*)

**Figura 8:** Representación esquemática del ciclo celular. Adaptado de Trigo , 2017 (Trigo & Valero, 2017)

**Figura 9:** Molécula de ozono (Marvin Sketch, 2022).

**Figura 10:** Diagrama de un generador de ozono por descarga eléctrica.(Menéndez Silvia et al., 2008)

**Figura 11:** Efectos del ozono a través de su reacción con moléculas mediadoras. (Bocci V., 2006).

**Figura 12:** Acciones biológicas del ozono en el organismo. (Menéndez Silvia et al., 2008)

**Figura 13:** Cálculo de tamaño de muestra por grupo para obtener una potencia superior al 90% de acuerdo con el modelo estadístico de este estudio (rango con signo de Wilcoxon) (Gpower, 2023)

## **RESUMEN**

**Objetivo:** Evaluación del efecto terapéutico del aceite de girasol ozonizado en gel sobre la mucosa gástrica de caballos con síndrome de úlcera gástrica mediante observación macroscópica.

**Metodología:** El estudio se realizó en la ciudad de México y el estado de México. Se utilizaron 18 equinos de las razas Warm blood y pura sangre inglés (PSI), con un peso aproximado de 450 - 550 kg, se evaluó un gel de administración oral a partir aceite de girasol, el cuál se elaboró con 40% de aceite de girasol ozonizado al 9 %, además se adicionó un saborizante dulce, se comparó con la eficacia del omeprazol en pasta y un preparado de aceite de girasol por 14 días, para evaluar su seguridad se realizaron estudios de bioquímica sanguínea y hemograma antes y después del tratamiento.

**Resultados:** Los caballos a los que se les administró aceite de girasol ozonizado en gel 0.02 ml/kg BID, para el tratamiento de úlcera gástrica tuvieron una respuesta favorable disminuyendo hasta dos grados de lesión, comparada con los que tuvieron tratamiento de omeprazol y placebo.

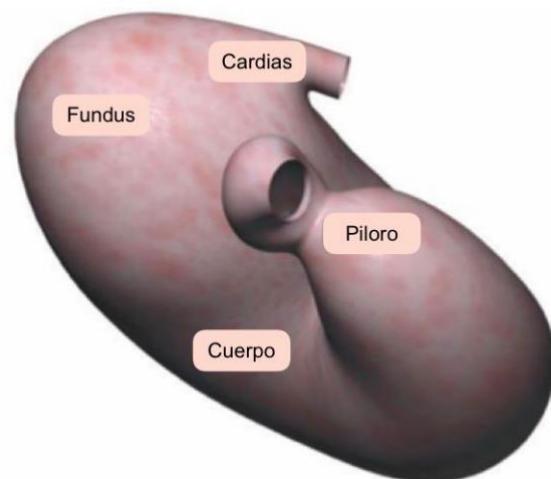
**Conclusión:** En este estudio se demostró que el tratamiento con un gel de aceite de girasol ozonizado de nueva formulación puede tener un efecto terapéutico sobre la mucosa de los equinos con síndrome de úlcera gástrica, tal como se ha reportado en otros estudios con el uso de ozono y demostrando una mejor eficacia en comparación con el tratamiento convencional de omeprazol en el mismo tiempo de tratamiento.

## 1. INTRODUCCIÓN

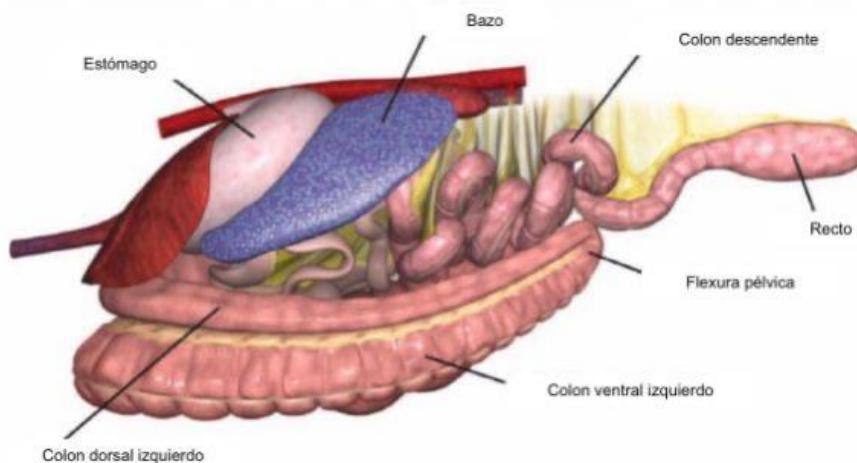
### 1.1 Anatomía gástrica del equino.

El estómago del equino es pequeño con una capacidad aproximada de 8 a 16 litros, lo podemos encontrar del lado izquierdo dorso craneal al abdomen, caudal al diafragma, está dividido anatómicamente en cuatro regiones comprendidas por el cardias, el fondo del estómago, el cuerpo y la región pilórica (**Figura 1**), tiene una superficie parietal adyacente al diafragma y el lóbulo izquierdo del hígado, y una superficie visceral caudoventral cercana al yeyuno, páncreas, colon ascendente y colon descendente (**Figura 2 – 3**).

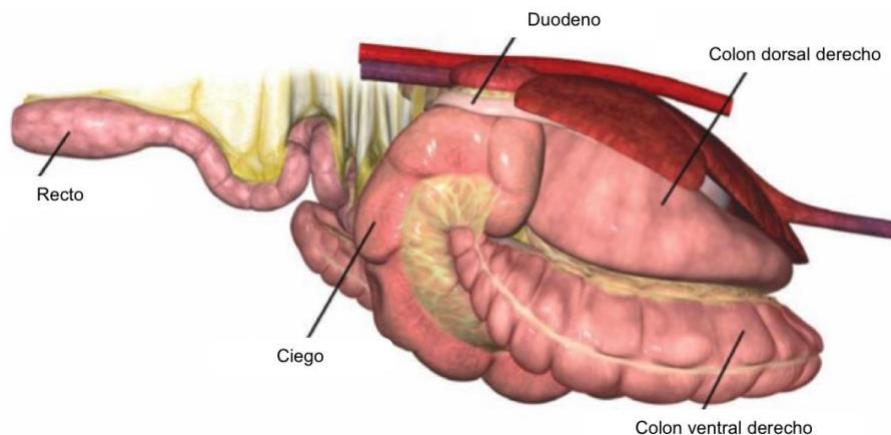
Está unido en cavidad abdominal por ligamentos que son pliegues del peritoneo.



**Figura 1.** Estómago equino vista derecha. Se observa la disposición del cardias, fondo, cuerpo y píloro. Adaptado de White *et all*, 2009 (White Nathaniel A. et al., 2009).



**Figura 2.** Vista Izquierda de los órganos abdominales de equino. Adaptado de White et all, 2009 (White Nathaniel A. et al., 2009).



**Figura 3.** Vista derecha de los órganos abdominales del equino. Adaptado de White et all, 2009 (White Nathaniel A. et al., 2009).

Por la disposición del estómago, el cardias llamado así por su cercanía al corazón es la unión del estómago con el esófago, se encuentra cercano al píloro que es la unión del estómago con el duodeno este es una válvula ubicada en el plano medio de lado derecho, estas dos están separados por la curvatura menor y curvatura mayor. Seguido del cardias encontramos una dilatación del estómago que se conoce como el fondo, tiene una bolsa ciega (*saccus cecu*), el cuerpo comprende la porción más grande del estómago está definida por la

curvatura mayor, que va desde el fondo al píloro unida al diafragma por el ligamento gastrofrénico. microscópicamente el estómago tiene dos tipos de epitelio en su mucosa, la región glandular y la a-glandular (**Figura 4**).



**Figura 4** Corte histológico de la región glandular y a-glandular del estómago equino y el margo plicatus. (White Nathaniel A. et al., 2009).

## 1.2 Anatomía tisular.

Histológicamente, podemos dividir la mucosa gástrica en dos tipos, la mucosa glandular y la a-glandular esta última está conformada por un epitelio estratificado escamoso no glandular.

El estómago está conformado por cuatro capas principales, mucosa, submucosa, muscular de la mucosa, comprendida por una capa interna gruesa circular, una fina longitudinal y una capa serosa. A la vez está conformada por tres capas celulares, la más externa está formada por estrato córneo que es un epitelio cilíndrico simple, tiene la función de barrera, lo cual impide la difusión de electrolitos fuertes como el sodio y ácido clorhídrico, el estrato transicional y la más profunda es el estrato espinoso el cual tiene la función de transporte transicional de sodio ( $\text{Na}^+$ ) (Andrews F et al., 2005).

La zona glandular está dividida en tres capas celulares, mucosa del cardias, mucosa parietal y mucosa pilórica, microscópicamente no se diferencian.

La mucosa gástrica cuenta con invaginaciones conocidas como criptas gástricas (**Figura 5**), las cuales están recubiertas por células mucosas superficiales las cuales secretan moco denso.

### 1.3 Fisiología gástrica.

La saliva es producida por el estímulo masticatorio, el 80% es producida por la glándula parótida, tiene un pH de 7.5 lo cual lo hace alcalino, rico en  $\text{HCO}_3$ , el cuál actúa como buffer gástrico. El estómago cuenta con dos tipos de digestión, en la región a- glandular se da la digestión fermentativa, por acción de lactobacilos, los cuales producen ácido láctico, y acción de estreptococos que producen ácidos grasos volátiles. La digestión enzimática se da en la región glandular del estómago la constante producción de ácido clorhídrico por parte de las células parietales, ubicadas en la mucosa parietal en el cuello de la glándula, en esta misma porción encontramos células mucosas que secretan un moco diluido, poco viscoso, estas células son progenitoras de la mucosa gástrica. El ácido clorhídrico provoca la desnaturización de las proteínas por medio de una hidrólisis química (Jose et al., 2012; Jubb et al., 2016; Trigo & Valero, 2017).

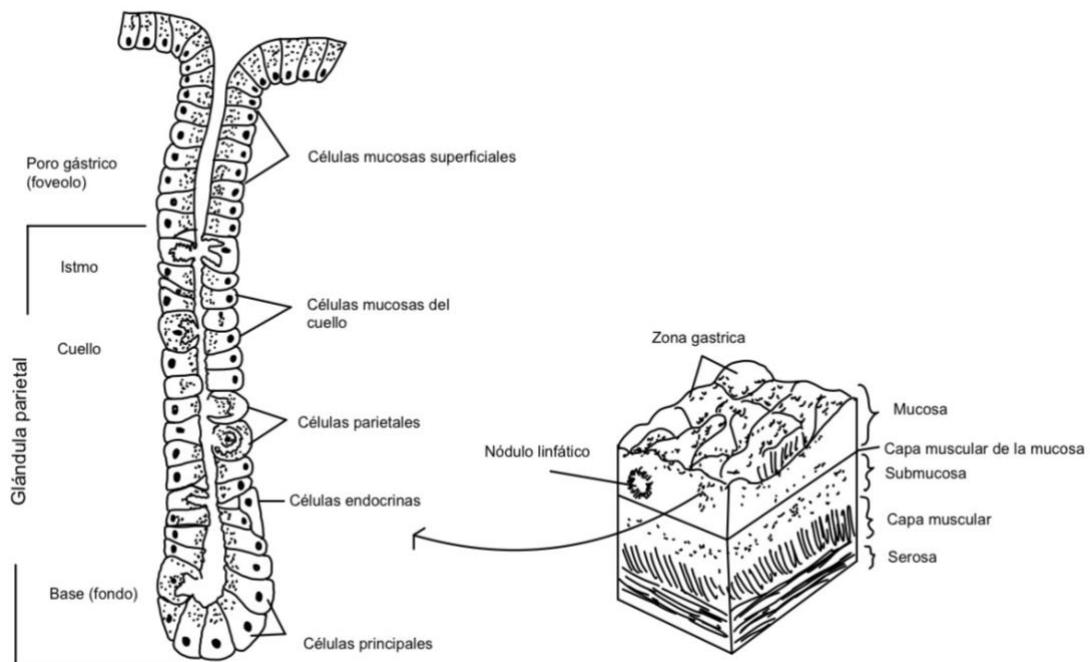
En la base de la glándula existen células principales, las cuales están encargadas de la secreción de pepsinógeno, una proenzima inactivada, también conocidas como zimógenos, el cual es un precursor de la enzima digestiva pepsina, esta es la encargada de la digestión de proteínas. La región de la mucosa del cardias y del píloro son similares a la región del área parietal. La zona del cardias cuenta con glándulas que secretan un moco

alcalino, tiene la función de protección de la mucosa esofágica. Las glándulas pilóricas están conformadas por células G, encargadas de la producción de gastrina. La secreción de HCl esta dado por las células parietales las cuales secretan iones hidrógeno ( $H^+$ ) como el ion cloro ( $Cl^-$ ), a través de la enzima  $H^+$ ,  $K^+$ , ATPasa (adenosín – trifosfatasa) también conocida como “bomba de protones”, el cual tiene la función de intercambiar iones potasio ( $K^+$ ) por  $H^+$ , del interior de la célula a la luz luminal. Los iones hidrógeno a su vez interactúan con el ácido carbónico intracelular ( $H_2CO_3$ ), provocando que un ion bicarbonato ( $HCO_3^-$ ) permanezca en el interior de la célula por cada  $H^+$  que se secreta a la luz del órgano, el bicarbonato es secretado por las glándulas fúndicas específicamente por las células accesorias. La principal estimulación de la secreción gástrica es la anticipación de la ingestión y presencia de alimento no digerido en el estómago, un estímulo parasimpático vagal, estimulando a las células del sistema nervioso entérico (SNE), este libera acetil colina (ACh) la cuál estimula a las células G y células parietales ya que tienen receptores afines, estas responden secretando gastrina y HCl, las cuales a su vez aumentan la velocidad de secreción de HCl por las células parietales, a este estímulo se le conoce como fase cefálica de la secreción gástrica. Al entrar en contacto el alimento con la luz estomacal se presenta una distensión, y se inicia la segunda fase, conocida como fase gástrica, existe una estimulación aferente del sistema nervioso entérico SNE, el alimento eleva el pH estomacal, estimulando la secreción de HCl. La histamina es secretada por los mastocitos y células similares a las enterocromafines, ante un estímulo de gastrina y ACh, actúa en las células parietales ya que estas cuentan con receptores provocando una amplificación

sobre la secreción de HCl al disminuir el pH gástrico la secreción de gastrina disminuye y por consiguiente la secreción de HCl se reduce (Ramón et al., 2013)(Klein, 2014) (Bradley G., 2014).

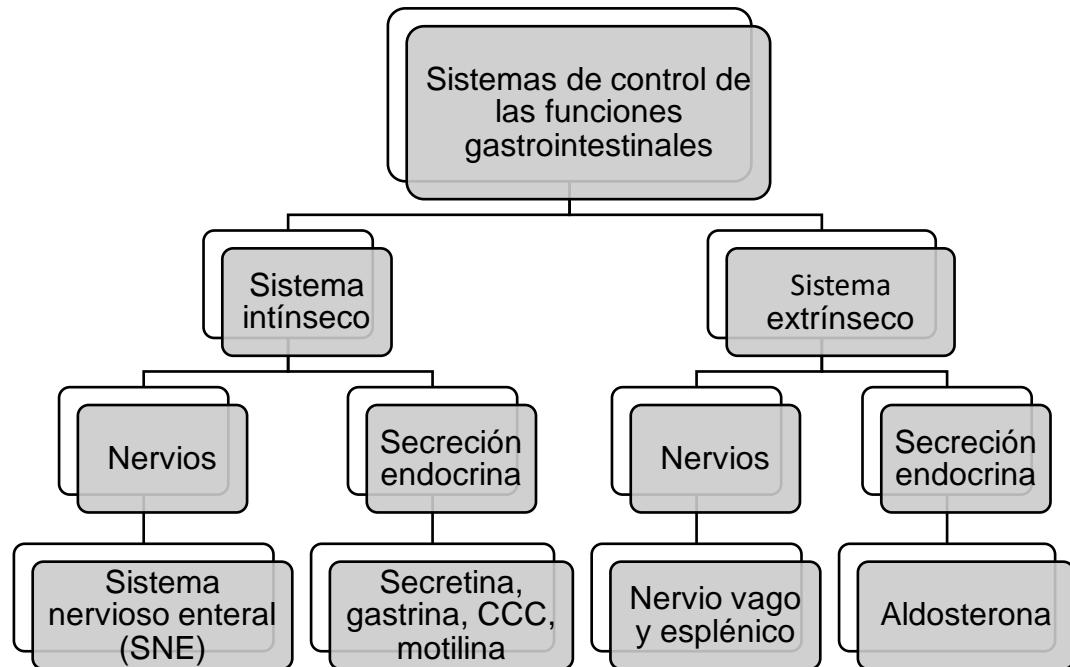
La región a- glandular es similar al esófago, como su nombre lo indica no contiene glándulas lo que lo hace susceptible a alteraciones en la mucosa (Andrews F., 2009)(Bell et al., 2007).

La unión de la región glandular con la a-glandular o escamosa recibe el nombre de *margo plicatus*, microscópicamente la podemos observar como una transición abrupta de un epitelio no queratinizado estratificado escamoso a un epitelio simple (White Nathaniel A. et al., 2009).



**Figura 5.** Glándula del cuerpo estomacal adaptado de Bradley G., 2014 (Bradley G., 2014).

Existen dos sistemas de control de las funciones gastrointestinales, uno son los sistemas intrínsecos y por otro lado el sistema extrínseco ( **Figura 6**).



**Figura 6.** Diagrama de los distintos sistemas de control de la función del tracto GI. Adaptado de Bradley G. 2014 (Bradley G., 2014).

La secretina es una hormona peptídica digestiva secretada por las células S del duodeno y yeyuno, esta estimula la secreción de agua, bicarbonato, moco gástrico y pepsinógeno, tiene un efecto inhibidor de la secreción de ácido gástrico por lo que se puede considerar como un anti-ácido natural (Bradley G., 2014).

Las células G que se encuentran en el píloro, antro y duodeno producen la hormona gastrina en presencia y estímulo de proteínas y la distensión estomacal, aumenta la secreción ácida del estómago produciendo G-17 conocida como gastrina pequeña al unirse a colecistocinina (CCC), tienen una estimulación indirecta de la secreción de histamina por parte de las ECL

las cuales activan los receptores de histamina tipo 2 ( $H_2$ ) de las células parietales (Bradley G., 2014).

El polipéptido inhibidor gástrico (PIG) es secretado por las células K del intestino delgado, ante un aumento de glucosa, su acción favorece el vaciado estomacal, así como inhibe la secreción de ácido gástrico (Bradley G., 2014).

El tracto gastrointestinal está inervado por el nervio vago, las ramas principales que lo inervan son el vago izquierdo y derecho. Tiene un control eferente simpático estimulador, aumenta el flujo sanguíneo digestivo, la motilidad y la secreción glandular del estómago. El nervio esplénico lleva señales patológicas al SNC como lo son una inflamación de la mucosa, cuerpos extraños, dolor de cólico, entre otras, su acción principal es la de inhibición de la motilidad intestinal y aumento de las secreciones glandulares. La aldosterona es la única hormona extrínseca que tiene control en funciones gastrointestinales, es una hormona esteroide secretada por la corteza suprarrenal como respuesta a una disminución del sodio, estimulando una absorción de potasio y agua (Bradley G., 2014).

El moco es la primera barrera de protección para la mucosa gástrica, encontramos una barrera conformada por moco, bicarbonato y fosfolípidos surfactantes, los cuales son secretados por las células epiteliales, estas son estimuladas por la gastrina, secretina, prostaglandinas E2 (PGE2) y agentes colinérgicos. El bicarbonato mantiene el pH neutro de 7. Existe un tipo de protección a la mucosa que es la neuro hormonal, está conformada por el sistema nervioso central que participa en la regulación de los mecanismos de defensa, un estímulo vagal, lo que incrementa la producción de moco y pH

del estómago, el factor liberador corticotrófico (FLC) participa en la respuesta fisiológica gastrointestinal al estrés inhibiendo la motilidad.

Una producción continua de PGE2 Y PGI2 estimulan los mecanismos de defensa inhibiendo la producción de ácido y estimula la producción de moco, bicarbonato y fosfolípidos, aumenta la irrigación y controla la motilidad por lo tanto una disminución en las prostaglandinas aumenta la susceptibilidad de la mucosa a daños ulcerativos (Ramón et al., 2013).

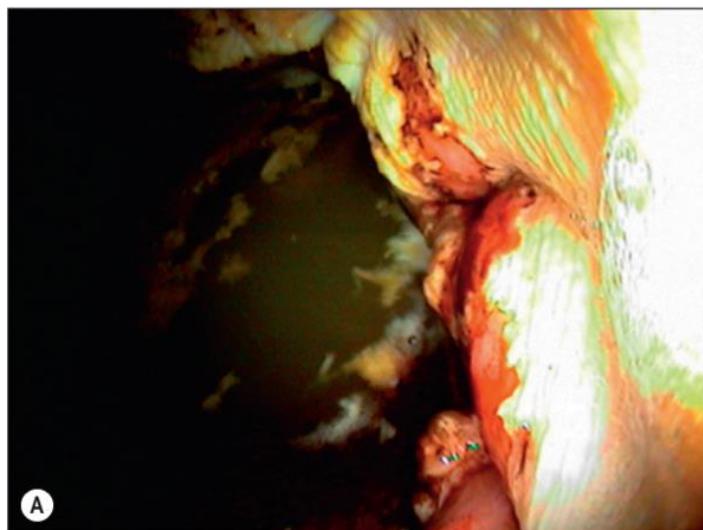
#### 1.4 Síndrome de úlcera gástrica.

El caballo es un herbívoro estricto no rumiante evolucionado para ingerir dietas altas en fibra y bajo en almidón en pequeñas porciones, varias veces al día, en libertad se alimenta aproximadamente por 18 horas al día, La saliva es producida bajo el estímulo masticatorio, esta funge como buffer del ácido gástrico lo cual es un mecanismo de protección de la mucosa (Luthersson & Nadeau, 2013).

Se ha descrito que la prevalencia de esta patología es caballos de carreras es de 90%, mientras que en caballos de competencia es de un 78%, en potros jóvenes de un 58% y caballos de salto es del 60% (Jose et al., 2012).

El síndrome de úlcera gástrica (EGUS) lo podemos encontrar tanto en potros como en caballos adultos, se describe como una pérdida de la continuidad de la mucosa estomacal por un desequilibrio entre los factores de protección gástrica y los factores agresivos. Es multifactorial, y no tiene una signología específica, puede ir desde disminución del apetito, pérdida de peso, cólicos recurrentes, diarreas, bruxismo, algunos caballos afectados pueden permanecer asintomáticos, la encontramos en ambas regiones de la mucosa.

La mucosa a- glandular es la más afectada cuando hablamos de úlcera gástrica, ya que al no producir factores de protección es común que sea afectado por el ácido gástrico (Luthersson & Nadeau, 2013).



**Figura 7** Ulceras grado 5 en la región A- glandular de la mucosa gástrica del equino. (*Luthersson & Nadeau, 2013*)

Los factores de riesgo más comunes son el estrés (liberación de catecolaminas), dietas altas en energía (aumento en la producción de ácidos grasos volátiles), confinamiento en caballerizas, alimentación intermitente, ejercicio intenso (acidosis metabólica no compensada, aumento de la presión intraabdominal), uso de antiinflamatorios no esteroidales por tiempos prolongado (AINES), dietas inadecuadas y parásitos.

Actualmente los caballos domésticos pasan gran parte del día en caballerizas con alimento restringido y con dietas altas en carbohidratos. Una dieta alta en concentrados predispone a una alta concentración de gastrina postpradial, esta a su vez estimula la liberación de ácido gástrico, lo que significa que la dieta puede afectar la secreción gástrica, así mismo los carbohidratos son convertidos por las bacterias en ácidos grasos volátiles (VFAs), los cuales actúan

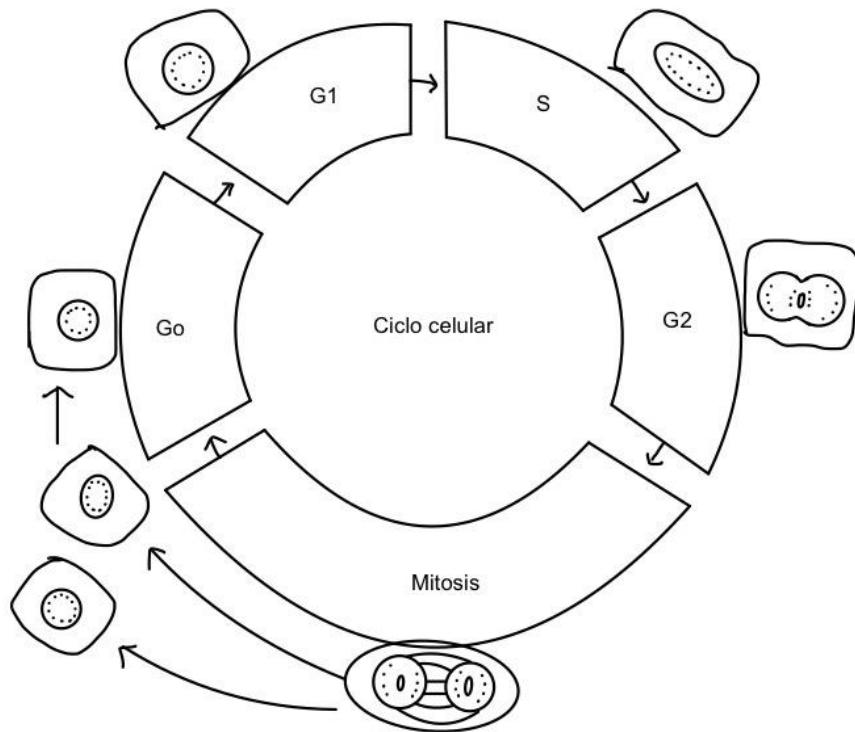
acidificando el pH. En escenarios normales estos VFAs están aumentados durante 2-6 horas postpradial, y disminuyen al momento que el alimento sale del estómago, esto se compensa con una dieta alta en proteína (Bell et al., 2007).

El ejercicio excesivo disminuye la motilidad gástrica, aumenta la presión intragástrica, provocando que el ácido gástrico esté en contacto con la porción a-glandular de la mucosa, esto como consecuencia de la contracción de los músculos abdominales, y por el incremento en el esfuerzo respiratorio, se ha demostrado que existe un descenso en el pH gástrico por este estímulo (Lorenzo Figueroa Mireia et al., 2002).

En caballos adultos de alto rendimiento, el estrés es un factor importante para considerar cuando hablamos de úlcera gástrica, existe una liberación endógena de cortisol inducida por estrés, aumentando el riesgo de desarrollar ulceras gástricas, ya que hay una disminución en la capacidad de regeneración de la mucosa (Malmkvist et al., 2012).

El uso prolongado de AINES como lo son fenilbutazona, flunixin de meglumine han demostrado que predispone las úlceras gástricas principalmente en la porción glandular de la mucosa, esto por el efecto inhibidor de prostaglandinas, lo que disminuye el flujo sanguíneo, una disminución de moco, e incrementa la secreción de ácido clorhídrico (Luthersson & Nadeau, 2013). La mayoría de las úlceras gástricas las encontramos en la porción a-glandular cercanas al *margo plicatus* (Bell et al., 2007).

La mucosa gastrointestinal tiene una capacidad de regeneración muy buena, ya que están conformadas por células lábiles las cuales están en constante estado de división, esto quiere decir que un 5% de sus células están en constante mitosis (**Figura 8**).



**Figura 8:** Representación esquemática del ciclo celular. G1:Preparación; S: Replicación del ADN, G2: Preparación de mitosis; Mitosis: división celular; Go: Descanso celular. Adaptado de Trigo , 2017 (*Trigo & Valero, 2017*).

Al existir una lesión en la mucosa gástrica se genera una inflamación lo cual ayuda a que haya una eliminación de restos celulares, seguido por una reparación de los tejidos donde están involucrados mediadores químicos como factores de crecimiento celular y mensajeros químicos. Los factores de crecimiento promueven una regeneración de la mucosa, dentro de los más importantes tenemos al factor de crecimiento epidermal (EGF), factor de crecimiento transformante alfa y beta, los cuales participan en la reparación de los tejidos, al estimular la mitosis celular y migración de fibroblastos al lugar de la lesión. Las plaquetas liberan factor plaquetario de crecimiento (PDGF) promoviendo la proliferación y migración de fibroblastos y monocitos, así mismo

es quimiotáctico para los leucocitos, el factor de crecimiento de fibroblastos regula la proliferación del tejido conectivo. La lámina propia de la mucosa gástrica está constituida por vasos sanguíneos, matriz extracelular de colágeno tipo I (68%), colágeno tipo III (20%), V (12%) y elastina (Trigo & Valero, 2017). Las reacciones inflamatorias son la consecuencia de la producción y liberación de citocinas. La secreción de moco y fibrina crean una barrera de protección sobre la lesión, aumenta el flujo sanguíneo lo cual ayuda diluyendo y eliminando el ácido clorhídrico y sustancias nocivas que se difunden en la mucosa (Jubb et al., 2016).

Al tener una signología inespecífica la forma de diagnosticar a los caballos que presentan úlcera gástrica es mediante una gastroscopía, la cual se realiza con un endoscopio de 3 metros de largo, con esta herramienta se evalúa la mucosa estomacal en busca de lesiones (Abutarbush & Carmalt, 2008).

Podemos clasificar los grados de úlcera gástrica dependiendo diferentes autores. (**Cuadro 1, 2**)

**Cuadro 1.** Sistema de clasificación del consejo de úlceras gástricas en equinos (Andrew F et al., 1999).

Grado	Apariencia de la mucosa gástrica
0	Epitelio intacto.
1	Mucosa intacta, evidencia de hiperqueratosis o hiperemia.
2	Lesiones pequeñas y multifocales
3	Lesiones grandes, únicas multifocales, o lesiones en superficies extensivas.
4	Lesiones extensivas con áreas de ulceraciones profundas

**Cuadro 2.** Sistema de clasificación por Número/severidad (Macallister et al., 1997).

Grado	Número de lesiones	Severidad
0	Ninguna.	Normal.
1	1-2 lesiones localizadas.	Aparentemente superficial.
2	3-5 lesiones localizadas.	Lesiones profundas (mucosa).
3	6-10 lesiones.	Múltiples lesiones de severidades variables
4	>10 lesiones	Igual a grado dos con apariencia activa.
5	n/a	Igual a grado 4 con hemorragia activa.

### 1.5 Tratamiento.

Hay diversos tratamientos descritos para el síndrome de úlcera gástrica todas encaminadas a proporcionar un ambiente gástrico favorable para la regeneración celular y curación de las úlceras gástricas, la mayoría se enfoca en la disminución de secreción de ácido gástrico usando antagonistas de los receptores de H2 en las células parietales (ranitidina, cimetidina) , e inhibidores de la bomba de protones que tienen un efecto de inhibir la producción de ácido gástrico, bloqueando irreversiblemente la enzima adenosín triptófano hidrógeno de potasio, hasta que la enzima es nuevamente generada (omeprazol), otros tratamientos utilizan prostaglandinas sintéticas, antiácidos (hidróxido de magnesio) o protectores de la mucosa, estos tratamientos farmacológicos se fundamentan en la reducción de la acidez gástrica manteniendo un pH gástrico

mayor a 4, proteger la mucosa con agentes resistentes al ácido y la estimulación intrínseca de la mucosa al favorecer la producción de prostaglandinas(Bell et al., 2007) (Cole Cynthia et al., 2015)(Didier Ruiz et al., 2012a).

El hidróxido de magnesio y el hidróxido de aluminio actúan aumentando el pH superior a 4, así mismo neutralizan el ácido gástrico provocando en el paciente con úlcera gástrica un alivio de los síntomas por un periodo de tiempo corto, el sucralfato es un protector de la mucosa gástrica, promoviendo la producción de moco, así como la síntesis de prostaglandina E y aumenta el factor de crecimiento epitelial (Didier Ruiz et al., 2012a).

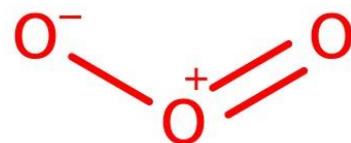
La ranitidina es un bloqueador de receptores de histamina H<sub>2</sub>, la histamina estimula la secreción de ácido clorhídrico por parte de las células parietales, en caballos se ha reportado que la eficacia de este fármaco no es tan favorable, pero tiene un efecto sobre el pH que lo mantiene superior a 6 (Didier Ruiz et al., 2012a).

El omeprazol en pasta (dosis 4mg/kg) es tiempo y dosis dependiente, esto depende del grado de lesión que se presenta de la úlcera gástrica, el tratamiento puede ir desde 7 días incluso superar el mes de tratamiento, por lo general el tratamiento incluye también el uso de ranitidina, o cimetidina, es un producto un tanto caro (Andrews et al., 1999), al inhibir la bomba de protones por lo que bloquea a su vez la producción de ácido gástrico independientemente si existe o no un estímulo; Su mecanismo de acción es el de bloquear la H<sup>+</sup> en las células parietales, uniéndose irreversiblemente a la bomba de protones. Por difusión pasiva atraviesa la membrana de las células parietales llegando a sus canalículos secretores, al actuar con un pH <2 esté reacciona formado una molécula llamada sulfenamina la cuál tiene carga positiva, haciéndola imposible

atravesar la membrana celular, esta molécula es la responsable de inhibir la bomba de protones que a su vez disminuye la producción de ácido gástrico que como ya se mencionó ayuda a que la mucosa gástrica no se ulceré con facilidad. (Didier Ruiz et al., 2012b). Se reporta un aumento en el pH gástrico y disminución en la producción de ácido gástrico en un periodo de 5 – 8 horas post administración, el pico máximo de supresión ácida se encontró del 3 al 5 día de tratamiento (Téllez E et al., 2005).

### 1.6 Generalidades del ozono.

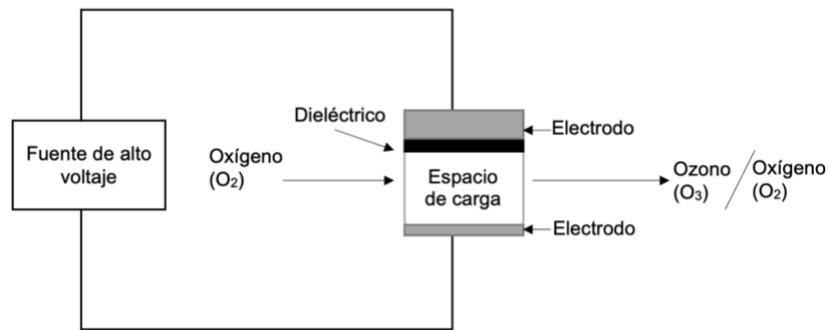
El ozono ( $O_3$ ) es un gas conformado por 3 moléculas de oxígeno, inestable, de color azul cielo, más soluble en agua que el oxígeno, se produce principalmente por tres fuentes de energía;电解质 química, descargas eléctricas y radiaciones de luz ultravioleta (UV), al ser inestable tiene una vida media de 40 minutos a  $20^{\circ}C$ , por lo que debe usarse de inmediato (Schwartz, 2011) (**Figura 9**).



**Figura 9:** Molécula de ozono (Marvin Sketch, 2022).

Existen equipos generadores de ozono que son utilizados en el área médica, se produce al pasar oxígeno o aire como gas (materia prima) entre dos electrodos separados entre si pocos milímetros y por un dieléctrico con un voltaje de 15kV , haciendo que las moléculas de oxígeno se separen y unan entre si formando el ozono, la concentración de ozono en gas aumenta gradualmente cuando se

incrementa el tiempo de exposición del oxígeno a estas microdescargas eléctricas (**Figura 10**) (Menéndez Silvia et al., 2008).



**Figura 10:** Diagrama de un generador de ozono por descarga eléctrica (Menéndez Silvia et al., 2008).

Desde el punto médico - farmacológico el ozono se puede clasificar como un pro-fármaco, ya que por medio de segundos mensajeros productos de la reacción con las biomoléculas, forma derivados oxidados que a su vez son mediadores de una serie de reacciones biológicas (Re Lambreto et al., 2008) (**Figura 11**).

Sustratos	Blancos	Efectos	
OZONO 	Lípidos Proteínas Carbohidratos Ácidos nucleicos	Eritrocitos Leucocitos Plaquetas Endotelio Médula Otros órganos	Mejora la entrega de O <sub>2</sub> Activa el sistema inmune Libera factores de crecimiento Liberación de eritrocitos <i>super dotados</i> Liberación de células madres Sobre regulación de enzimas antioxidantes

**Figura 11:** Efectos del ozono a través de su reacción con moléculas mediadoras. Modificado de: (Bocci V., 2006).

## 1.7 Ozonoterapia

El ozono es un gas altamente reactivo y oxidante, se postula que su principal mecanismo de acción es la generación de productos secundarios, que se forman selectivamente actuando con los dobles enlaces celulares carbono-carbono de componentes orgánicos, como lo son ácidos grasos poliinsaturados del plasma y membranas celulares, ácidos grasos poliinsaturados presentes en lípidos y fosfolípidos , a partir de esta reacción se generan ozónidos y peróxidos orgánicos (Barroetabeña et al., 2002). La formación de estos derivados se explica mediante la reacción de Crigee, la cual es la primera reacción del ozono con los dobles enlaces celulares, produciendo aldehídos,  $\alpha$  - hidroxihidroperóxido, formación directa de aldehídos y peróxidos de hidrógeno, La reacción que se produce es rápida y termina con el agotamiento del ozono administrado por lo que produce un estrés oxidativo rápido y controlable (Bocci & Di Paolo, 2004).

Los efectos que tiene sobre el metabolismo del oxígeno los podemos entender mediante acciones que promueven cambios en las propiedades sanguíneas aumentando la glicólisis de los eritrocitos por una peroxidación, incrementando su flexibilidad y plasticidad favoreciendo el transporte y entrega de oxígeno a los tejidos. Al ser selectiva la reacción del ozono para la formación de productos de oxidación lipídica (POL) y especies reactivas (ERO) se facilita una activación directa del metabolismo de los eritrocitos, por consiguiente una mejora en la circulación sanguínea, mejorando el transporte y utilización del oxígeno en los tejidos (Re Lambreto et al., 2008)(Menéndez Silvia et al., 2008).

La formación de ERO produce efectos biológicos casi inmediatos, el más importante es el peróxido de hidrógeno el cuál es mensajero químico del ozono, su concentración incrementa rápidamente, pero disminuye rápido, ya que las moléculas se difunden hacia los eritrocitos, leucocitos y plaquetas, activando

distintas vías bioquímicas, actuando como señalización intracelular que activa la tirosincinasa, que estimula al factor nuclear kappa -  $\beta$  (NFK $\beta$ ) permitiendo la síntesis de proteínas, así como la transcripción de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión. (Travagli et al., 2010) POL puede alcanzar todos los órganos particularmente la médula ósea y el sistema nervioso central, por lo que estimula el sistema inmune al crear un pequeño y controlado estrés oxidativo celular, lo que provoca una respuesta adaptativa antioxidant e inmunoestimulante (Bocci & Di Paolo, 2004)(Travagli et al., 2010) Es por lo anterior que esta terapia es tan efectiva en patologías involucradas con el estrés oxidativo, dado por inflamación, infecciones virales o bacterianas, enfermedades degenerativas, heridas, ulceraciones, entre otras (Menéndez Silvia et al., 2008). El sistema antioxidant esta compuesto por albúmina, vitamina C, vitamina E, ácido úrico, bilirrubina, cisteína, enzimas como la superóxido dismutasa, catalaza, entre otras, y proteínas como la transferrina que actúan contrarrestando el estrés oxidativo, el cual es un desequilibrio de las especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes (Travagli et al., 2010).

Las propiedades terapéuticas del ozono están descritas por dos mecanismos independientes. 1) su capacidad oxidante, que actúa directamente en la pared celular de microorganismos provocando una acción germicida por una ruptura oxidativa de sus membrana, también actúan directamente como mediadores de la inflamación y de dolor, bloqueando estas respuestas biológicas (Re Lambreto et al., 2008). 2) Efectos indirectos esto se da por la interacción del O<sub>3</sub> directamente produciendo cuatro compuestos que reaccionan con los fosfolípidos de las membranas celulares los cuales son , ozónidos, aldehídos, peróxidos y peróxidos de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), los cuales en cantidades

adecuadas y controladas ejercen funciones biológicas y terapéuticas, al actuar como segundos mensajeros activan enzimas como lo son los mediadores químicos, la respuesta inmune, una respuesta antiinflamatoria, entre otros (Schwartz, 2011). Se ha encontrado que la ozonoterapia tiene una actividad inmunomoduladora ya que activa la liberación de citocinas endógenas inmunoestimuladoras o inmunosupresoras, esta acción está enfocada en los monocitos y linfocitos T. Los efectos sobre el metabolismo del ozono son principalmente el incremento del uso de la glucosa a nivel celular, mejorando el metabolismo proteico, oxidación de lípidos insaturados que inducen los mecanismos de reparación celular, induce una disminución de mediadores de la inflamación, inactiva los metabolitos mediadores del dolor por medio de la oxidación, mejora la microcirculación sanguínea, por consiguiente mejora la entrega de oxígeno tisular, lo que estimula una regeneración de estructuras anatómicas mejorando el metabolismo celular del oxígeno que estimula el crecimiento de tejido de granulación, epitelización y revitalización del tejido epitelial (Scwhartz Adriana et al., 2012).

El ozono puede ser aplicado por la vía local o paraenteral, sin efectos adversos, la más utilizada ha sido la autohemoterapia mayor, insuflación rectal, autohemoterapia menor con sangre del paciente ozonizada aplicada por vía IM, IP, intradiscal, intra-articular, subcutánea, PO en agua o aceite y vía tópica (Menéndez Silvia et al., 2008) (**Figura 12**).



**Figura 12:** Acciones biológicas del ozono en el organismo. (Menéndez Silvia et al., 2008)

El profesor Bocci plantea que existe un intervalo de concentración del ozono con efecto terapéutico el cual va de 25- 80mg/L (Bocci V., 1999), en estudios recientes se ha encontrado que la concentración varía por vía de administración y la patología a tratar. Se plantea que 70 – 100 mg/L son útiles para tratamientos de heridas infectadas mediante tratamiento local con agua ozonizada, gas al ponerlo en contacto con el área por medio de una bolsa, aceites ozonizados tópicos, 40- 70 mg/L para heridas, ulceras, fistulas anales, de 10 – 40 mg/L para tratamientos sistémicos (Centro de investigación del ozono de la república de cuba) (Menéndez Silvia et al., 2008).

Las aplicaciones del ozono en medicina veterinaria y humana se han ido desarrollando a lo largo de los años, en medicina humana es comúnmente utilizado para el tratamiento de heridas, infecciones, en odontología para el tratamiento de gengibitis, como autohemoterapia, en medicina veterinaria es utilizada como mayor y menor autohemoterapia, subcutáneo, intramuscular,

paravertebral, intaarticular, insuflación en fistulas, insuflación rectal, insuflación vaginal, tratamiento parenteral con agua ozonizada, aceites ozonizados, gel.

La solución salina fisiológica ozonizada a sido utilizada favorablemente en el tratamiento de mastitis, metritis, endometritis, retención fetal, vaginitis, urovaginitis, en vacas y cabras, tratamiento de heridas, tratamiento de úlcera gástrica en ratas (Calin Repciuc, 2016)(Zamora Rodríguez et al., 2005).

#### 1.8 Aceites vegetales ozonizados.

Los aceites vegetales al contener una gran cantidad de ácidos grasos saturados e insaturados, se han convertido en un medio adecuado para la interacción del ozono, y formación de compuestos como lipoperóxidos, ozónidos, aldehídos, cetonas entre otros. Tienen gran cantidad de ácidos grasos poli- insaturados (AGPI) los cuales son susceptibles a la oxidación al momento que el ozono se pone en contacto con estos, forma los compuestos previamente descritos, los aceites vegetales mas usados son el de oliva, girasol, coco, cacao, aguacate, almendra, jojoba, entre otros. La reacción que obtenemos del ozono con compuestos insaturados son; ozónidos orgánicos que son intermediarios en la ozonólisis, los cuales los observamos como líquidos aceitosos. Los ácidos grasos poliinsaturados del aceite se ven afectados con la ozonización, provocando en ellos una degradación oxidativa de lípidos, que conocemos como peroxidación lipídica, esta reacción se da por la reacción del ozono con los dobles enlaces de éstos, en esta reacción podemos encontrar la producción de compuestos oxigenados, como lo son: aldehídos, poloperóxidos y diperóxidos, responsables de la actividad antimicrobiana de los aceites ozonizados (Martínez Sánchez, 2021).

Para una aplicación interna vía oral se utiliza 100 mL de aceite que se ozonifica con ozono de 20 µg/mL, por 10 min, o a una concentración de 40µg/mL, por 5 min. Se debe almacenar en recipientes de vidrio color ámbar, y es estable por 3 meses a temperatura ambiente o hasta 2 años en refrigeración (Martínez-Sánchez et al., 2012).

Para sacar la dosis del aceite ozonizado se utiliza el índice de peróxido (PV) que representa la cantidad de peróxido expresado en miliequivalentes de oxígeno activo contenido en una cantidad de 1000g (mEq O<sub>2</sub>/kg) (Martínez Sánchez, 2021).

#### Mecanismo de acción aceites vegetales ozonizados.

El mecanismo de acción de los aceites vegetales ozonizados es aun desconocido, sin embargo existen hipótesis que sugieren que existe una oxidación directa, al liberar el ozono generando peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos, los cuales esta demostrado que tienen una actividad bactericida; actúa también en la fase séptica inflamatoria, fase de regeneración celular, fase de remodelación por la liberación de citocinas y factores de crecimiento celular (Martínez Sánchez, 2021).

Estimula la liberación de factores de crecimiento como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformador beta (TGF- $\beta$ ) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), los cuales inducen la remodelación tisular, al igual que aumenta el metabolismo celular y la oxigenación tisular, estos son factores importantes para que haya una recuperación tisular, precondicionamiento oxidativo lo que como ya se mencionó ayuda a estimular los mecanismos antioxidantes endógenos celulares.

(Martínez-Sánchez et al., 2012). Se ha demostrado que los aceites vegetales ozonizados tienen capacidad de inhibir factores de transcripción nuclear proinflamatorios, inhibiendo la ciclooxygenasa- 2 (COX2), inhibe la síntesis de NF-K $\beta$ , la oxidación estimula la síntesis de proteínas antiinflamatorias (Rodríguez Zamora & Carvajal Yousy, 2006), y estimula la regeneración tisular.

El ozono puede llegar a ser tóxico en su forma gaseosa, al estar expuesto a inhalarlo en dosis muy altas, ya que las moléculas son inestables, al momento de estar inmerso en el aceite vegetal su índice de seguridad es muy alto, por lo que no se tienen registros de toxicidad, o efectos adversos, en cualquiera de las vías de administración, se considera un pro-fármaco altamente seguro (Abreu-Villela et al., 2021).

El aceite vegetal ozonizado puede estar en distintas presentaciones las cuales son en polvos, comprimidos y geles, aún no existen registros publicados, la presentación más común es en comprimidos lo que en humanos facilita su administración, Pero existe otra presentación que es en gel, lo que facilita la administración en animales como los caballos.

### 1.9 Alternativas de aplicación para el aceite ozonizado.

El uso de aceite de girasol ozonizado en gel será una buena alternativa para el tratamiento de úlcera gástrica en equinos por su modo de acción, que ayudará a la mucosa lesionada a tener una regeneración epitelial con una acción antiinflamatoria, por sus propiedades previamente descritas, así mismo la adición al preparado de saborizantes ayuda a la administración; Al ser un problema con alta prevalencia entre la especie equina con pocas opciones de tratamiento se comparará su acción con la del omeprazol.

## **2.HIPÓTESIS.**

La administración de gel de aceite de girasol ozonizado por vía oral presentará un efecto terapéutico sobre la mucosa gástrica de caballos con síndrome de ulceración gástrica.

## **3.OBJETIVO.**

Evaluando el efecto terapéutico del aceite de girasol ozonizado en gel sobre la mucosa gástrica de caballos con síndrome de ulceración gástrica mediante observación macroscópica.

## **4.MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **4.1 Animales.**

El estudio se realizó en la ciudad de México y el estado de México. Se utilizaron 18 equinos de las razas Warm blood y pura sangre inglés (PSI), con un peso aproximado de 450 - 550 kg. Los animales se alojaron en caballerizas de 4x4 m<sup>2</sup> que cumplen las condiciones adecuadas para los caballos (39,40). No se modificó su alimentación por lo que mantuvieron su dieta habitual a base de concentrados, forraje de avena, forraje de alfalfa y agua *ad libitum*, esto siguiendo lo establecido por cada lugar y propietario de los animales. Tampoco se modificaron sus rutinas de trabajo.

### **4.2 Tratamiento.**

Para este estudio se evaluó un gel de administración oral a partir aceite de girasol, el cuál se elaboró con 40% de aceite de girasol ozonizado al 9 % de ozono, además se adicionó un saborizante dulce. Este gel tiene un pH neutro. Fue elaborado y proporcionado por Omanu labs.

Los animales seleccionados para ingresar al estudio tuvieron un historial clínico por el cuál se sospechó de la presentación del síndrome de ulceración gástrica.

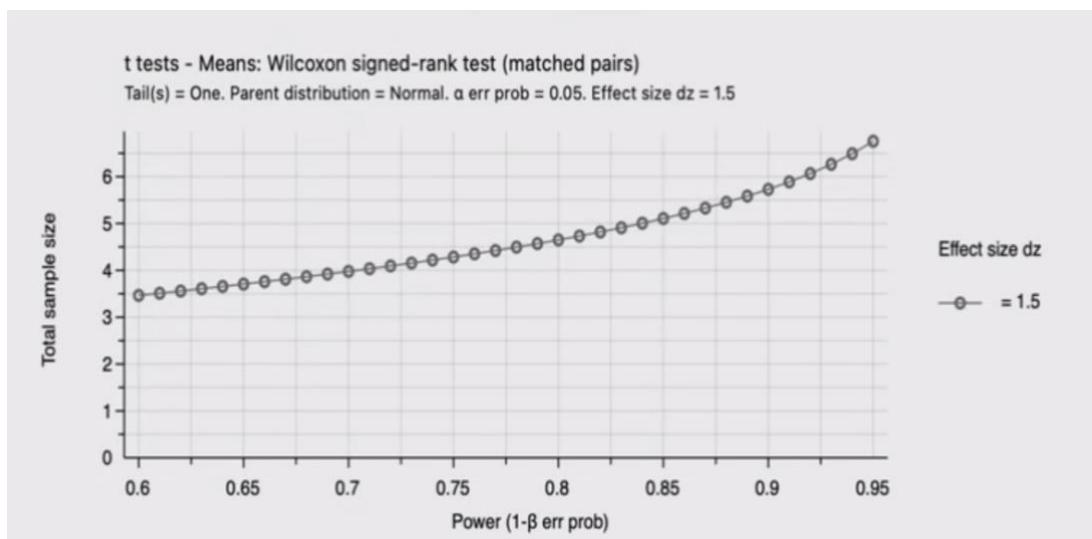
Los signos incluyeron falta de apetito, retraso en el crecimiento, pelaje opaco, disminución del rendimiento, heces pastosas, bruxismo, estereotipias, cólicos recurrentes (Bell et al., 2007).

A todos los caballos sospechosos se les realizó un diagnóstico inicial mediante gastroscopía para conocer la integridad de la mucosa gástrica, los cuales estuvieron bajo las especificaciones descritas para la realización del estudio, que constó de someterlos a un ayuno de 12 horas de alimento y 8 horas de agua para asegurar que el estómago no tuviera contenido que pudiera interferir al realizar el estudio (Abutarbush & Carmalt, 2008).

Para realizar el procedimiento de gastroscopía, se realizó un protocolo de sedación a base de xilacina 1.1 mg/kg (alfa 2 agonista) sola o con butorfanol 0.05 – 0.2 mg/kg (opioide), provocando una sedación profunda del animal de pie. Los medicamentos se administraron por vía endovenosa lento a través de la vena yugular derecha o izquierda, el protocolo de sedación fue individual dependiendo el carácter del caballo, por ejemplo, en caballos nerviosos o de difícil manejo se optó por la combinación de fármacos (Halbmayer Edeltraud, 2004).

El diagnóstico de la integridad de la mucosa gástrica se realizó mediante gastroscopía con la ayuda de un endoscopio de 3m de la marca OLYMPUS®. Se clasificaron las lesiones encontradas de acuerdo con el Sistema de clasificación del consejo de úlceras gástricas en equinos (Macallister et al., 1997). Después de realizar el diagnóstico, 18 caballos fueron incluidos al estudio

y se dividieron aleatoriamente en 3 grupos de 6 caballos cada uno. El tamaño de muestra para los grupos de estudio se estimó con ayuda del programa Gpower, para estimar una potencia mayor al 90% (**Figura 13**). Todos los tratamientos se administraron por vía oral. El primer grupo recibió un tratamiento a base de gel de aceite de girasol ozonizado (GO), a dosis de ozono de 0.72 mg/kg PV (equivalente a 0.02 ml de OZYGASTRIC por kg de PV) dos veces al día por 14 días, el segundo grupo recibió un tratamiento a base de omeprazol en pasta (GPO) (Equiprazol, PISA, 2.28g) a dosis de 4 mg/kg una vez al día por 14 días. El tercer grupo se consideró como control (GC) al cual se le administró un preparado con aceite de girasol sin ozono a dosis de 0.02 ml/kg de PV dos veces al día durante los 14 días (Halbmayer Edeltraud, 2004).



**Figura 13.** Cálculo de tamaño de muestra por grupo para obtener una potencia superior al 90% de acuerdo con el modelo estadístico de este estudio (rango con signo de Wilcoxon) ([Gpower , 2023](#)).

#### 4.3 Diagnóstico de integridad de la mucosa gástrica.

A todos los caballos se les realizó un diagnóstico inicial y un segundo diagnóstico a los 14 días. Después de realizar el segundo diagnóstico, todos los caballos

terminaron su participación en el estudio y los caballos que lo requirieron recibieron el tratamiento que el medico veterinario encargado consideró adecuado para cada uno. Para el diagnóstico de los grados de úlcera gástrica se les asignó una puntuación de acuerdo con la escala presentada en el **Cuadro 3.**

**Cuadro 3:** Sistema internacional de clasificación por asignación de puntajes de las úlceras gástricas en equinos, adaptada de Bertone, 2000 (Bertone, 2000).

Puntaje	Tipo de alteración	Descripción detallada
0	Mucosa normal	Epitelio intacto, sin alteraciones aparentes.
1	Alteración no erosiva	Mucosa intacta, pero con áreas de enrojecimiento o hiperqueratosis.
2	Erosión leve	Lesiones únicas o multifocales.
3	Erosión extensa o leve ulceración	Lesiones únicas o multifocales de mayor tamaño, se presentan como úlceras superficiales con hiperemia y leve a moderada hiperqueratosis.
4	Moderada ulceración	Lesión extensa con áreas poco profundas y leve proliferación de la mucosa y puede haber alteración vascular.
5	Grave ulceración	Ulceración multifocal o generalizada de aspecto profundo

		con moderada proliferación de la mucosa y hemorragia activa leve.
6	Ulceración grave y extensa	Área extensa de ulceración profunda, proliferación extensa de la mucosa y hemorragia marcada.

#### 4.4 Evaluación de seguridad.

Para evaluar la seguridad del tratamiento que se administró al grupo (GO), antes de la administración de tratamiento se colectó una muestra de 6 ml de sangre en tubos vacutainer sin anticoagulante y una muestra de 6 ml de sangre en tubos vacutainer con EDTA, en ambos casos de la vena yugular derecha o izquierda. Se realizaron estudios de hemograma y bioquímica sanguínea, y posteriormente a los 14 días, se obtuvieron nuevamente muestras de sangre con las mismas características para la realización de estudios de hemograma y bioquímica sanguínea.

En la bioquímica sanguínea los principales analitos que se tomaron en cuenta para evaluar la seguridad fueron (Varga Molly, 2022)(Archer Debra, 2013).

- Uréa y creatinina: evaluación renal.
- Enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), Fosfatasa alcalina (FA), bilirrubinas y proteínas totales (albúmina y globulinas): Evaluación de la función hepática.

- Para el hemograma los analitos evaluados que pueden indicar toxicidad son: Eritrocitos, volumen globular medio (VGM) y hemoglobina globular media (HGM) : cantidad de células de la linea roja, pueden indicar anemia en caso de toxicidad medular.
- Leucocitos: indicadores de función medular.
- Neutrófilos: indicadores de inflamación activa.
- Plaquetas: coagulación.

#### 4.5. Análisis estadístico.

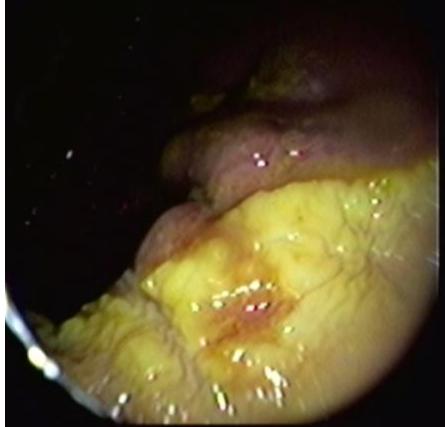
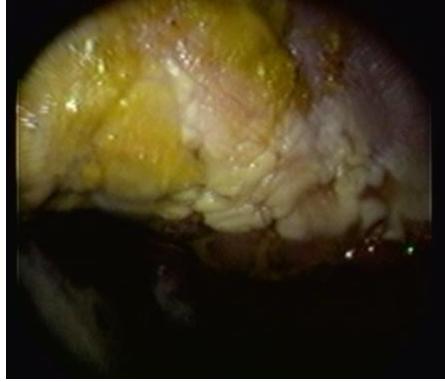
Los resultados del grado de lesión se evaluaron mediante prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Todas las diferencias significativas se establecerán en  $P < 0.05$ . El análisis se realizará con el software IBM SPSS® Statistics 24 (Spužak et al., 2020).

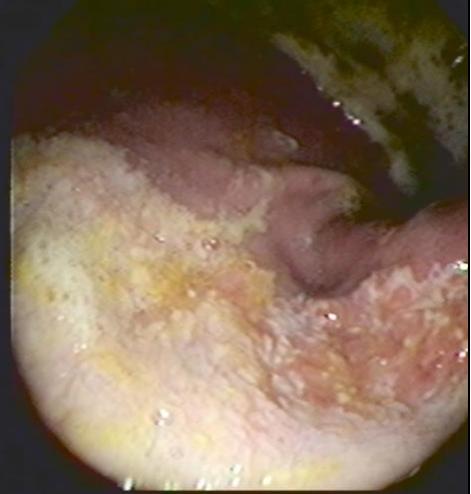
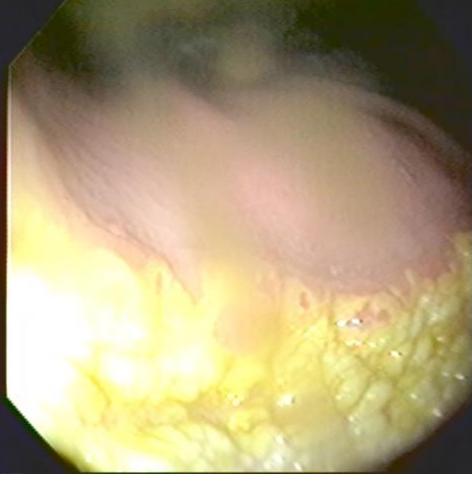
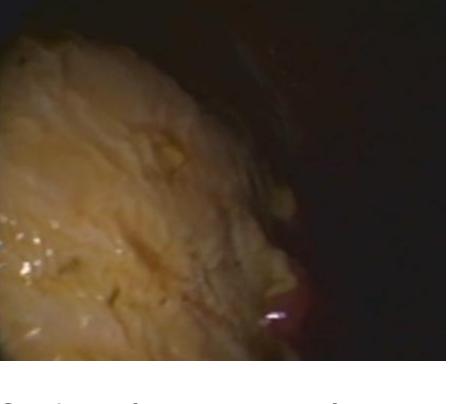
### 5.RESULTADOS

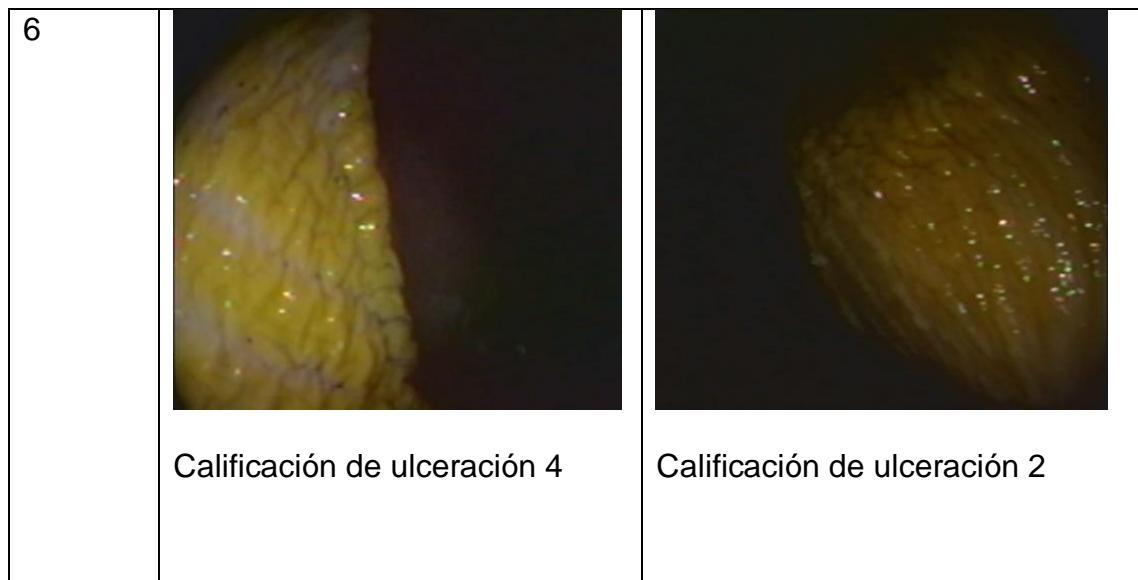
#### 5.1 Evaluación lesiones gástricas

En el cuadro 6 se presentan los resultados observados en el día 0 y 14 post tratamiento de las evaluaciones realizadas mediante gastroscopía de los caballos GO, donde se puede observar, antes de iniciar el tratamiento se presentaron lesiones con una calificación máxima de 6 en dos caballos, 5 en un caballos, 4 en dos, y 3 en un caballo, al finalizar el tratamiento la mayoría de las calificaciones disminuyeron entre 1 y 2 niveles de lesión, como caso excepcional uno de los caballos que inició con una calificación 6 disminuyó hasta 1, siendo esta la calificación más baja obtenida en este grupo. De acuerdo con los resultados obtenidos se presentó una diferencia estadísticamente significativa ( $P < 0.05$ ) entre las calificaciones del día 0 y día 14 (vease cuadro 6).

**Cuadro 3.** Imágenes y calificaciones asignadas en los dos días de evaluación de los caballos del grupo tratado con aceite de girasol ozonizado en gel a dosis de 0.02 ml/kg (GO)

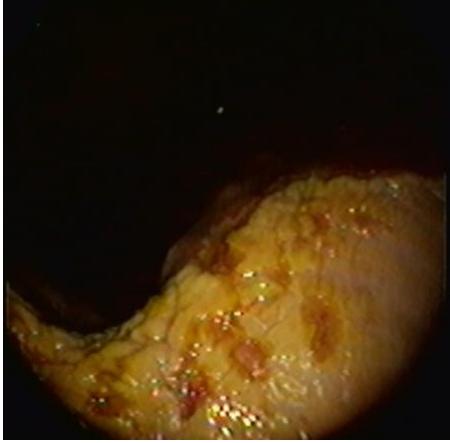
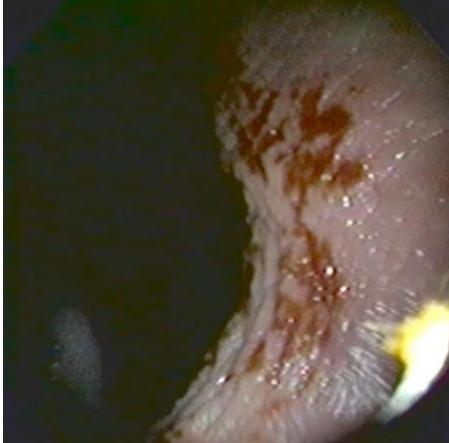
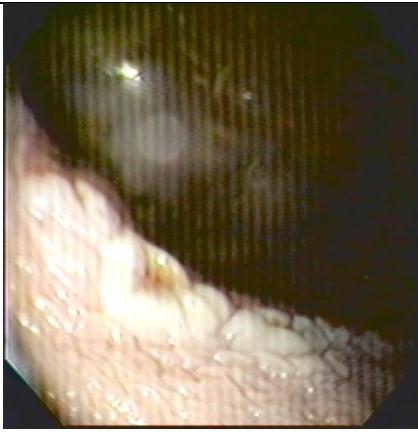
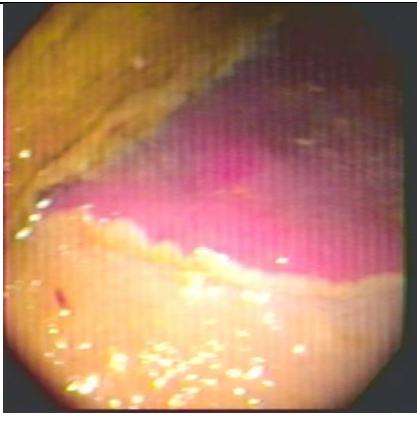
Caballo	Día 0	Día 14
1		
	Calificación de ulceración 6	Calificación de ulceración 1
2		
	Calificación de ulceración 6	Calificación de ulceración 4

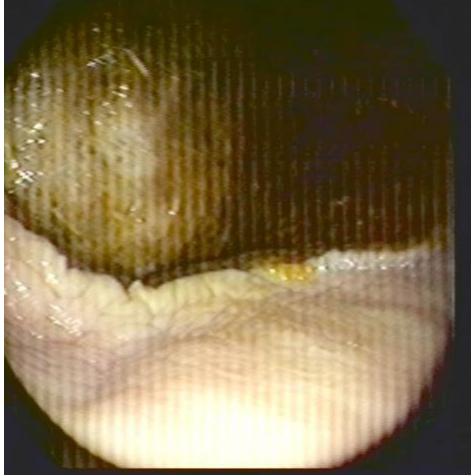
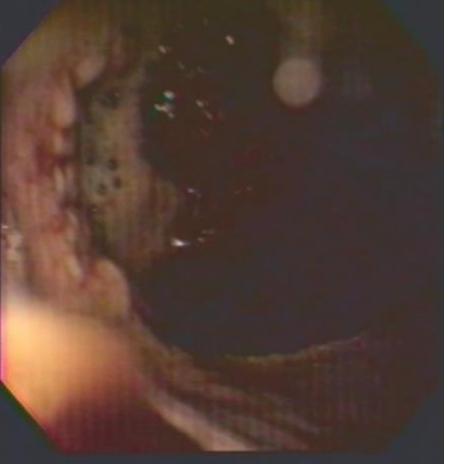
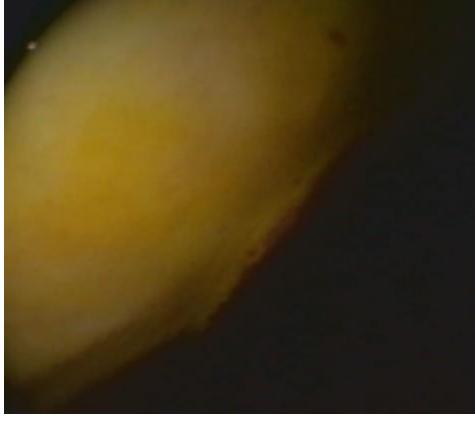
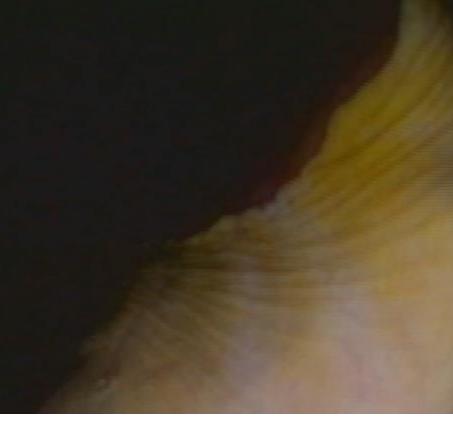
	3		
		Calificación de ulceración 5	Calificación de ulceración 4
	4		
		Calificación de ulceración 3	Calificación de ulceración 2
	5		
		Calificación de ulceración 4	Calificación de ulceración 2

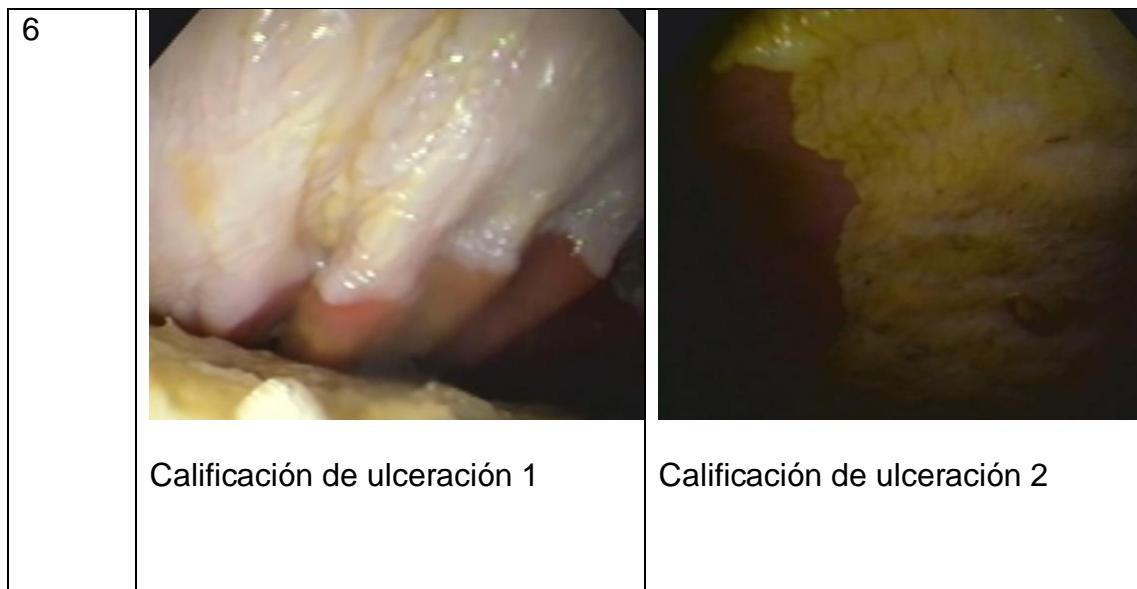


Como se puede observar en el **cuadro 4**, en GPO las clasificaciones obtenidas el día 0 se encuentran entre 1 y 6, a diferencia de GO, este grupo no se presentó una disminución de calificación en todos los animales tratados, en algunos se mantuvieron con la misma calificación aun cuando esta ya era un 6 y en otros casos aumentaron un punto para el día 14. No se presentó una diferencia estadísticamente significativa ( $P>0.05$ ) entre las calificaciones del día 0 y 14 (véase cuadro 6).

**Cuadro 4:** Imágenes y calificaciones asignadas en los dos días de evaluación de los caballos del grupo GPO.

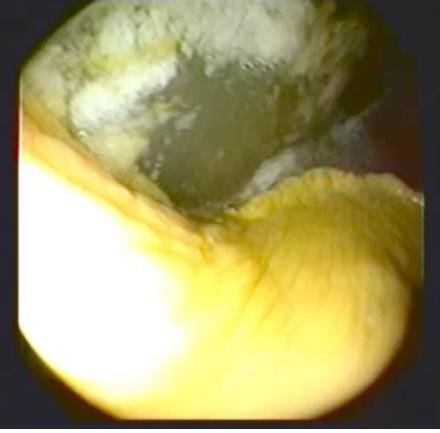
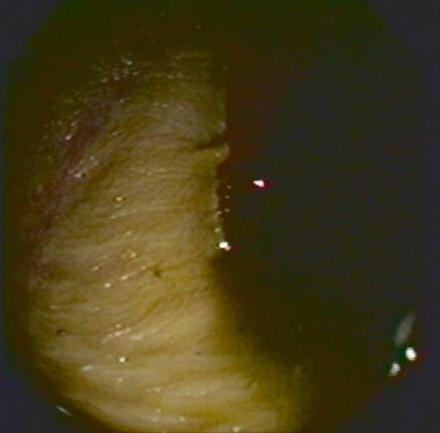
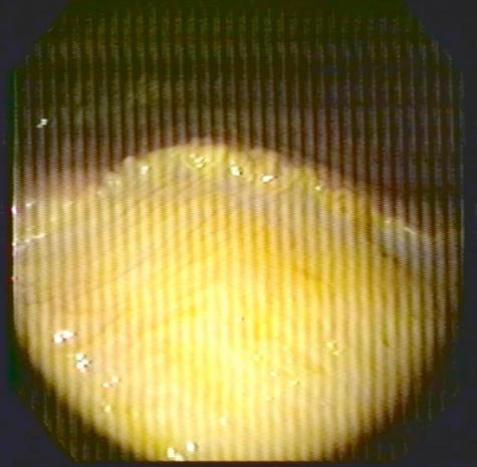
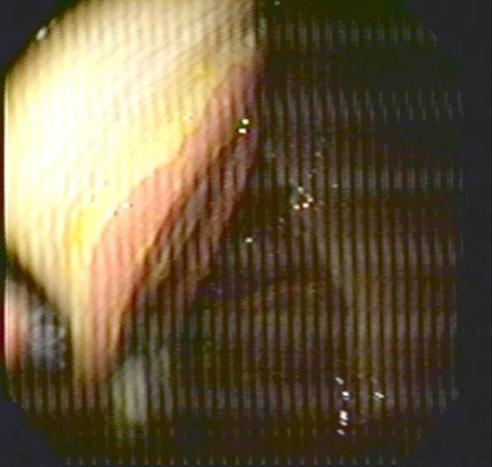
Caball o	Día 0	Día 14
1		
	Calificación de ulceración 6	Calificación de ulceración 6
2		
	Calificación de ulceración 5	Calificación de ulceración 2

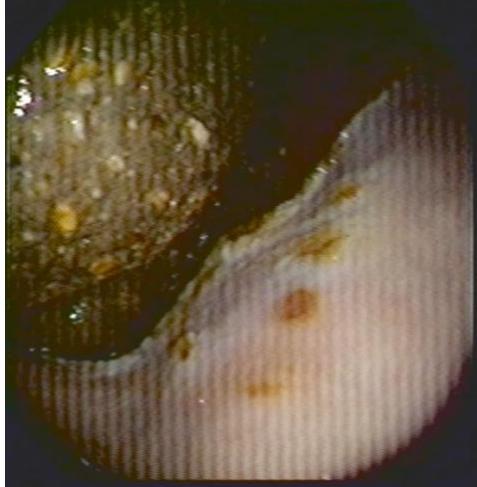
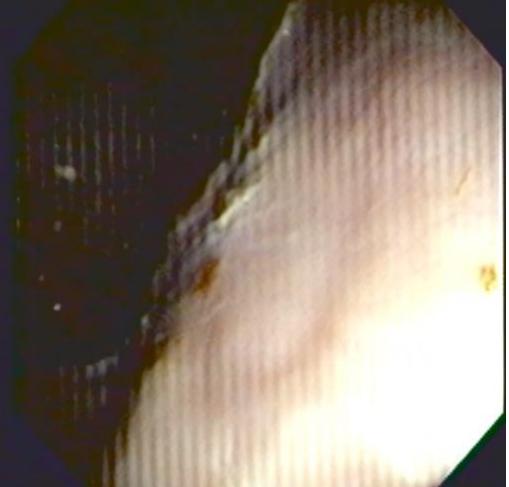
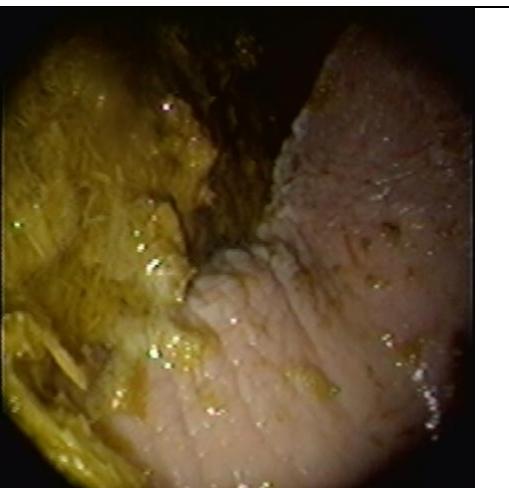
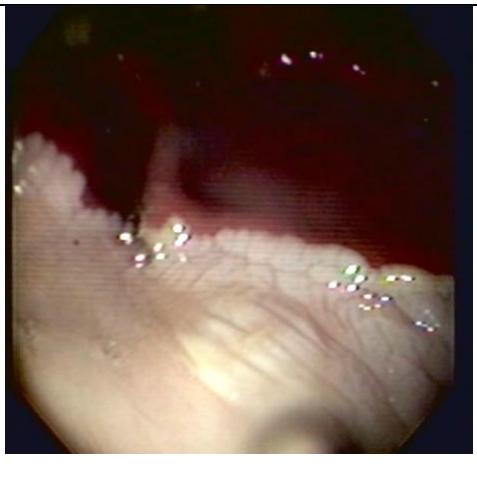
3		 Calificación de ulceración 3
4		 Calificación de ulceración 1
5		 Calificación de ulceración 2

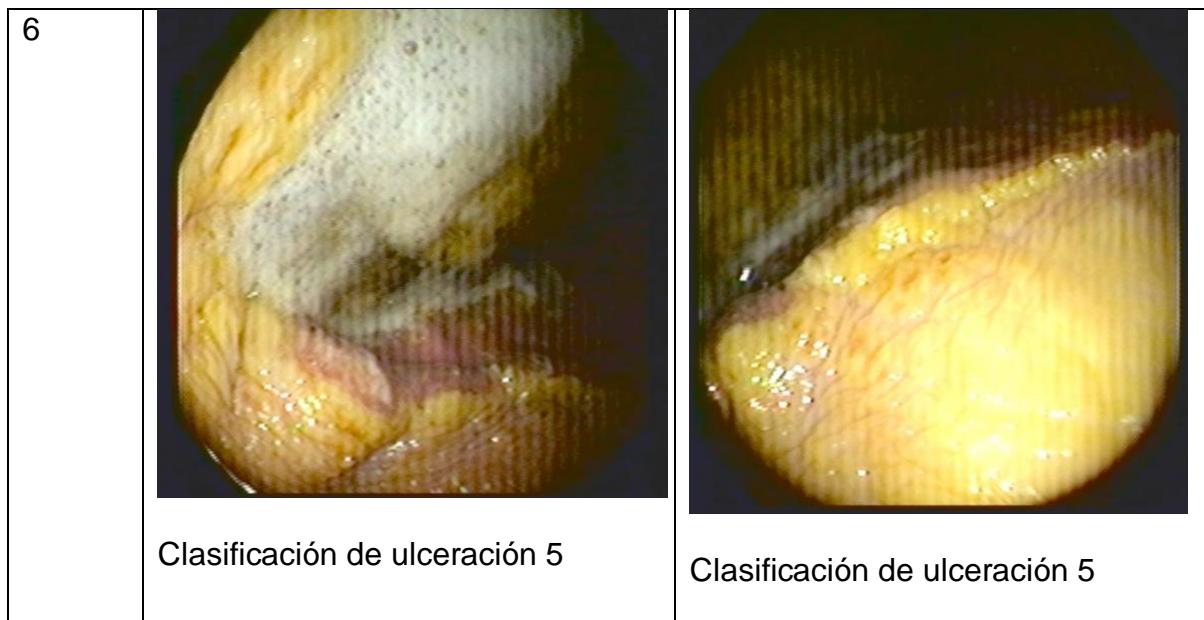


En el **cuadro 5** se pueden observar los resultados obtenidos del grupo control de GC en los que se obtuvieron calificaciones del 1 al 5 en el día 0, y en la mayoría se obtuvieron las mismas calificaciones para el día 14, solo en un caso se presentó un aumento de un punto de lesión para el día 14, los resultados del día 0 y 14 no presentaron diferencia estilísticamente significativa ( $P>0.05$ ), tal como se presenta en el cuadro 6.

**Cuadro 5:** Imágenes y calificaciones asignadas en los dos días de evaluación de los caballos del grupo GC.

Caballo	Día 0	Día 14
1		
	Calificación de ulceración 1	Calificación de ulceración 1
2		
	Calificación de ulceración 1	Calificación de ulceración 1

3		
	Calificación de ulceración 3	Calificación de ulceración 3
4		
	Calificación de ulceración 2	Calificación de ulceración 3
5		
	Calificación de ulceración 1	Calificación de ulceración 1



**Cuadro 6:** Mediana obtenida al inicio y al final de los diferentes tratamientos administrados en los diferentes grupos.

Día	GO	GPO	GC
Cero	4.5 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1.5 <sup>a</sup>
Catorce	2 <sup>b</sup>	2 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> diferentes literales entre filas indican diferencia estadísticamente significativa ( $P<0.05$  en cada grupo)

GO = Aceite de girasol ozonizado en gel.(0.02 ml/kg); GPO = Omeprazol (4 mg/kg); GC: control tratamiento con aceite de girasol (0.72 mg/kg).

## 5.2 Seguridad

Tal como se presenta los resultados de la bioquímica sanguínea en el **Cuadro 7**, el promedio del valor de albúmina se encontró por debajo de los valores de referencia, esto podría estar relacionada con pérdidas por una hemorragia ligera ocasionada por la úlcera gástrica, por lo tanto la relación albúmina / globulina se encuentra afectada en ambos casos, antes y después de la administración del tratamiento. El promedio del nivel de globulina al día 0 se encontraba por encima de los valores de referencia esto puede ser consecuencia de la presencia de citocinas proinflamatorias (alfa- globulinas), al día 14 el promedio se encontró

dentro de los valores de referencia, los valores registrados para los demás analitos se mantuvieron dentro de los valores de referencia al inicio y al final del estudio. Sin embargo en uno de los caballos evaluados al día cero presentó un aumento de la bilirrubina no conjugada, disminución de la albúmina, con un aumento de la globulina y por consecuencia la relación albumina/ globulina disminuida, al día 14 de tratamiento con gel de aceite ozonizado los valores regresaron a los valores de referencia. Observamos que el promedio de cloro se encuentra por encima de los valores de referencia, este valor regresó a valores de referencia al término del tratamiento.

**Cuadro 7:** Promedio y desviación estándar (DE) de los analitos evaluados en la bioquímica sanguínea día 0 y 14.

Analito	Promedio y DE día 0	Promedio y DE día 14	Valores de referencia
Glucosa	4.90±0.70	4.3 ± 055	3.4 – 6.2
Urea	5.24±1.33	5.055 ± 0.93	4.1 – 7.2
Creatinina	132±21.36	126 ± 20.14	0 – 156
Bilirrubina total	41.66±8.67	43.32 ± 4.39	0 – 54
Bilirrubina conjugada	3.75±1.066	3.57± 0.64	0 – 12
Bilirrubina no conjugada	37.91±9.17	39.75 ± 4.17	0 – 44
AST	324.83±73.80	329.66 ± 53.57	0 – 450
GGT	6±3.34	7.33 ± 2.06	0 - 22
CK	316.5±167.64	261.83 ± 84.56	0 – 425

Proteínas totales	60.83±6.73	57.33 ± 5.27	53 – 71
Albúmina	25.5±3.50**	25.23 ± 2.17**	31 – 39
Globulina	35.33±4.03*	31.83 ± 3-54	20 – 35
Relación albúmina / globulina	0.72±0.90**	0.78 ± 0.12**	0.89 – 1.65
Calcio	3.00±0.14	2.98 ± 0.15	2.79 – 3.22
Fósforo inorgánico	1.08±0.18	0.98 ± 0.14	0.77 – 1.67
Potasio	3.91±0.29	3.89 ± 0.14	3.36 – 4.99
Sodio	135.33±2.06	135.33 ± 1.75	132 – 141
Cloro	120±40.19*	103.16 ± 1.32	98 – 105
Bicarbonato	27.66±2.94	27.33 ± 1.21	27 – 34
Ácidos orgánicos	8.33±2.4	9.16 ± 1.16	4 – 13

\*Valores por encima de los vares de referencia.

\*\*Valores por debajo de los valores de referencia.

Los resultados del hemograma se presentan en el **Cuadro 8**, tal como se puede observar el promedio y la desviación estándar registrados para los analitos evaluados, se mantuvieron dentro de los valores de referencia al inicio y al final del estudio, en caso de uno de los caballos que entraron al estudio se encontró al día 0 del tratamiento un hematocrito, hemoglobina, eritrocitos disminuidos indicándonos una anemia ligera, los linfocitos también se encontraban por debajo de los valores de referencia, estos regresaron a niveles de referencia al día 14 de tratamiento.

**Cuadro 8:** Promedio y desviación estándar (DE) de los analitos evaluados en el hemograma día 0 y día 14.

Analito	Promedio y DE día 0	Promedio y DE día 14	Valores de referencia
---------	---------------------	----------------------	-----------------------

Hematocrito	0.38±0.05	0.36±0.03	0.32 – 0.52
Hemoglobina	130.16±15.30	126.33± 13.54	111 – 190
Eritrocitos	7.93± 1.33	7.95± 0.91	6.5 – 12.5
Volumen globular medio	48.33±3.50	46± 1.09	34 – 58
CGMH	342±10.01	343.83±9.60	310 – 370
Plaquetas	157.83±67.21	192.16±75.22	100 – 600
Proteínas	64.33±4.27	61±3.2	60 – 80
Fibrinógeno	2.83±0.40	2.5±0.54	0 – 5
PT/ Fib	22.4±5.78	24.45±4.8	
Leucocitos totales	7.21±0.99	7.11±0.84	5.5 – 12. 5
Neutrófilos totales	4.74±1.02	4.39±1.27	2.7 – 6.7
Neutrófilos en banda	0±0	0±0	0 – 0
Metamielocitos	0±0	0±0	0 – 0
Mielocitos	0±0	0±0	0 – 0
Linfocitos	2.18±0.60	2.54±0.41	1.5 – 7.5
Monocitos	0.19 ±0.15	0.14±0.15	0 – 0.8
Eosinófilos	0.095±00.098	0.09±0.09	0 – 0.9
Basófilos	0±0	0.01±0.02	0 – 0.2
E. Nucleados	0±0	0±0	0 – 0

\*Valores por encima de los valores de referencia.

\*\*Valores por debajo de los valores de referencia.

## **6. DISCUSIÓN**

En este estudio se evaluó el efecto terapéutico y la seguridad de un preparado a base de aceite de girasol ozonizado en gel (GO) en caballos con úlcera gástrica, y la eficacia se comparó con un grupo que recibió un tratamiento con omeprazol (GPO) y un grupo control (GC). De acuerdo con los resultados se presentó una disminución en la gravedad de las lesiones de GO a diferencia de GPO y GC.

Se ha evaluado el efecto del aceite ozonizado en lesiones perforantes en pabellón auricular de ratón, a nivel dérmico hay una reacción inflamatoria provocada por citocinas proinflamatorias como son la interleucina 1- alfa (IL- $\alpha$ ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF-  $\alpha$ ), e interleucina 6 (IL-6), las cuales desencadenan el proceso inflamatorio como consecuencia de la irritación dérmica, se observó en el estudio histológico cualitativo a las 24 horas una aparición de congestión vascular, con un aumento de migración leucocitaria a los bordes de la herida, esto con la finalidad de crear la barrera leucocitaria defensiva, en este estudio el aceite vegetal ozonizado no interfirió en la secuencia normal de cicatrización de los tejidos, también se registró un aumento de neutrófilos, factor de crecimiento epidérmico mayor a la media en las primeras 72 horas de tratamiento y en las siguientes 24 horas una disminución significativa presentando una reparación tisular favorable por el efecto antiinflamatorio, al suprimir el 0.025% de la mitosis de los linfocitos, un 0.05% la producción óxido nítrico de los macrófagos, inhibición de la expresión de prostaglandina E2 (PGE2) y la ciclooxygenasa 2 (COX2), por lo que algo similar podría haberse presentado en GO por la presencia de los hidroperóxidos del preparado en gel. También se ha reportado que al administrar ozono en gas o en aceite se puede fomentar la cicatrización, mediante la activación local de la expresión de factores

de crecimiento, y una reducción en la infiltración de neutófilos, de esta forma estimula la formación de tejido de granulación, lo que también pudo suceder en GO sobre la mucosa gástrica (Barroetabeña et al., 2002; Nakamuro et al., 2005). Se reportó un caso de farmacodermia en un paciente Rotwailer el cual tenía heridas cutáneas en la porción cervical, el tratamiento principal fue a base de lavados con clorhexidina, un tratamiento sistémico con digluconato de potasio y amoxicilina con ácido clavulánico (20mg/kg, PO, dos veces al día por 10 días). Se reportó un aumento en las lesiones cutáneas al cabo de dos días de tratamiento, por lo que se optó por cambiar por un tratamiento de aceite de girasol ozonizado aplicado directamente en el sitio de lesión (47µg/ml), aunado a esto se decidió utilizar solución salina fisiológica ozonizada al 0.9% para lavar la herida, después de tres días se observó tejido de granulación y comenzó la reepitelialización, 30 días después se presentó una recuperación completa de las lesiones, algo similar podría haber sucedido con la administración de gel de aceite ozonizado al disminuir significativamente la inflamación, reduciendo la calificación en los animales tratados al cabo de 14 días e incluso se observó una completa regeneración de las lesiones observándose una disminución significativa de la inflamación de la mucosa gástrica y una disminución en la hiperqueratosis. En los casos de ulceras grados 6 se observó la mucosa en proceso de regeneración y los caballos que presentaron sangrado antes de comenzar con el tratamiento mostraron una mejoría de hasta dos grados (de Siqueira Silva Júnior et al., 2019).

En un estudio realizado en ratas con úlceras gástricas producidas por etanol y pretratadas con aceite ozonizado PO una hora antes de la administración del etanol, el grupo pretratado tuvo un efecto citoprotector de la mucosa, y una

disminución de la permeabilidad vascular lo que contribuyó al efecto protector de la mucosa contra el daño tisular, a comparación del grupo que no recibió el preparado, por lo que podemos deducir que el aceite ozonizado vía oral en caballos podría tener un efecto similar en la citoprotección de la mucosa gástrica durante el tratamiento y posterior a su administración, en este estudio en uno de los casos de úlcera gástrica grado 5, la yegua presentaba disminución de peso, cólicos recurrentes y posterior al tratamiento presentó un grado 3 de ulceración gástrica, así como un aumento de peso, y los cólicos recurrentes cesaron, a las dos semanas de finalizado el tratamiento, se recibió un reporte del encargado mencionando que la yegua no había vuelto a presentar cólicos y recuperó su peso y condición corporal sin que se modificaran factores ambientales, de manejo o dieta, por lo que podríamos considerar que el aceite de girasol ozonizado en gel podría estar presentando un efecto citoprotector después de terminar el tratamiento, aunque se desconoce cuánto tiempo duraría este efecto (Zamora Rodríguez et al., 2005).

Se han evaluado los efectos del ozono sobre la biometría y bioquímica hemática en caballos utilizando autohemoterapia mayor aplicando cinco dosis de ozono por animal a una concentración de 25 µg/ml, se obtuvieron muestras de sangre 24 horas antes y 24 horas después de cada aplicación y un último muestreo 15 días después de la última aplicación, los resultados mostraron que los analitos se mantuvieron dentro de los valores de referencia durante todo el estudio, únicamente reportaron un ligero incremento en monocitos y linfocitos pero siempre dentro de los valores de referencia, esto puede ser porque el ozono tiene un efecto inmunoestimulador al activar a los neutrófilos y síntesis de citocinas. (Suárez Alfredo Francisco, 2020). En este estudio en GO, se presentó

un aumento de la bilirrubina no conjugada, disminución de la albúmina, aumento de la globulina y la relación albumina/ globulina disminuida en uno de los caballos antes de iniciar el tratamiento con gel de aceite de girasol ozonizado, esto se puede atribuir a una inflamación crónica, así mismo se observó una disminución en el bicarbonato lo cual se relaciona con una disminución de producción in vitro, por el contrario al día 14 los valores alterados se encontraron dentro de los valores de referencia, lo cual se puede relacionar con el efecto antiinflamatorio que se ha reportado con la administración de ozono (Barroetabeña et al., 2002).

El valor promedio de cloro en GO también se encontró por encima de los valores de referencia, al revisar individualmente a los caballos, se observó que los individuos que presentaban pérdidas en el bicarbonato se podían relacionar con una acidosis metabólica hiperclorémica por pérdida del bicarbonato, el cual puede estar afectado por pérdidas en el tracto gastrointestinal, o por insuficiencia renal, posteriormente estos niveles de bicarbonato en sangre se mantuvieron dentro de los valores de referencia al término del tratamiento (Walton Raquel et al., 2021).

En uno de los caballos se presentó anemia ligera que puede estar relacionada a la presencia de úlceras gástricas tipo 6, en este tipo de lesión encontramos sangrado constante e inflamación crónica en la cual hay producción de citocinas inflamatorias (interferón-  $\gamma$ , TNF -  $\alpha$ , IL-1), las cuales tienen un efecto inhibidor de la producción de eritropoyetina, provocando una disminución en la eritopoyesis. Al término del tratamiento los valores afectados se encontraron dentro de los valores de referencia (Walton Raquel et al., 2021).

En perros y gatos con heridas postquirúrgicas se evaluó la eficacia en la regeneración tisular con ozono tópico y ozono subdermico, ambas vías de

administración resultaron eficaces en la aceleración del proceso de cicatrización, ambos procedimientos mostraron una reducción del tamaño de incisión de un 60% al día 5 de tratamiento, el tratamiento subdermico demostró una mayor eficacia en perros, en gatos el tratamiento tópico presentó mayor eficacia, lo podemos comparar con la acción del aceite de girasol ozonizado sobre la úlcera gástrica en el equino, el ozono presenta un efecto sobre las heridas ya sea en piel o en mucosa que favorece la regeneración tisular en menor tiempo en comparación con otros tratamientos, esto por su efecto sobre los dobles enlaces celulares que promueven la liberación de citocinas y factores de crecimiento que favorecen la regeneración celular y la disminución en la inflamación local (De et al., 2019)

Se evaluó por análisis de hemograma, bioquímica sanguínea, producción de especie reactivas de oxígeno por citometría de flujo y cuantificación de fibrinógeno plasmático a 12 caballos clínicamente sanos que fueron tratados por vía rectal con ozono en gas a una concentración de 25 $\mu$ g/ml por 10 aplicaciones (una al día), en los parámetros evaluados con hemograma se presentó un aumento de eritrocitos debido a que el ozono mejora la oxigenación eritrocitaria, lo cual favorece el aporte sanguíneo a los tejidos, logrando que al tener más oxígeno las células se regeneren con mayor velocidad, por lo que podemos pensar que en los caballos del GO, hubo un aumento de la oxigenación celular permitiendo resultados favorables al día 14 de tratamiento, siendo mayor la regeneración de la mucosa en comparación con GPO. (Suárez Alfredo Francisco, 2020)

En cuanto GPO a pesar de recibir un tratamiento comúnmente utilizado en caballos con síndrome de úlcera gástrica, en este estudio no se presentó un

efecto terapéutico en 14 días aun cuando se administró siguiendo las indicaciones reportadas en la literatura. Se ha evaluado el efecto de omeprazol en caballos, en el cual se encontró que el omeprazol al ser un inhibidor de la bomba de protones es más eficaz en el tratamiento de úlcera gástrica en equinos que la ranitidina la cual es un antagonista de receptores de histamina ( $H_2$ ), el estudio constó de un tratamiento por 58 días en el cual los caballos afectados tuvieron buena regeneración de la mucosa pero a los caballos que se les retiró el tratamiento antes de finalizar el periodo de estudio, a los 28 días reincidieron con el síndrome de úlcera gástrica. Por lo anterior podemos concluir que el uso de omeprazol tiene efectos terapéuticos si se administra por periodos de tiempo prolongados, por lo que en este estudio al someterse a un tratamiento de 14 días los caballos tratados con omeprazol no mostraron mejoría de las lesiones a diferencia de los tratados con el gel de aceite de girasol ozonizado (Andrews et al., 1999).

El omeprazol ha demostrado tener un efecto sobre la absorción de calcio a niveles sericos, se evaluó el efecto de absorción en caballos los cuales tenían una dieta que contenía carbonato de calcio. Al evaluar dos grupos de estudio se demostró un efecto reductor en la digestibilidad y absorción del calcio de un 18% en aquellos caballos que fueron sometidos tratamiento con omeprazol, por lo que podemos concluir que es necesario un tratamiento prolongado de omeprazol, pero se tendrá como consecuencia una acción sobre la mucosa y disminución en la absorción de calcio y las posibles consecuencias que deriven de esta situación. Lo podemos comparar con el aceite vegetal ozonizado, el cual demostró seguridad en los niveles de analitos evaluados en el hemograma y bioquímica (Pagan et al., 2020).

El gel de aceite de girasol ozonizado demostró su efecto terapéutico utilizándolo solo, es de interés continuar con su evaluación terapéutica sobre todo si este pueda presentar sinergia con algún otro fármaco que permita reducir los tiempos de tratamiento o cantidad de producto, como el omeprazol o ranitidina, esto nos daría más información útil para mejorar el tratamiento de la úlcera gástrica. Por otra parte, sería conveniente realizar un estudio secundario para establecer los tiempos de tratamiento adecuados de acuerdo con los distintos grados de úlcera gástrica, ya que al administrarse por 14 días se presentaron disminuciones de lesión de hasta dos grados en promedio, sin embargo existen casos más severos de úlcera gástrica a los evaluados en este estudio que podrían requerir de un periodo de tratamiento diferente. Otra posibilidad podría enfocarse en una reformulación del producto que permita administrar la dosis terapéutica adecuada en menor volumen de aplicación.

## **7. CONCLUSIONES**

En este estudio se demostró que el tratamiento con un gel de aceite de girasol ozonizado de nueva formulación puede tener un efecto terapéutico sobre la mucosa de los equinos con síndrome de úlcera gástrica, tal como se ha reportado en otros estudios con el uso de ozono y demostrando una mejor eficacia en comparación con el tratamiento convencional de omeprazol en el mismo tiempo de tratamiento. Este preparado de aceite de girasol ozonizado garantiza la actividad reportada en la literatura de los derivados de ozono disminuyendo la inflamación y favoreciendo la regeneración, además de garantizar seguridad durante 14 días de tratamiento. Es conveniente realizar estudios complementarios para determinar otros tiempos de tratamiento o efectos sinérgicos con otros fármacos.

## **8. REFERENCIAS**

1. Andrew F, Bernard w., Byars D, Cohen N. Recommendations for the diagnosis and treatment of equine gastric ulcer syndrome (EGUS): The Equine Gastric Ulcer Council. *Equine Vet Educ.* el 26 de abril de 1999;11(5):262–72.
2. Macallister CG, Andrews FM, Deegan E, Ruoff W, Olovson SG. A scoring system for gastric ulcers in the horse. *Equine Vet J.* 1997;29(6):430–3.
3. Bertone J. Prevalence of gastric ulcers in elite, heavy use western performance horse. AAEP proceedings . 2000;256–9.
4. White Nathaniel A., Moore James N., Mair Tim S. *The Equine Acute Abdomen.* 2009.
5. Bradley G. Cunningham´s Textbook of veterinary Physiology . 2014.
6. Luthersson N, Nadeau JA. Gastric ulceration. En: *Equine Applied and Clinical Nutrition: Health, Welfare and Performance.* Elsevier Ltd.; 2013. p. 558–67.
7. Trigo F, Valero E. *Patología general veterinaria* . 6a ed. 2017. 121–196 p.
8. Marvin Sketch . 2022.
9. Menéndez Silvia, González Ricardo, Ledea Oscar, Hernández Frank. Ozono aspectos básicos y aplicaciones clínicas . primera edición. Editorial CENIC; 2008.
10. Bocci V. *Toxicology and Applied Pharmacology* . 2006;493–504.
11. Andrews F, Buchanan B., Elliot S., Clariday N., Edward L. *Gastric ulcers in horses [Internet]*. 2005. Disponible en:  
<https://www.researchgate.net/publication/284235815>
12. Jubb, Kennedy, Palmer´s. *Pathology of domestic animals* . Vol. 2. Ontario Canada : Elsevier; 2016.
13. Jose A, Jaime P, Leda B.conceptos generales sobre ulceración gastrica de los caballos. Parte 1 generals concepts in horses gastric ulceration. parte 1. Vol. 4, Rev. Colombiana cienc. Anim. 2012.
14. Ramón J, Aranzales M, Geraldo I, Silveira E, Ii A. O estômago equino: agressão e mecanismos de defesa da mucosa. 2013;43(2):305–13.
15. Klein BG. Cunningham. *Fisiología Veterinaria [Internet]*. Cunningham. *Fisiología Veterinaria*. España ; 2014. Disponible en:  
<http://evolve.elsevier.com/Klein/physiology>
16. Andrews F. *New Perspectives in Equine Gastric Ulcer Syndrome*. Vol. 25, *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*. 2009. p. 283–301.

17. Bell RJW, Mogg TD, Kingston JK. Equine gastric ulcer syndrome in adult horses: A review. *N Z Vet J.* 2007;55(1):1–12.
18. Lorenzo Figueroa Mireia, Alfred M, Merritt. Effects of exercise on gastric volume and pH in the proximal portion of the stomach of horse. *American Journal of veterinary research .* 2002;1481–7.
19. Malmkvist J, Poulsen JM, Luthersson N, Palme R, Christensen JW, Søndergaard E. Behaviour and stress responses in horses with gastric ulceration. *Appl Anim Behav Sci.* el 31 de diciembre de 2012;142(3–4):160–7.
20. Abutarbush SM, Carmalt JL. *Equine Endoscopy and Arthroscopy for the Equine Practitioner.* 2008.
21. Cole Cynthia, Bentz Bradford, Maxwell Lara. *Equine Pharmacology.* Oxford ; 2015.
22. Didier Ruiz JB, Alonso Zuluaga DA, Victoria Gutierrez JE, Catalina García SG, Toro JG, Mauricio Aristizábal SO. Effect evaluation of the feeding, and administration of omeprazole pellets orally on gastric juice pH in adult horses. 2012;
23. Andrews FM, Sifferman RL, Bernard W, Hughes FE, Holste JE, Daurio CP, et al. Efficacy of omeprazole paste in the treatment and prevention of gastric ulcers in horses. *Equine Vet J Suppl.* 1999;(29):81–6.
24. Didier Ruiz JB, Alonso Zuluaga DA, Victoria Gutierrez JE, Catalina García SG, Toro JG, Mauricio Aristizábal SO. Effect evaluation of the feeding, and administration of omeprazole pellets orally on gastric juice pH in adult horses\*. 2012.
25. Téllez E, Ocampo L, Summano H. Pharmacodynamic study of a long-acting parenteral formulation of omeprazol in horse . 2005;
26. Schwartz Adriana. *Guía para el uso médico del ozono : fundamentos terapéuticos e indicaciones.* Aepromo; 2011.
27. Re Lambreto, Mohamed N. Mawsouf, Mendez Silvia, León Olga, Sánchez Gregorio, Hernández Frank. *Ozone Therapy Clinical and Basic Evidences of its Therapeutic potential . Medical Research .* 2008;17–26.
28. Barroetabeña A, Sánchez A, Guerra J. *Acción del aceite ozonizado sobre el proceso inflamatorio en heridas de piel de animales de experimentación.* Facultad de ciencias médicas . 2002;

29. Bocci, Di Paolo. Ozone therapy. 2004.
30. Travagli V, Zanardi I, Valacchi G, Bocci V, Wertz PW. Ozone and Ozonated Oils in Skin Diseases: A Review. *Mediators Inflamm.* 2010;2010.
31. Scwhartz Adriana, Sula Pedro, Martínez Gregorio. La ozonoterapia y su fundamentación científica artículo original. España; 2012.
32. Bocci V. Biological and clinical effects of ozone. Has ozone therapy a future in medicine? *British journal of biomedical science* . 1999;270–9.
33. Calin Repciuc. Ozone Therapy in Veterinary Medicine [Internet]. 2016. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/347464589>
34. Zamora Rodríguez ZB, González Álvarez R, Menéndez Cepero S, Hernández Rosales F. Efecto Citoprotector del Oleozon ® Oral en el. Vol. 36, Revista CENIC Ciencias Biológicas. 2005.
35. Martínez Sánchez G. Revisión Bibliográfica Racional científico para las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización. Official Journal of Aepromo (Spanish Association of Medical Professionals in Ozone Therapy) Madrid. 2021;11(1):201–37.
36. Martínez-Sánchez G, Re L, Perez-Davison G, Delaporte RH. Las aplicaciones médicas de los aceites ozonizados, actualización artículo original. 2012.
37. Rodríguez Zamora Z, Carvajal Yousy G. org ®-Comunidad Virtual Veterinaria.org ®-Veterinaria Organización S.L.® España Ozonized Sunflower Oil on Myeloperosidase Activity in the Model of Ear Oedema in Mouse) [Internet]. Vol. VII. 2006. Disponible en:  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvetVol.VII,Nº12,Diciembre/2006->  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n121206.html>
38. Abreu-Villela P, Ferraro M, Rodrigues RR, Ferro DG, Fantoni DT, Koh IHJ, et al. Ozone Therapy in the Prevention of Dental Plaque Formation in Dogs. *J Vet Dent.* el 1 de marzo de 2021;38(1):18–23.
39. Vogel C. Complete Horse Care Manual. United states; 2011.
40. Real Cesar Octavio. Zootecnia Equina 1. Trillas . 1990;1 edición.
41. Halbmayr Edeltraud. Propuesta de dosificación de medicamentos en el caballo . 2004. 62–63 p.
42. Gpower . 2023.
43. Varga Molly. Textbook of rabbit medicine. 2022 jul.
44. Archer Debra. Handbook of Equine Emergencies. Liverpool ; 2013.

45. Spużak J, Jankowski M, Kubiak K, Glińska-Suchocka K, Ciaputa R. A modified Sydney system for the diagnosis of chronic gastritis in dogs. *Acta Vet Scand.* el 12 de agosto de 2020;62(1).
46. Nakamuro K, Sakazaki H, Okuno T, Ueno H. Suppressive effects on immune cells and oxidative cytotoxicity of ozonated olive oil. *World ozone congress* . 2005;1–6.
47. de Siqueira Silva Júnior JI, dos Santos CSF, Da Silva BM, dos Santos IFC, Ferro BS, Barros TIS, et al. Topical ozone therapy in the treatment of pharmacodermia in a dog (*canis lupus familiaris*). *Acta Sci Vet.* 2019;47.
48. Suárez Alfredo Francisco. Determinación de los efectos de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos (*Equus ferus caballus*) clínicamente sanos. Facultad de medicina veterinaria y zootecnia universidad de córdoba. 2020;
49. Walton Raquel, Cowell Rick, Valenciano Amy. Equine Hematology, Cytology, and Clinical Chemistry [Internet]. 2021. Disponible en: <https://lccn.loc.gov/2020004372>
50. De F, Chonillo F, Manzo CG. Ozone in the healing process of surgical wounds in dogs and cats. Vol. 5, *Journal of Asia Pacific Studies*. 2019.
51. Pagan JD, Petroski-Rose L, Mann A, Hauss A. Omeprazole Reduces Calcium Digestibility in Thoroughbred Horses. *J Equine Vet Sci.* el 1 de marzo de 2020;86:102851.