



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“MANUAL DEL USO DE LA OZONOTERAPIA EN  
PERROS”**

# **TESINA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

**ANA NELY COLÍN GONZÁLEZ**

**ASESOR:**

MVZ. ESP. DESIDERIO RODRÍGUEZ VELÁZQUEZ

**Revisores:**

M en C. Soledad Díaz Zarco

M en C. Marco Antonio Barbosa Mireles.



Toluca México, mayo de 2016.

**MANUAL DEL USO DE LA OZONOTERAPIA EN PERROS**

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios**

*Gracias al todo poderoso por permitirme  
Concluir mis estudios, por guiarme  
y acompañarme en mi camino.*

### **A mi madre**

*Este logro también es tuyo, porque tú me inspiraste  
a seguir adelante a pesar de los obstáculos,  
tu amor y ayuda han sido  
Fundamentales y me dan fuerza para seguir  
adelante, gracias mamá.*

### **A mi hermana**

*Por acompañarme a lo largo de este trayecto  
y ser un ejemplo a seguir.*

### **A mi familia**

*Por estar ahí en todo momento y brindarme  
su apoyo en todos los aspectos.*

### **A mi asesor**

*Al MVZ Esp. Desiderio Rodríguez Velázquez  
por dirigirme en la realización de este trabajo,  
por brindarme sus conocimientos y orientarme en todo momento.*

### **A mis revisores**

*Por otorgarme parte de su tiempo para dar las observaciones en el presente  
trabajo y por su apoyo.*

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	3
MATERIAL.....	5
MÉTODO.....	6
LÍMITE DE ESPACIO.....	7
LIMITE DE TIEMPO.....	7
REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
1. ANTECEDENTES DE LA OZONOTERAPIA.....	14
1.1 Historia del uso del Ozono.....	15
1.2 ¿Qué es el Ozono?.....	16
1.3 Propiedades físico químicas del Ozono.....	16
1.4 Obtención del Ozono.....	18
2. ACCIÓN BIOLÓGICA Y EFECTO DEL OZONO.....	23
2.1 El Ozono en el metabolismo del Oxígeno.....	23
2.2 Ozono en el estrés oxidativo.....	25
2.3 Ozonoterapia en el balance Redox.....	26
2.4 Efecto antiinflamatorio.....	29
2.5 Efecto analgésico.....	30
2.6 Efecto modulador de la respuesta inmune.....	31
2.7 Efecto anti tumoral.....	33
2.8 Efecto cicatrizante.....	35
2.9 Efecto germicida.....	36
3. DOSIFICACIÓN Y VIAS DE ADMINISTRACIÓN.....	38
3.1 Vías de administración sistémica.....	39

3.1.1	Autohemoterapia Mayor (AHT-M) .....	39
3.1.2	Autohemoterapia menor (AHM-m).....	40
3.1.3	Infiltración Intraperitoneal.....	41
3.1.4	Intradiscal.....	42
3.1.5	Intraarticular .....	43
3.1.6	Subcutánea .....	43
3.2	Administración tópica y local.....	44
3.2.1	Insuflación rectal .....	44
3.2.2	Insuflación por bolsa .....	45
3.2.3	Aplicación de agua, aceite y crema ozonizados.....	47
4.	PRÁCTICA TERAPÉUTICA DE LA OZONOTERAPIA .....	50
4.1	Uso de Ozono en Otitis.....	50
4.2	Uso de Ozono en piodermas .....	52
4.3	Factores de crecimiento derivados de plaquetas activados con Ozono. Proceso de obtención.....	54
4.4	Uso de Ozono en patologías músculo-esqueléticas .....	60
4.5	Uso de Ozono en carcinoma de células escamosas. ....	62
4.6	Uso de Ozono en osteoartritis. ....	63
5.	APLICACIÓN DE OZONO EN CASOS CLÍNICOS .....	66
5.1	Aplicación intra-articular .....	66
5.2	Técnica de embolsado.....	68
5.3	Auto hemoterapia menor. ....	74
5.4	Insuflación rectal.....	78
5.5	Infiltración paravertebral .....	81
	CONCLUSIONES .....	85
	LITERATURA CITADA .....	86

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Obtención de la molécula de Ozono.....	17
Figura 2 Esquema del funcionamiento de un generador de Ozono.....	20
Figura 3. Generador de Ozono de uso veterinario.....	22
Figura 4. Material empleado en la autohemoterapia menor.....	41
Figura 5. Sonda para insuflación rectal .....	45
Figura 6 Introducción de la sonda vía rectal previamente lubricada .....	45
Figura 7 Ozonoterapia con embolsado.....	47
Figura 8 Extracción de la sangre para centrifugar .....	56
Figura 9. Obtención de las fracciones de eritrocitos, leucocitos y plasma .....	57
Figura 10 Sangre centrifugada .....	57
Figura 11. Extracción del plasma rico en plaquetas .....	58
Figura 12 Extracción de Ozono del generador .....	59
Figura 13 Mezcla del Ozono con el plasma rico en plaquetas.....	59
Figura 14. Radiografía medio-lateral de la articulación escapulo-humeral con osteoartrosis .....	67
Figura 15 Paciente con otitis causada por traumatismo .....	69
Figura 16 Otitis al inicio del tratamiento con Ozono.....	72
Figura 17 Aplicación de embolsado con Ozono.....	73
Figura 18. Cicatrización y remoción total de la otitis, al término de las sesiones con Ozono .....	73
Figura 19. Alopecia en región lateral del abdomen en paciente con dermatitis atópica .....	75
Figura 20. Extracciones de la muestra de sangre de la vena yugular .....	76
Figura 21. Vaciado de la sangre a la jeringa con Ozono .....	76
Figura 22. Aplicación de la autohemoterapia menor.....	77
Figura 23. Paciente diagnosticado con dermatitis atópica al término de las sesiones de ozonoterapia mostrando el crecimiento de pelo. ....	78
Figura 24. Aplicación de insuflación rectal.....	80
Figura 25. Radiografía lateral del segmento Toracolumbar de Roy, donde se observan puentes óseos (picos de Loro) marcados en círculo rojo en L1- L2.....	82
Figura 26 infiltración de Ozono paravertebral .....	83
Figura 27 Paciente al término de las sesiones de infiltración paravertebral con Ozono .....	83

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Concentraciones de Ozono que se manejan en medicina veterinaria de acuerdo a diferentes patologías, además de su vía de administración.....49

Tabla 2. Resultados de biometría hemática de paciente con otitis.....70

Tabla 3. Resultados de química sanguínea de paciente con otitis.....70

Tabla 4. Resultado de biometría hemática de paciente con infección viral.....79

## **RESUMEN**

La ozonoterapia es una técnica alternativa válida y complementaria que consiste en la utilización del Ozono médico como elemento catalizador, el cual trata de mejorar la calidad de vida humana y animal. La ozonoterapia se caracteriza por la simplicidad de su aplicación, alta efectividad, buena tolerancia, y prácticamente con ausencia de efectos colaterales. En la clínica veterinaria se está implementando el uso de la ozonoterapia con fines terapéuticos, dados los resultados obtenidos en estudios realizados con anterioridad en medicina humana y demostrando su efectividad y aplicándose como tratamiento coadyuvante en enfermedades de los perros. El objetivo del presente trabajo es documentar con información científica el uso de la ozonoterapia aplicada en diferentes enfermedades patológicas presentes en los perros domésticos. La información para realizar el presente manual se obtuvo principalmente de los expedientes de casos clínicos pertenecientes al Hospital Veterinario Valle, además de la revisión de artículos de revistas especializadas, documentos electrónicos, tesis y memorias orientadas al uso de la ozonoterapia. El manual consta de capítulos en los cuales se hace mención de los antecedentes, la acción biológica del Ozono, dosis y vías de administración, además de la complementación con información obtenida de los casos en los que se aplicó el tratamiento con Ozono. Se documentó el uso del Ozono en problemas dermatológicos en pequeñas especies con casos clínicos, la ozonoterapia en el tratamiento de pacientes con problemas articulares, asimismo, se menciona el beneficio que se obtiene con la aplicación del Ozono en pacientes con problemas tumorales y enfermedades del sistema inmunológico.

Palabras clave: ozonoterapia, aplicación, perros.

## **INTRODUCCIÓN**

La búsqueda de nuevas técnicas terapéuticas utilizadas en la clínica veterinaria han orientado al médico veterinario a profundizar temas relacionados con la medicina alternativa, que ofrece en los pacientes una manera fácil, no invasiva y con escasos efectos colaterales, en diferencia con las terapias farmacológicas que hacen uso de medicamentos los cuales expresan mayor número de efectos adversos.

Dentro del actual trabajo se hace mención de la utilidad del Ozono en los diferentes casos clínicos que hasta la fecha se han presentado en el Hospital Veterinario Valle que se encuentra en Valle de Bravo, Estado de México, además en el Centro Médico Veterinario ubicado en Toluca Estado de México, de la misma manera se hace mención del proceso que se lleva a cabo en los diferentes casos, las diferentes vías de administración y los resultados obtenidos en los pacientes durante el tratamiento con Ozono.

El uso de la ozonoterapia ha obtenido relevancia en el tratamiento de diversas enfermedades que afectan al hombre, sin embargo su utilización en el campo de la medicina veterinaria se ha visto limitado. Pero por sus amplias posibilidades de utilización en esta área de la medicina se ha incrementado en los últimos años (Edifarm.com, 2015).

La Ozonoterapia ha sido una técnica utilizada desde siglos pasados con diferentes usos terapéuticos. Con el inicio del descubrimiento del Ozono en 1840 por el profesor de la Universidad de Basilea, Christian Frederick Schönbein, que relacionó los datos de los cambios en las propiedades del Oxígeno con la formación de un gas en particular al cual llamó Ozono (de la palabra griega ozein “oloroso, originado por descargas eléctricas atmosféricas y con una elevada capacidad oxidante (Scwhartz, 2012).

Las características del Ozono le confieren propiedades terapéuticas y biológicas que posibilitan la aplicación de la terapia en un amplio campo de especialidades. En medicina ha adquirido relevancia debido a su eficacia en enfermedades asociadas al déficit de las defensas antioxidantes. En enfermedades del sistema inmune, además de la aplicación en casos en donde se reporta un deficiente aporte de Oxígeno en los tejidos, enfermedades degenerativas e infecciones (Zamora, 2012).

## **JUSTIFICACIÓN**

El presente trabajo es realizado con la finalidad de fomentar el uso de la ozonoterapia como medicina alternativa en la clínica veterinaria, debido a la importancia que ha tenido su aplicación en los últimos años.

A pesar de que la aplicación del Ozono es una terapia con gran efectividad, posee menor trascendencia en medicina veterinaria, debido a la falta de información obtenida en cuanto a su uso, la información que hay en medicina es extensa, en comparación con las investigaciones alcanzadas en medicina veterinaria.

El motivo por el cual se estudia este tema es difundir los resultados favorables obtenidos con la utilización del Ozono en diferentes problemas que afectan la salud de las pequeñas especies, principalmente dermatológicos, articulares, tumorales e inmunodeficiencias, entre otros.

En medicina se han establecido dosificaciones y vías de administración de acuerdo a los procesos patológicos por los que cursan los pacientes, con base en estas, las investigaciones realizadas en medicina veterinaria han orientado a los veterinarios a establecer dosificaciones de acuerdo a la experiencia que se ha tenido en cada caso clínico, debido a que no existe como tal una dosificación determinada. Por ende ésta es una de las razones de la realización de este trabajo.

## **OBJETIVOS**

### General

- Documentar con información científica el uso de la ozonoterapia aplicada en diferentes enfermedades patológicas presentes en los perros domésticos.

### Específicos

- Documentar el uso del Ozono en problemas dermatológicos en pequeñas especies con casos clínicos.
- Documentar la ozonoterapia en el tratamiento de pacientes con problemas articulares.
- Difundir el beneficio que se obtiene con la aplicación del Ozono en pacientes con problemas tumorales y enfermedades del sistema inmunológico.

## **MATERIAL**

### Bibliográfico:

- Artículos de revistas especializados
- Expedientes de casos clínicos
- Documentos electrónicos
- Tesis orientadas al uso de la ozonoterapia
- Sitios Web
- Memorias

## **MÉTODO**

Se realizará ozonoterapia a los pacientes que han acudido a consulta al Hospital Veterinario Valle, con diferentes patologías, entre ellas problemas articulares, dermatológicos, inmunológicos y locomotores principalmente.

De acuerdo a la literatura establecida se aplicará la ozonoterapia haciendo uso de las diferentes vías de administración, y refiriendo la dosis y concentración del Ozono de acuerdo a la región a tratar.

La preparación de los pacientes se dará de acuerdo al problema que se trate, en el caso de la aplicación intra articular, los pacientes serán sometidos previamente a sedación, debido al grado de irritación que puede causar la inyección.

Para la administración del Ozono vía rectal se utilizarán sondas especiales para la insuflación, en el caso del embolsado se usan bolsas de nylon que es un material resistente al Ozono, para su uso correcto, es importante que la parte del cuerpo a tratar esté sellada herméticamente para que no exista alguna fuga.

Para la aplicación por vía rectal, el paciente se colocará en decúbito lateral, se introduce la sonda en el recto y de esta manera se pasa el Ozono por la sonda conectada a una jeringa, normalmente son de una capacidad de 20 a 50 ml.

Con respecto a las terapias sistémicas de Ozono como hemoterapia menor, hemoterapia mayor (no recomendada por la generación de émbolos) intra articular e intra discal principalmente se realizará la adecuada antisepsia de la región en donde será administrado el Ozono.

El material que se utiliza para los pacientes a tratar es totalmente estéril, hablando de las agujas y jeringas.

Las terapias que se aplicarán a cada uno de los paciente serán con un número determinado de sesiones, con intervalos que van a variar según lo necesiten y dependiendo del padecimiento que presenten.

## **LÍMITE DE ESPACIO**

Biblioteca Campus el Cerrillo de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Autónoma del Estado de México, así como la hemeroteca del mismo espacio académico.

Hospital Veterinario Valle.

Centro Médico Veterinario

Biblioteca y hemeroteca de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Páginas de internet.

## **LÍMITE DE TIEMPO**

El presente trabajo se llevó a cabo de marzo de 2015 a marzo de 2016.

## **REVISIÓN DE LITERATURA**

La Ozonoterapia, (Ozono = gas natural; terapia = tratamiento); es una técnica alternativa válida y/o complementaria, que consiste en la utilización del gas Ozono como elemento catalizador, el cual trata de mejorar la calidad de vida humana, animal y vegetal. Además normaliza las funciones básicas de nuestro ecosistema. Ésta puede ser aplicada en forma individual o coadyuvar como aditivo complementario con otras terapias de ejecución, mejorando la resolución final (Edifarm.com, 2015).

El Ozono es un gas en condiciones atmosféricas normales, y muy inestable, debido a su alto nivel de energía. Esta es la razón del porqué esta tecnología conlleva la necesidad de equipos sofisticados para su generación, conducción y dosificación, así como instrumentos y procedimientos especiales para su manejo y administración (Pacheco, 2012).

En la atmosfera se localiza integrando la llamada capa de Ozono que nos protege de la radiación ultravioleta que produce el sol, de forma natural dichas radiaciones descomponen las moléculas de Oxígeno presentes en el aire en átomos libres, los cuales se unen en el ambiente con otras moléculas de Oxígeno para constituir el Ozono (Menéndez, 2008).

El Ozono utilizado en medicina es producido mediante unos dispositivos denominados generadores de Ozono. La molécula de Ozono (O<sub>3</sub>), se forma por las numerosas uniones de una molécula de Oxígeno (O<sub>2</sub>) con un átomo libre de oxígeno (Vidal, 2008).

Un aspecto importante por mencionar es que de la diversidad de las acciones biológicas alcanzan resultados terapéuticos cuando, el Ozono es aplicado a

dosis adecuadas y por una vía que no resulte dañina para el organismo, es así como se evita producir reacciones adversas y daños genotóxicos, y el gran efecto que genera hace posible su uso en gran variedad de especialidades médicas (Menéndez, 2008).

Cuando se administra Ozono a un paciente, se desencadenan múltiples reacciones bioquímicas, farmacológicas, inmunológicas y posiblemente psico-neurológicas (Zerecero, 2013).

Los principales aportes del uso de Ozono en el campo de la medicina fueron durante la primera guerra mundial, empleado para el tratamiento de heridas infectadas y desinfección del instrumental quirúrgico, debido a las propiedades germicidas que posee el Ozono (Bernal, 2014).

La efectividad que se ha reportado en los últimos años con el empleo del Ozono ha permitido que incremente su práctica en medicina veterinaria, utilizándose en muchas afecciones presentes en pequeñas y grandes especies.

Las investigaciones realizadas en el siglo XIX sobre las propiedades del Ozono mostraron que es capaz de reaccionar con la mayoría de sustancias orgánicas e inorgánicas hasta su oxidación completa, es decir, hasta la formación de agua, óxidos de carbono y óxidos superiores (Schwartz, 2012).

Los tres principios básicos que deben considerarse antes de iniciar cualquier procedimiento Ozono terapéutico son los siguientes:

- a)** Primum non nocere: Ante todo no hacer daño.
- b)** Escalonar la dosis: En general, empezar siempre con dosis bajas e incrementarlas lentamente, excepto en úlceras o heridas infectadas, donde se

procederá de forma inversa (empezar con concentraciones altas, e ir disminuyendo en función de la mejoría).

**c)** Aplicar la concentración necesaria: Concentraciones de Ozono mayores no necesariamente son mejores, al igual que ocurre en medicina con todos los fármacos (AEPROMO, Asociación Española de Profesionales en Ozonoterapia, 2015).

La ozonoterapia es una técnica que va encaminada a ayudar en diversas enfermedades que se presentan en la clínica veterinaria. Sirve como coadyuvante debido a sus propiedades analgésicas, germicida, por mencionar algunas. Las enfermedades que se han tratado en los últimos años con la aparición de la ozonoterapia como medicina alternativa son: Problemas de la piel originadas por alergias, parásitos, bacterias u hongos, procesos tumorales, en enfermedades que afectan el sistema inmunitario, enfermedades infecciosas, parasitosis, enfermedades cardiovasculares (Vidal, 2014).

Entre los principales objetivos del Ozono se encuentra: mejorar la circulación sanguínea, mayor oxigenación de los tejidos, mejora el metabolismo de los ácidos grasos para que se activen las enzimas encargadas de controlar la oxidación celular (Schwartz, 2012).

El Ozono interactúa con los compuestos orgánicos que se encuentran presentes en los fluidos biológicos, lo primero que ocurre es la disolución del gas en dichos fluidos como: agua del plasma, líquido intracelular, extracelular, en la fina capa de agua que cubre la piel, o en mucosas de aparato digestivo y reproductor, entre otros. Inmediatamente reacciona con compuestos como antioxidantes, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos poliinsaturados. Como resultado obtenido de la reacción del Ozono con los compuestos se generan ERO (Especies Reactivas de

Oxígeno) que son parte del metabolismo biológico normal, que en cantidades adecuadas y controladas ejercen diferentes acciones biológicas que le confieren al Ozono un conjunto de propiedades terapéuticas (Zamora, 2012).

Los productos de ozonización son los obtenidos a partir de la reacción del Ozono con los compuestos del organismo, el mecanismo terapéutico que ejercen dichos productos no está bien definido actualmente pero se sabe que están implicados en un pulso oxidativo transitorio que actúa como un disparador metabólico celular, de tal manera actúan como moléculas de transducción de señales para iniciar una serie de cascadas metabólicas que terminan con el nombrado “pulso metabólico de la ozonoterapia” (Menéndez, 2008).

El estrés oxidativo es el resultado de someter a la célula a altos niveles de Oxígeno molecular y sus derivados EROS (Especies Reactivas de Oxígeno) dañando la función endotelial, de esta manera se convierte en un factor de disfunciones vasculares, la cual es importante en la fisiopatología de varias enfermedades vasculares incluyendo la arterioesclerosis, diabetes mellitus y en los procesos de daño inducido por isquemia reperusión. De tal manera que la función vascular es dependiente del balance oxidante y antioxidante, determinando la función endotelial (Rojas, 2009).

En cuanto a su efecto de oxigenación incrementa la producción de Difosfoglicerato (2-3 DPG), el cual se sabe que facilita la liberación de Oxígeno en los tejidos a partir de la oxihemoglobina.

El efecto del Ozono sobre el metabolismo del Oxígeno se explica a través de su acción promotora:

- Cambio en las propiedades reológicas de la sangre.
- Aumento de la velocidad de glicolisis en el eritrocito.

El Ozono reacciona de manera rápida con la bicapa lipídica, generando peróxidos de cadena corta que penetran en el eritrocito interviniendo directamente en el metabolismo, provocando una secuencia funcional de un controlado estrés oxidativo que establece finalmente el aumento de los sistemas antioxidantes.

De igual manera el Ozono establece una acción inmunomoduladora a partir de la síntesis y liberación de citocinas inmunoestimuladoras o inmunosupresoras.

(Aepromo, 2014).

Específicamente mencionando la acción que ejerce el Ozono sobre los glóbulos blancos produce una reacción en cadena, partiendo de esta un efecto inmunomodulador principalmente aceleración de la síntesis de anticuerpos, de producción de células citotóxicas CD8, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos y células asesinas (Rodekohl, 2015).

Las indicaciones terapéuticas del Ozono están fundamentadas en el conocimiento de que bajas concentraciones de Ozono pueden desempeñar funciones importantes dentro de la célula. Se han demostrado a nivel molecular diferentes mecanismos de acción que soportan las evidencias clínicas de esta terapia.

A concentraciones altas el Ozono es un gas muy tóxico y el olor que se percibe llega a ser irritante. Existen algunas contraindicaciones en el uso del Ozono, en cuanto a las vías de administración de acuerdo a estudios realizados, la única vía en la que se prohíbe la administración del Ozono es la pulmonar o inhalatoria, debido a su gran toxicidad que ejerce para los tejidos. Además la inyección intravenosa directa del Ozono corre el riesgo de provocar una embolia gaseosa y tener efectos letales. Otros casos en los que está contraindicado su uso son en trastornos de la coagulación sanguínea, hemorragia cerebral, alergia al Ozono e infarto al miocardio reciente (Bernal, 2014).

El Ozono actúa como un gas tóxico al ser respirado. Causa alteraciones de la densidad del tejido pulmonar, irritaciones del epitelio traqueal y enfisema. Naturalmente, hay una diferencia entre los efectos del Ozono médico y el Ozono producto de la contaminación ambiental atmosférica. El Nitrógeno contenido en el aire cuando se combina con el Ozono conduce a la formación de óxidos de Nitrógeno, que inducen una toxicidad tres veces superior a la del Ozono. Por ello el Ozono para fines médicos debe ser preparado con Oxígeno puro sin contenidos de Nitrógeno (Pacheco, 2012).

Durante el tratamiento con Ozono es necesario suspender todos los suplementos antioxidantes que contengan vitamina C y vitamina E. La presencia de estos compuestos en la sangre a concentraciones elevadas interfiere en la acción del Ozono como agente oxidante y por ende el buen curso de la terapia. Por lo tanto, las vitaminas o antioxidantes, se darán antes o después de la ozonoterapia, pero nunca durante el tratamiento (Asociación Española de Profesionales Médicos de Ozono, 2015).

## **1. ANTECEDENTES DE LA OZONOTERAPIA**

La ozonoterapia es la aplicación de Ozono con fines médicos para el tratamiento de diversas enfermedades presentes en la clínica veterinaria. Es considerada una terapia de la medicina alternativa que adquirió importancia a finales del siglo XVIII. El Ozono fue descubierto y descrito por el científico Holandés Martinus Van Marun en 1785 al percibir un olor distintivo que se generaba en zonas cercanas a maquinas que funcionaban con electricidad. Más tarde es investigado y aplicado por el médico alemán Christian Friedrich Schönbein en 1840 quien lo descubre y le da nombre de Ozono que proviene del griego “*ozein*” que significa oloroso (Menéndez, 2008).

En 1857 el químico alemán Werner Von Siemens dio a conocer el concepto de que el Ozono se deriva del Oxígeno, enseguida a partir de un tubo de inducción, construyó el primer generador de Ozono utilizado con fines médicos, que consta de dos electrodos interpuestos en una placa fija a una alta tensión que en presencia de Oxígeno podría generar la molécula de Ozono (Zerecero, 2013).

En 1860 el químico Francés Soret llegó a la conclusión de que la molécula de Ozono estaba compuesta de tres átomos de Oxígeno. Posteriormente el Químico Ingles Andrews, miembro de la Royal Society of London, fue el primero que verificó en pruebas de laboratorio las numerosas propiedades oxidantes y desinfectantes del Ozono.

Posteriormente en 1958 el Alemán Joachim Hansler desarrolló el primer generador médico de Ozono capaz de precisar dosis, asimismo Hansler estableció las bases claras y necesarias para el empleo técnico del Ozono en el campo médico, su trabajo permitió aclarar el problema de la dosificación y concentraciones exactas para su empleo en medicina (Bernal, 2014).

Los precedentes del uso de la ozonoterapia se mencionan a partir de la primera guerra mundial (1914-1918) Cuando el Doctor Albert Wolff recurrió a la aplicación de Ozono con excelentes resultados, como tratamiento para soldados con heridas infectadas, evitando así una futura gangrena (Schwartz, 2012).

La ozonoterapia es una técnica que consiste en la utilización de gas Ozono como elemento catalizador. Este Oxígeno modificado, denominado Ozono fue y está siendo empleado en tratamientos alternativos (Alvear, 2014).

La ozonoterapia se ha extendido en varios países principalmente Estados Unidos, Italia, España, Alemania, México, entre otros. Actualmente existen sociedades nacionales e internacionales de ozonoterapia en muchos países que permanecen afiliadas a la Asociación Internacional del Ozono. A pesar de esto, la ozonoterapia continúa provocando controversia y dudas, motivadas por el hecho de que el Ozono es uno de los peores contaminantes ambientales (Zamora, 2012).

### **1.1 Historia del uso del Ozono**

La ozonoterapia tiene su historia en medicina humana, iniciando con la aplicación de Ozono en heridas infectas que presentaban soldados durante la guerra, el médico observó que las heridas sanaban, y de esta manera descubre las propiedades bactericidas, del Ozono. A lo largo de los años se han realizado diferentes investigaciones y los numerosos resultados han orientado al personal médico a utilizar la terapia de igual manera en medicina veterinaria y en diferentes casos se obtuvo éxito.

Últimamente en pequeñas especies se presentan diversidad de enfermedades que tienen tratamientos con efectos positivos, pero en ocasiones no es tan favorable y

el paciente recae, de cierta manera el médico veterinario ha buscado otras alternativas para mitigar dichas afecciones.

Las enfermedades más comunes son las de tipo degenerativo que son tratadas con ozonoterapia además de su tratamiento convencional sin provocar efectos secundarios relevantes.

## **1.2 ¿Qué es el Ozono?**

El Ozono es un gas que se encuentra sobre la superficie de la tierra en la atmosfera, El Ozono se produce de forma natural con los rayos del sol y el relámpago, crea la llamada capa de Ozono que nos protege de la radiación ultravioleta. Las radiaciones poseen una elevada carga de energía que descompone las moléculas de Oxígeno presentes en el ambiente en átomos libres, de esta manera se combinan con otras moléculas de Oxígeno para componer la molécula de Ozono (O<sub>3</sub>) (Menéndez, 2008).

Se encuentra de manera natural en la estratósfera y puede olerse durante las tormentas eléctricas; ya que la descarga de los rayos entre las nubes y la tierra, catalizan la formación de Ozono a partir del Oxígeno atmosférico (Zerecero, 2013).

## **1.3 Propiedades físico químicas del Ozono**

La capa de Ozono se encuentra en la estratosfera específicamente es la segunda capa de la atmosfera, aproximadamente a 22 km de la superficie terrestre y puede alcanzar una concentración máxima de 10 partes por millón (ppm), volumen equivalente a 10µg/ml, esta capa absorbe la mayoría de la radiación ultravioleta emitida por el sol, protegiendo los sistemas biológicos de la tierra (Zerecero, 2013).

El Ozono es una forma alotrópica del Oxígeno que contiene un átomo más que el Oxígeno atmosférico. El Ozono es particularmente inestable se descompone de forma inmediata en Oxígeno diatómico, lo que hace difícil su transporte y almacenamiento en la práctica, por esta razón es necesario que su obtención se practique en el lugar y momento de su empleo (Menéndez, 2008).

El Oxígeno se encuentra formado por 2 átomos que en sus núcleos presentan protones (carga +) y neutrones (cargas + y -) y giran alrededor de cada núcleo: 3 órbitas de electrones de cargas negativas, la primera presenta 2 electrones, la segunda 8 y la tercera órbita tiene 6 electrones de los cuales 2 son compartidos con el otro átomo del Oxígeno. En esta unión es donde el aparato generador de Ozono produce una descarga eléctrica separando estos 2 átomos transformándolos en radicales libres que se unen a moléculas de Oxígeno (O<sub>2</sub>) formando (O<sub>3</sub>) (figura 1.)(González, 2011).

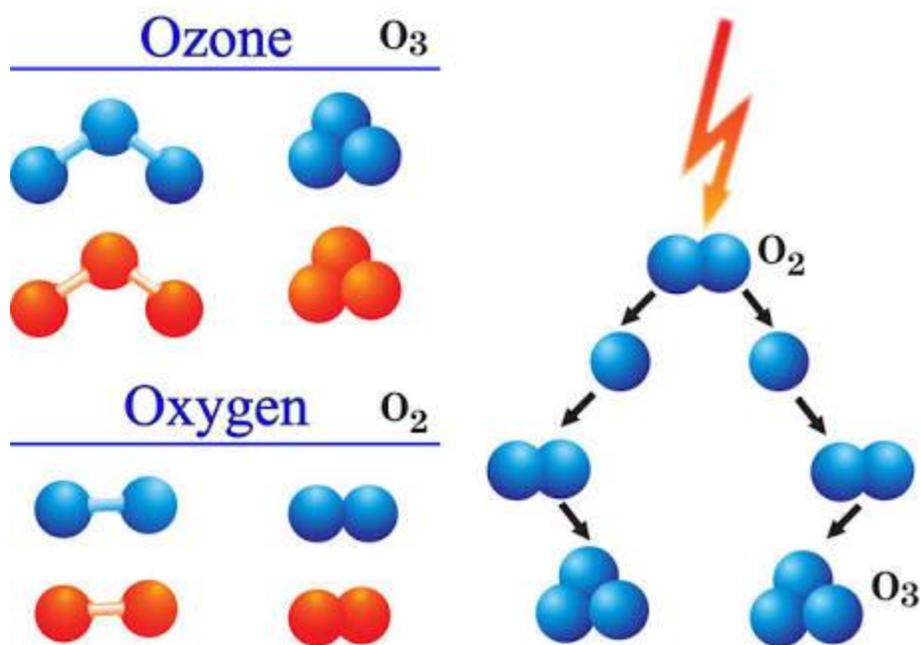


Figura 1 Obtención de la molécula de Ozono (Instituto Valenciano de Ozonoterapia).

El Ozono es un agente fuertemente oxidante, su potencial de oxidación resulta únicamente inferior al Flúor es el tercer oxidante más potente (Bernal, 2014).

El Ozono es un gas inestable, posee una elevada velocidad de descomposición que oscila en el orden de 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> mol/s. que no puede envasarse ni almacenarse, por tanto debe usarse de inmediato pues tiene una semivida de 40 min a 20 °C, es color azul cielo solo en altas concentraciones. Este gas además reacciona con una numerosa cantidad de compuestos tanto orgánicos como inorgánicos, se destaca su gran poder oxidante en disolución acuosa-acida (Schwartz, 2012).

Es un gas incoloro de olor penetrante, después de 20 minutos la concentración es del 60 a 70% de la concentración inicial, razón por la cual es importante producirlo en el momento en el que va a ser utilizado. En la terapia médica se mezcla con Oxígeno en la que la parte activa está constituida por el Ozono en cantidades mínimas (µg/ml) (Bernal, 2014).

Las investigaciones realizadas en el siglo XIX sobre las propiedades del Ozono mostraron que es capaz de reaccionar con la mayoría de sustancias orgánicas e inorgánicas hasta su oxidación completa, es decir, hasta la formación de agua, óxidos de carbono y óxidos superiores (Schwartz, 2012).

#### **1.4 Obtención del Ozono.**

El Ozono se produce en aquellos procesos que incluyen la presencia de Oxígeno, la molécula de dicho gas se genera por tres fuentes fundamentales de energía: Electrólisis química, descargas eléctricas y radiaciones de luz UV (Schwartz, 2012).

El Ozono, debido a sus características; solo debe producirse cuando sea necesario y utilizarse inmediatamente. Los requisitos del generador de Ozono que se emplea es que sea seguro y no tóxico, además fabricado con materiales

resistentes al Ozono como el acero inoxidable, titanium puro grado 2, teflón, poliuretano, además que se permita medir en tiempo real la concentración del Ozono por medio de un fotómetro fiable (Zerecero, 2013).

El Ozono utilizado en medicina es producido mediante unos dispositivos denominados generadores de Ozono. La molécula de Ozono (O<sub>3</sub>), se forma por la unión de una molécula de Oxígeno (O<sub>2</sub>) con un átomo libre de Oxígeno. Los átomos libres, y consecuentemente el Ozono, son el resultado de la disociación de las moléculas de Oxígeno cuando estas son sometidas a una fuerte descarga eléctrica de alto voltaje y alta frecuencia

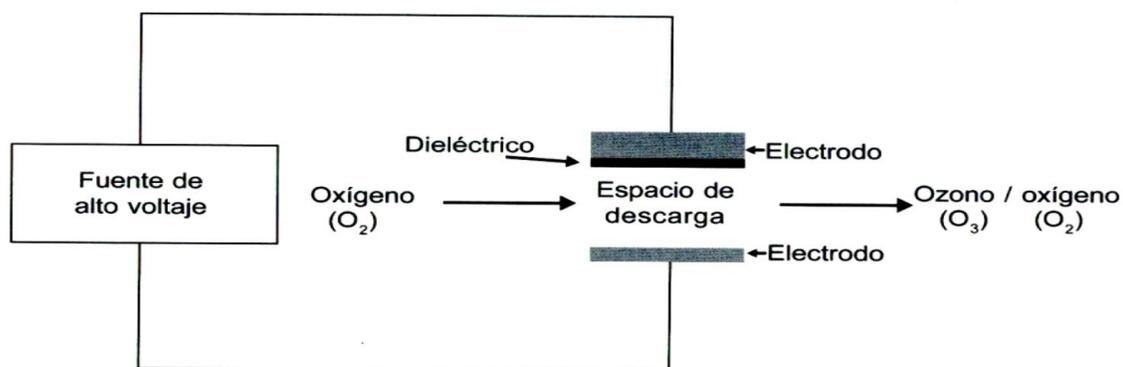
La ozonoterapia se fundamenta en el uso de un 5% de Ozono como máximo y un 95% de Oxígeno esto es llamado "Ozono médico" Un gran porcentaje de los generadores de Ozono se basan en el principio del generador Von Siemens (1857) que al producir descargas eléctricas de alto voltaje (alrededor de 4000 voltios) en el interior de un flujo de Oxígeno se produce la escisión de las moléculas de Oxígeno. La combinación de una molécula de Oxígeno con un átomo de Oxígeno es lo que permite la formación de la molécula de Ozono en una cantidad aproximada del 5% que es necesaria para la respuesta terapéutica que se pretende en los pacientes sometidos a ozonoterapia (Bernal, 2014).

Para poder generar la combinación de Ozono-Oxígeno para utilizarse con fines médicos el aparato debe emplear Oxígeno químicamente puro y no aire, ya que contiene un 85% de Nitrógeno. Por ende el Nitrógeno molecular (N<sub>2</sub>) al ser expuesto a las descargas de alta tensión se desintegrara atómicamente y favorecerá la integración de óxidos nitrosos altamente tóxicos (Bernal, 2014)

Se describe el método de la obtención del Ozono médico de los generadores actuales:

El generador médico de Ozono está compuesto de 2-4 tubos de alto voltaje, conectados en series para un programa electrónico, capaz de establecer voltajes diferentes (4000-13000 volts). La producción de Ozono en los generadores (fig. 2) se lleva a cabo en el sistema definido como la “corona de descarga” del ozonador, el Ozono es sintetizado cuando el Oxígeno pasa a través del espacio entre el alto voltaje y una superficie de electrodos, que crean un campo de energía. La energía de la descarga eléctrica permite romper las moléculas de Oxígeno en átomos; y el exceso de éstos forman la molécula triatómica de Ozono.

Figura 2 Esquema del funcionamiento de un generador de Ozono (Tomado de Menéndez, 2008).



Una vez que se termina de utilizar el generador, el Ozono sobrante no puede ser liberado en el ambiente; para seguridad del paciente y del personal médico, debe contarse con un destructor de Ozono y un aspirador que permita un adecuado cambio de aire (Zerecero, 2013).

Estos dispositivos producen concentraciones de Ozono entre 1 y 100 µg por ml de Oxígeno, que varían en relación a la finalidad terapéutica para la que se utilice.

La concentración de Ozono está determinada por tres parámetros:

1. Voltaje: la concentración final de Ozono aumenta con el voltaje, aunque no de manera proporcional.
2. Espacio entre los electrodos: esto sirve para modular un aumento gradual de la concentración de Ozono.
3. Flujo de Oxígeno: la concentración de Ozono es directamente proporcional al flujo de Oxígeno; por lo tanto por unidad de tiempo, cuanto mayor sea el flujo de Oxígeno, menor será la concentración de Ozono y viceversa (Bernal, 2014).

Los generadores de Ozono médico deben poseer características específicas como:

- Obtener el Ozono a partir de Oxígeno con un 99.9% de pureza a fin de no formar nitritos.
- Poder ajustar los niveles de concentración en tiempo real entre 1 y 100  $\mu\text{g}$ .
- Mantener la homogeneidad de la mezcla
- Destruir el Ozono sobrante de las terapias que lo requieran.

De tal manera el médico responsable de las terapias debe constatar las características mencionadas de los generadores en el momento de elegir uno ya que de esto depende la seguridad de la terapia para el paciente. (Figura 3).



Figura 3. Generador de Ozono de uso veterinario

## **2. ACCIÓN BIOLÓGICA Y EFECTO DEL OZONO**

La molécula de Ozono es el resultado obtenido a través de los generadores de Ozono, cabe mencionar que este gas al ser administrado en el organismo del paciente a tratar, es transportado por el torrente sanguíneo a todas las células existentes en el cuerpo. El átomo de Oxígeno monoatómico derivado de la descomposición de la molécula de Oxígeno es el que otorga al Ozono sus efectos biológicos benéficos para el organismo del paciente al que es administrado.

Cuando el Ozono se disuelve en el plasma, en fluidos extracelulares o en la fina capa de agua que cubre la piel o las mucosas, rápidamente reacciona con compuestos orgánicos que poseen dobles enlaces de carbono-carbono, principalmente antioxidantes, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran en un nivel elevado en fluidos y estructuras celulares del organismo (Menéndez *et al.*, 2008).

### **2.1 El Ozono en el metabolismo del Oxígeno**

El principio básico de la ozonoterapia es, elevar el potencial oxidativo de la sangre y aumentar la capacidad de la hemoglobina para transportar Oxígeno, debido a que el Ozono es un potente oxidante (cede electrones en forma de Oxígeno a otras moléculas más reducidas). Al mismo tiempo, incrementa la concentración de Oxígeno en el plasma y la sangre estará más oxigenada (García, 2014).

El mecanismo de acción del Ozono sobre el metabolismo del Oxígeno se da en dos puntos importantes:

- a) Cambios en las propiedades reológicas de la sangre:** de acuerdo al efecto del Ozono es revertir la agregación eritrocitaria de las enfermedades arteriales oclusivas, mejorando las cargas eléctricas de la membrana eritrocitaria aumentando el intercambio de iones de

Sodio y Potasio que son los encargados de mantener el potencial eléctrico de la membrana.

Posteriormente se regeneran las condiciones eléctricas normales de la membrana, de esta manera se restablece la flexibilidad y plasticidad eritrocitaria, esto explica la reparación de las propiedades reológicas de la sangre y favorece un mejor transporte de Oxígeno a todos los tejidos del cuerpo para así establecer un buen funcionamiento (Menéndez *et al.*, 2008).

- b) Incremento en la velocidad de glicolisis del eritrocito:** El incremento en la velocidad de la glicólisis del eritrocito se manifiesta tras un ciclo de ozonoterapia, al constatarse un aumento de la presión parcial de Oxígeno (PPO<sub>2</sub>) en sangre arterial y al mismo tiempo una disminución de la PPO<sub>2</sub> en sangre venosa. Esto sucede a causa de un ligero descenso del pH intracelular (efecto Bohr) o un aumento de las concentraciones de 2,3-difosfoglicerato, siendo derivado del aumento del proceso glicolítico, es un inhibidor directo de la afinidad de la Hb por el Oxígeno, facilitando el desprendimiento de éste de la oxihemoglobina (Schwartz, 2008). Este proceso mejora de manera gradual la oxigenación de tejidos hipóxicos gracias a que se facilita la liberación de Oxígeno desprendido de la oxihemoglobina sobre estos (García, 2012).

De tal manera, el 2,3-DFG estabiliza la forma T de la hemoglobina (forma tensa de la hemoglobina que tiene menor afinidad por el Oxígeno) inhibiendo la formación de la Hb R (Forma relajada de la hemoglobina que tienen más afinidad por el Oxígeno) por lo tanto disminuye la formación de Oxígeno que se une a la hemoglobina.

## **2.2 Ozono en el estrés oxidativo.**

La oxidación es un proceso electroquímico por el cual un ion o átomo pierde uno o varios electrones. Como resultado, se producen moléculas muy inestables, denominadas especies reactivas de Oxígeno y de Nitrógeno, que tienen electrones capaces de reaccionar con varios sustratos orgánicos, tales como lípidos, proteínas y ADN (Lozada y García, 2009).

Al igual que el cuerpo humano el de los animales mantiene un balance de óxido-reducción constante que establece un balance entre la producción de pro-oxidantes que se generan como resultado del metabolismo celular y los sistemas de defensa antioxidantes. Pero desafortunadamente existen factores que desencadenan un desbalance en el proceso de óxido-reducción, generando el llamado “estrés oxidativo” que se determina por un aumento de los radicales libres y especies reactivas que no pueden ser controladas por los sistemas de defensa celular antioxidante, causando daño y muerte celular (Schwartz, 2008).

El estrés oxidativo es la ruptura del equilibrio que existe entre los radicales libres y las enzimas antioxidantes, llevando al organismo a una oxidación (envejecimiento acelerado) (González, 2011). Un estado de estrés oxidativo, induce en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, y apoptosis. Este desequilibrio se manifiesta en diferentes patologías degenerativas principalmente de tipo infeccioso, supresión de inmunidad e inflamación (Dorado *et al.*, 2003).

Cuando el balance que existe entre los pro-oxidantes y antioxidantes sufre desajustes, el organismo es afectado a diferente grado. Es importante mencionar que cuando dicho estrés oxidativo es leve, las defensas antioxidantes son suficientes para establecer el balance, de lo contrario cuando el estrés oxidativo es

grave surgen graves alteraciones en el metabolismo celular principalmente el rompimiento de ADN y aumento de la concentración de calcio intracelular (Pérez, 2012).

El daño por estrés oxidativo puede ser reversible o no, dependiendo de factores como el tiempo en el que se someta el paciente al estrés, de la protección adecuada de las defensas antioxidantes, la edad, estado nutricional, y factores genéticos de los que depende el sistema antioxidante (Dorado *et al.*, 2003).

La ozonoterapia está relacionada con el estrés oxidativo y su mecanismo de acción en este proceso es a través de la producción de un pequeño y controlado estrés oxidativo que se da por las defensas antioxidantes del organismo. La generación de pro-oxidantes se da por una equilibrada relación de consumo por los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos. De acuerdo con investigaciones realizadas se ha dado a conocer que las bajas concentraciones fisiológicas de agentes pro-oxidantes pueden desempeñar funciones importantes dentro de la célula (Menéndez *et al.*, 2008).

### **2.3 Ozonoterapia en el balance Redox.**

Según Bocci, citado por (Menéndez *et al.*, 2013) menciona que la reacción del Ozono con los compuestos orgánicos involucra dos procesos de interés que son: una fase inicial y una fase tardía, en la primera fase una parte del Ozono que es administrado en el organismo del paciente, pasa al torrente sanguíneo formando ERO (Especies Reactivas de Oxígeno) que también se originan del proceso normal de la respiración celular llevándose a cabo en el interior de las mitocondrias de esta manera se desencadenan algunas vías bioquímicas y en la última se forman productos de oxidación lipídica (POL)

Las ERO se clasifican en:

**Radicales libres:** son moléculas que contienen un electrón no apareado, convirtiéndose en altamente reactivos capaces de dañar a otras moléculas creando otras mucho más reactivas. Principalmente se mencionan el radical hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ) uno de los compuestos más destructivos de las enzimas y del ADN, y el radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) (Dorado *et al.*, 2003)

**Especies no radicales** como el peróxido de hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), el ácido hipocloroso ( $\text{HClO}$ ) y el óxido nítrico ( $\text{ON}$ ) son generados en pequeñas cantidades y dentro de los POL se encuentran los radicales peróxilo ( $\text{ROO}^-$ ) e hidroperóxidos ( $\text{R-OOH}$ ) (Zerecero, 2013).

Ante el daño que causan estas especies, el organismo provee un sistema antioxidante que permite mantener un balance exacto ante los agentes oxidantes. Este sistema antioxidante está conformado por antioxidantes de **tipo enzimático:** en los que se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), y glutatión S transferasa (GST) primeras barreras de protección. Y de origen **no enzimático** las vitaminas A, C y E, el ácido úrico, y algunas proteínas plasmáticas (Menéndez *et al.*, 2008).

Los antioxidantes funcionan de la siguiente manera:

- a) Disminuyendo la concentración de oxidantes.
- b) Evitan la iniciación de la reacción en cadena al destruir los primeros radicales libres que se forman.
- c) Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
- d) Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
- e) Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres (Lozada y García, 2009).

La formación de ERO en el plasma es extremadamente rápida (menos de un minuto) y se acompaña de una disminución transitoria y pequeña, dependiente de la capacidad antioxidante del Ozono, (que va del 5 al 25%). Esta capacidad antioxidante recupera su normalidad a los 15 min -20 minutos, pero ya el Peróxido de Hidrógeno y otros mediadores la han difundido al interior de las células activando distintas rutas metabólicas en eritrocitos, leucocitos y plaquetas, dando lugar a numerosos efectos biológicos. El Peróxido de Hidrógeno actúa entonces como una molécula señalizadora en el medio intracelular, un mensajero que el Ozono a dosis terapéuticas ha disparado (Schwartz, 2012).

Los radicales libres se consideran como electrófilos, es decir que aceptan electrones causando la producción de otros radicales libres menos reactivos e inestables que reaccionan con otra molécula para producir otro radical libre (RL) continuando así una reacción en cadena. Los antioxidantes se denominan barredores de radicales libres que reaccionan, formando radicales que terminan esta reacción en cadena. Y se definen como aquellas sustancias que donan  $e^-$  (electrones) a otras y los reducen, y los convierten en otros menos reactivos (Lozada y García, 2009).

Los sistemas antioxidantes trabajan de manera organizada en cuanto a la eliminación de los radicales libres, claro ejemplo es el caso del radical superóxido ( $O_2^-$ ) que es metabolizado por la superóxido dismutasa (SOD) el producto que se genera es el Peróxido de Hidrogeno ( $H_2O_2$ ). Los peróxidos resultantes son metabolizados por la catalasa (CAT) y glutatión reductasa hasta obtener  $H_2O$  y  $O_2$ . Cabe mencionar que estos sistemas antioxidantes disminuyen con la edad, con ciertos procesos patológicos y estrés presente en los pacientes (Pérez, 2012).

El efecto benéfico del Ozono está asociado con la preservación de los mecanismos antioxidantes endógenos (superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa y catalasa) responsables de un menor estrés oxidativo. De esta

manera se piensa que el Ozono actúa en la disminución de los radicales libres de Oxígeno que son los responsables de la lesión del tejido durante la reperfusión. Por otra parte, los mecanismos por los que se cree que actúa el Ozono en sus efectos bioquímicos se relacionan con el bloqueo del sistema enzimático xantina/xantina oxidasa, responsable de la regeneración de los radicales libres de Oxígeno (Pacheco, 2012).

## **2.4 Efecto antiinflamatorio**

El proceso inflamatorio es una alteración presente en la mayoría de las patologías que sufren los caninos, entre ellas se menciona la inflamación de las articulaciones, de la piel, inflamación muscular a causa de lesiones o traumatismos, de esta manera dificulta los movimientos en la vida diaria de los pacientes en la clínica veterinaria.

En el organismo animal alguna agresión exógena o endógena (radicales libres principalmente) es interpretada por el sistema inmune como una señal de alerta, liberando una serie de mediadores de la inflamación ya sean de origen lipídico derivados del ácido araquidónico (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos), aminoácidos modificados (histamina, serotonina) o proteínas como citoquinas pro inflamatorias con la intención de neutralizar la agresión.

En la inflamación una vez que es controlada la agresión, los macrófagos y leucocitos proceden a la reparación tisular liberando nuevos mediadores como las citoquinas antiinflamatorias (IL-10, factor de crecimiento transformante beta, (TGFB)) para regular la homeostasis. El efecto antiinflamatorio que posee el Ozono se basa en la capacidad para oxidar compuestos que poseen dobles enlaces de carbono, un ejemplo es el caso del ácido araquidónico y sus derivados como las prostaglandinas y leucotrienos, que son sustancias biológicamente activas que participa en el mantenimiento de procesos inflamatorios (Bernal, 2014).

Con la finalidad de obtener información más precisa se han estado realizando investigaciones obteniendo resultados demostrando que la ozonoterapia disminuye significativamente las citoquinas pro inflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ) que están aumentadas en procesos inflamatorios crónicos, tal es el caso de la artritis reumatoide entre otras patologías, por ende al disminuir los mediadores pro inflamatorios remite el dolor (Instituto Argentino de Ozonoterapia, 2015).

El Ozono medicinal disminuye la concentración de mediadores bioquímicos como las quininas, histamina y bradiginina a nivel local, permitiendo obtener una acción antiinflamatoria y analgésica (González, 2011).

## **2.5 Efecto analgésico**

El dolor es definido por la Asociación Internacional para el estudio del dolor como: una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada a un daño tisular real o potencial. Existen tipos de dolor de acuerdo al tiempo que persista este y puede ser agudo o crónico

Muchos desordenes patológicos originan procesos inflamatorios como en el caso de la artritis, reumatismo, hernia de discos, cáncer, entre otros. Esta inflamación desencadena una serie de estímulos nerviosos causando episodios de dolor en los animales.

Cuando un tejido es lesionado se producen micro hemorragias que provocan una necrosis tisular, por ende hay daño celular que ocasiona la formación de ácido araquidónico por la estimulación de la fosfolipasa A2.

La producción del ácido araquidónico desencadena una serie de reacciones que involucra a las prostaglandinas, provocando la vasoconstricción y segregación de tromboxanos que favorecen la agregación plaquetaria, disminuye el flujo sanguíneo, de igual manera la quimiotaxis de los metabolitos del ácido

araquidónico atrae a las células polimorfonucleares, permitiendo la inflamación de ciertos tejidos.

El efecto antiinflamatorio, analgésico y descongestionante de las infiltraciones de Ozono establece que la oxidación de los receptores algogenos inhibe la señal dolorosa y activa el sistema antinociceptivo, con estas propiedades se favorecerá un efecto relajante muscular, de igual manera la mejoría de la movilidad de la zona tratada (Hidalgo y Torres, 2013).

El efecto del Ozono posee doble carácter, por un lado permite la entrada progresiva del Oxígeno en la zona inflamada y la oxidación de ciertos mediadores que se forman en el área tisular dañada, y participa en la señal nociceptiva en el Sistema Nervioso Central (SNC). Es así como se explica la eliminación del dolor agudo existente en la inflamación con la ayuda de la administración del Ozono (Bernal, 2014).

## **2.6 Efecto modulador de la respuesta inmune**

El sistema de defensa está integrado por varias células, como los leucocitos que desempeñan un papel importante en cuanto a la protección del organismo frente a diversidad de infecciones que invaden al animal.

La reacción del  $H_2O_2$  ha obtenido importancia últimamente y depende de su repuesta y de la concentración. Los linfocitos poseen elevadas concentraciones de glutatión reducido (GSH) y aunque tienen menor concentración de catalasas (CAT) que los eritrocitos, proveen un buen sistema de glutatión peroxidasa (GPx).

La acción inmunológica del Ozono sobre las células de la sangre está dirigida a los leucocitos principalmente a los monocitos y linfocitos estos al interactuar con dicho gas permite la liberación de citocinas de carácter inmunomodulador o inmunosupresor de acuerdo a lo que se requiera, las cuales se autorregulan por lo que la producción de citocinas no sobrepasará los valores necesarios. La

aplicación de ozonoterapia posee efectos satisfactorios en pacientes que padecen enfermedades caracterizadas por una respuesta inmunológica exagerada como es el caso de las enfermedades autoinmunes y también en aquellas con déficit en sus funciones inmunológicas (Scwhartz, 2012).

Investigaciones han demostrado que concentraciones de Ozono comprendidas entre 10 a 78  $\mu\text{g/ml}$  de sangre es la dosis necesaria que produce la estimulación de los leucocitos para la liberación progresiva de las citocinas (Menéndez, 2008).

La liberación de citocinas es una expresión de diferentes funciones biológicas esenciales, como es el caso de la IL-6 que favorece la diferenciación de los linfocitos B en las células plasmáticas y acelera la síntesis de anticuerpos, mientras que el factor estimulante de colonias de granulocitos macrófagos (FEC-GM) produce leucocitosis, los interferones con la actividad antiviral que poseen, previenen la replicación viral y activan las funciones inmunomoduladoras con ayuda de la IL-2 y el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (FNT- $\alpha$ ) en la estimulación citogénica de las células inmunitarias de tal manera que se constituyen mecanismos con efectos inmunitarios para destruir células infectadas por virus, células neoplásicas o eliminar bacterias y parásitos causantes de diversas enfermedades (Díaz *et al.*, 2013).

El Ozono al contactar con los leucocitos produce Peróxido de Hidrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) que activará al factor de transcripción NFK  $\beta$  fase inicial de todo proceso inmunológico. El  $\text{H}_2\text{O}_2$  debe estar en cantidades necesarias pero no debe exceder los niveles, con la finalidad de no sobrecargar al sistema antioxidante, por lo tanto la dosis de Ozono administrada debe ser la adecuada, de acuerdo al tipo de células del sistema inmune que desee activarse para patologías determinadas (González, 2011).

Cuando existe una falla en el sistema inmune y surge una inmunosupresión se presencian procesos primarios y secundarios que se caracterizan por distintas

afecciones de tipo infeccioso, en estos casos principalmente se determina un medio ambiente celular poco oxigenado y un estado que conduce a un deficiente funcionamiento de la actividad de las defensas por parte de los leucocitos (fatiga celular). Peculiarmente el Ozono (O<sub>3</sub>) aumenta los niveles de Oxígeno en sangre y en aquellos tejidos hipoxicos de tal manera que se favorece un correcto funcionamiento de defensa por parte de los leucocitos.

### **2.7 Efecto anti tumoral**

El cáncer es un serio problema sanitario que ocasiona un alto porcentaje de morbilidad y mortalidad no solo en los seres humanos, sino también en los animales domésticos. Los procesos de proliferación y diferenciación celular están regulados por una serie de factores extracelulares, pero existen diversas causas que pueden alterar este equilibrio (Gómez *et al.*, 2007).

El cáncer es una enfermedad en la que existe un crecimiento incontrolado de las células del cuerpo. Diversidad de casos se presentan en las clínicas veterinarias con pacientes que padecen algún tipo de cáncer.

La ozonoterapia ha sido relacionada con el tratamiento de inmunodeficiencias y como estimulador de la respuesta antioxidante, se emplea la administración rectal e intraperitoneal que son las vías con mayor reporte de actividad antitumoral (Rodríguez *et al.*, 1998).

Otto Warburg citado por (Pérez, 2011) Mantiene la idea de que el origen de las células del cáncer, radica en un déficit de oxigenación a nivel celular y que ninguna célula con respiración celular intacta puede desarrollar cáncer.

Las células tumorales no necesitan de Oxígeno para obtención de energía si no para llevar a cabo sus funciones metabólicas, obtienen la energía, por medio de las vías de la fermentación anaeróbica, esto ocurre en el citoplasma, puesto que la

respiración aeróbica sucede en la mitocondria, este proceso se explica a causa de que la mitocondria está dañada y no se puede restaurar su función (Pérez, 2011).

Los tratamientos convencionales aplicados en patologías cancerosas implican quimioterapias y radioterapias que suelen ocasionar algún fallo de la producción del sistema de defensas de las enzimas antioxidantes y pueden contrarrestar los radicales libres que se generan los mismos tratamientos, imposibilitando la eliminación de los radicales libres que dañan aún más las células sanas (Pérez, 2011).

Se ha demostrado que el crecimiento tumoral es inhibido en cultivos de células tumorales por el Ozono. La exposición continua a bajas dosis de Ozono menor a 0.5 µg/ml durante 24 horas provoca citotoxicidad tumoral.

Los tratamientos que se complementan con Ozono, presentan un doble efecto que es estimular las defensas antioxidantes e inducir mecanismos de reparación de las células sanas por un lado, y por el otro aumentan la radio sensibilidad y quimio sensibilidad tumoral.

La hipoxia celular que surge tras la falta de Oxígeno en los tejidos provoca un ambiente ácido, estimulando el factor de hipoxia inducible tipo 1 alfa (FHI- 1 $\alpha$ ) y este a su vez al factor de crecimiento vaso endotelial (FCVE) que provoca el inicio de la angiogénesis tumoral acelerando el crecimiento de los tumores (Pérez, 2011).

Ante esta situación el Ozono actúa mejorando la oxigenación de las células convirtiéndose en un mecanismo inhibidor de la neoangiogenesis tumoral. En estudios realizados se publica el beneficio de los tratamientos con Ozono provocando un aumento de la formación de oxihemoglobina, con mayor transporte y distribución de Oxígeno a los tejidos (Pérez, 2011).

A nivel preclínico se han realizado experimentos que demuestran que el tratamiento con Ozono tiene efecto dosis dependiente en la inhibición de las células tumorales provenientes de pulmones, glándulas mamarias y de útero (Vélez, 2015).

Los tratamientos con Ozono como coadyuvante en las enfermedades oncológicas aumentan la oxigenación, beneficiando un ambiente que impide que las células metastásicas se implanten en tejidos cercanos y se desarrollen (Pérez, 2011).

### **2.8 Efecto cicatrizante**

La piel es el órgano más grande del organismo y cumple diversas funciones que mantienen la homeostasis del cuerpo como barrera de protección, sensibilidad, termorregulación y funciones metabólicas. Cabe mencionar que consta de 3 capas que son la epidermis, dermis e hipodermis (Clarena *et al.*, 2005).

Existen varios factores implicados en la formación de lesiones presentes en la piel y son ocasionadas principalmente por traumatismos, trastornos metabólicos, infecciones, quemaduras entre otras, afectando cada una de las capas de la piel.

Para que la lesión sane se desarrolla un proceso biológico de cicatrización mediante el cual se restauran los tejidos dañados. Es una serie de eventos que involucran: migración, acumulación, e interacción de células inflamatorias que sintetizan la nueva matriz extracelular. Dependiendo del estado físico, inmunológico del paciente se permitirá una rápida o en su defecto, retardada cicatrización. De tal manera es que se considera de gran importancia realizar la aplicación de ozonoterapia en heridas facilitando el proceso de cicatrización.

Una gran ventaja del uso de Ozono se debe a una serie de beneficios como la desinfección, vasodilatación, oxigenación, normalización de la acidosis tisular y reabsorción del edema (Zerecero, 2013). El Ozono actúa de diferente manera en cada una de las fases de la cicatrización:

- i. Fase inflamatoria: Se caracteriza por el estado de inflamación, en esta fase la ozonoterapia disminuye el riesgo de cronificación en caso de infección secundaria a un traumatismo, diabetes, isquemia local, y la resistencia a algunos antibióticos.
- ii. Fase proliferativa: Se da la reparación del tejido conectivo, síntesis de matriz extracelular. Por ello aplicación de Ozono estimula la cicatrización del tejido.
- iii. Fase de maduración y remodelación: En esta fase se da la maduración del tejido cicatrizal (Zerecero, 2013).

La acción reparadora del Ozono ha influido gradualmente en la capacidad de reparar la pared interna de los pequeños vasos sanguíneos, demostrando excelentes resultados en la recuperación de úlceras en pacientes diabéticos, siendo altamente significativos (Schwartz, 2012). Es de interés mencionar de manera general que la administración del Ozono permite la pronta y la rápida recuperación en el proceso de la cicatrización de heridas difíciles de tratar con medicamentos convencionales.

## **2.9 Efecto germicida**

El Ozono es considerado como una sustancia oxidante que le confiere un elevado poder germicida. La introducción del Ozono en la porción sérica de la sangre favorece la formación de peróxidos que destruyen (oxidán) a los microorganismos (bacterias, virus y hongos), sin afectar a las células normales del organismo siempre que el Ozono medicinal se encuentre en dosis terapéuticas (González, 2011).

El efecto bactericida del Ozono en la flora gram positiva de heridas supurantes y de úlceras se hace más efectivo cuando se constata cada vez más una alta resistencia de los microorganismos ante los antibióticos habituales. Esto lo convierte en un tratamiento de elección.

El Ozono posee un amplio espectro que permite ser utilizado como tratamiento para la limpieza y desinfección de heridas infectadas y otros procesos sépticos. El resultado que se obtiene de la aplicación de Ozono es que afecta la permeabilidad de la membrana de los microorganismos y aumento en las concentraciones de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico debido a los procesos de peroxidación lipídica y finalmente generando muerte celular (Fernández, 2009).

Los microorganismos susceptibles al Ozono incluye: aeróbicos y anaeróbicos como: *Campylobacter*, *Clostridium*, *E.Coli*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Salmonellas*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Algunos virus susceptibles son: *Herpesviris* y micosis producidas por *Aspergillus* y *Cándida* (González, 2011). El poder germicida del Ozono se describe como una rápida disminución del número inicial de microorganismos, debido a la acción del Ozono bajo concentraciones superiores en medios acuosos. En cuestión a lo descrito anteriormente se puede concluir que hay una actividad microbiana con la aplicación de ozonoterapia (Fernández, 2009)

### **3. DOSIFICACIÓN Y VIAS DE ADMINISTRACIÓN**

El efecto terapéutico del Ozono está basado en el conocimiento de que bajas concentraciones pueden desempeñar funciones importantes dentro de las células del organismo (Asociación de Profesionales Médicos de Ozono, 2012).

Las unidades de concentración que se manejan en la dosificación de la ozonoterapia se dan en  $\mu\text{g/ml}$ , esta concentración está establecida y se selecciona en la tabla que viene integrada en el generador. En cada una de las vías de administración se aplican diferentes volúmenes de Ozono, además la cantidad de Ozono se selecciona dependiendo de la patología que presente el paciente (Rodekahr, 2015).

Existen concentraciones placebo, terapéuticas y tóxicas del Ozono, de acuerdo a la literatura se ha comprobado que concentraciones de 5–10  $\mu\text{g/ml}$  y aún más pequeñas ejercen efectos terapéuticos con un amplio margen de seguridad de tal manera las concentraciones terapéuticas aceptadas van de 5 a 60  $\mu\text{g/ml}$ . Este rango incluye tanto técnicas de aplicación local como sistémica. Se toma en cuenta que cada vía de aplicación tiene sus dosificaciones máximas y mínimas así como concentraciones y volúmenes (Pacheco, 2012). Las dosificaciones del Ozono con efecto terapéutico se clasifican de acuerdo al mecanismo de acción en:

- i. **Dosis bajas:** tienen un efecto inmunomodulador, principalmente utilizadas en enfermedades con depresión del sistema inmunológico.
- ii. **Dosis medias:** son inmunomoduladoras, además de estimular el sistema enzimático de defensas antioxidante y en enfermedades crónicas degenerativas.
- iii. **Dosis altas:** Se emplean principalmente en el tratamiento de úlceras y heridas infectadas.

El Ozono puede administrarse por cualquier vía parenteral o tópica, exceptuando la vía de inhalación; debido al daño que se produce en el epitelio por el grado de irritación que llega a causar al ser inhalado.

Las terapias con Ozono pueden aplicarse en forma local o parenteral. Las vías de aplicación pueden usarse solas o en combinación, con la finalidad de ejercer un efecto sinérgico (Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia, 2012).

### **3.1 Vías de administración sistémica**

Las principales indicaciones de las terapias son para enfermedades crónicas, enfermedades en donde el nivel de producción de radicales libres es elevado, enfermedades con deficiencia de Oxígeno y enfermedades con alteraciones del sistema inmunológico (Rodekahr, 2015).

Las vías de administración sistémica de Ozono aplicadas en veterinaria son:

#### **3.1.1 Autohemoterapia Mayor (AHT-M)**

Esta técnica se realiza con el uso de un catéter colocándolo en la vena yugular para la extracción de un volumen preciso de sangre del paciente, la sangre es recolectada en un frasco de vidrio que contiene previamente anticoagulante, recomendablemente citrato de sodio al 3.8%, posteriormente se agrega el volumen de Ozono (Briz y Vázquez, 2013). Después es mezclada cuidadosamente durante unos minutos con la sangre, para concluir el proceso la sangre es transfundida nuevamente al paciente. La extracción de la sangre se debe hacer con las medidas de asepsia y antisepsia correctas para evitar arrastre de microorganismos en la zona a administrar.

Es importante mencionar que el volumen del gas utilizado en esta terapia no debe de rebasar el volumen de la sangre extraída, con la finalidad de evitar la hemólisis que se pudiera generar (Pérez, 2013).

En la autohemoterapia no está establecido un número fijo de sesiones, ni de las dosis del Ozono a aplicar, dado el caso de que estas dependen significativamente de la enfermedad y el estado que esté cursando el paciente (Schwartz, 2012).

En resultados obtenidos se han mostrado problemas de embolismo gaseoso en terapias aplicadas en el humano, por la cantidad de Ozono que es administrado por vía venosa es por ello que no se recomienda el empleo de esta terapia en pequeñas especies, utilizándose con mayor frecuencia en la clínica equina.

### **3.1.2 Autohemoterapia menor (AHM-m).**

Es considerada como la práctica en la que se extrae sangre venosa y se mezcla con Ozono para posteriormente inyectar por vía intramuscular, se estimula un incremento de los macrófagos que son parte del sistema de defensa del organismo.

La autohemoterapia menor consiste en la extracción de sangre del paciente, después con otra jeringa especial, de material resistente al Ozono (THERUMO®), se extrae el volumen necesario del generador, previamente conectado al filtrador de Ozono (Fig. 4).

Es importante mencionar que al retirar la jeringa cargada con Ozono esta se coloque hacia arriba para evitar la salida del gas e impedir irritación en las mucosas de las vías respiratorias de los presentes. Posteriormente se vierte la sangre en la jeringa que contiene el Ozono, y se agita por tres minutos para obtener una combinación adecuada de la sangre con Ozono, una vez que se considera que la sangre ya está ozonizada, de manera inmediata se administra por vía intramuscular en el paciente.

La diferencia que persiste entre ambas terapias es que en la autohemoterapia mayor se emplea un volumen superior de sangre en comparación con la terapia menor, el volumen que se extrae es aproximadamente de 1 a 5 ml de sangre de acuerdo al peso del paciente (Schwartz, 2012).



Figura 4. Material empleado en la autohemoterapia menor

### **3.1.3 Infiltración Intraperitoneal**

Es un procedimiento novedoso que consiste en la introducción de un catéter en la cavidad peritoneal, se administran 200 a 300 ml de Ozono, sin presentar riesgo de embolismo (Schwartz, 2012).

Uno de los inconvenientes del empleo de la infiltración Intraperitoneal es la presencia de un grado leve de irritación en el peritoneo por la introducción del Ozono, aunado al dolor persistente en caso de peritonitis existente, por tal razón se debe de aplicar con cautela y no exceder las dosis recomendadas

Las indicaciones de la infiltración Intraperitoneal es para pacientes que padecen de peritonitis en combinación con antibióticos de elección, de tal manera que se provee un sinergismo, ayudando a combatir la infección. Además de tratamiento

en procesos tumorales, dada la eficacia en cuanto a la actividad antitumoral (Pérez, 2012).

#### **3.1.4 Intradiscal**

El procedimiento se realiza colocando al paciente en posición dorsoventral. Es recomendable que para la aplicación de esta terapia el paciente sea sometido a un estado de anestesia debido al dolor que puede producir la administración del Ozono, y más aún por los diferentes puntos intradiscal en los que se coloca.

Posteriormente se realiza la antisepsia de la piel para crear un ambiente estéril y así evitaremos la introducción de microorganismos patógenos. En las hernias lumbares se infiltra anestésico local y se inserta una aguja lateral a la línea media sobre la(s) zona(s) a tratar a una distancia de aproximadamente 8 cm y un ángulo de 45° con la piel (Scwhartz, 2012). Se emplea una aguja especial que permite penetrar el disco desde un abordaje percutáneo y se inyecta una parte del Ozono en la región intradiscal, después se retira la aguja hasta nivel del canal y el foramen en donde se inyecta el resto del Ozono (Bernal, 2014).

La práctica debe hacerse preferentemente en un quirófano con todas las medidas de higiene necesarias.

El área del tratamiento depende de la extensión de la lesión de una de las regiones (torácica, lumbar o sacra) o en ambas regiones de la columna desde las vértebras torácicas hasta las coccígeas. El número de sesiones para la infiltración, varía entre 1 a 20 sesiones con respecto a los resultados clínicos obtenidos.

Para poder estimar el efecto de la ozonoterapia se recurre a evaluaciones que indican el grado de dolor. Incluye varias formas de identificación: a través de la escala visual análoga adaptada en medicina veterinaria, escala de valoración del dolor de Melbourne, escala de valoración discontinua para la determinación del dolor agudo, además la algometria hace uso de equipos electrónicos que miden el

dolor como los algómetros que tratan de valorar el dolor de forma no invasiva colocándose sobre la piel y la escala de Glasgow principalmente (Alvarado, 2013).

Las consideraciones que se toman para dicho procedimiento es, especialmente en la enfermedad de hernia de discos en sus diferentes tipos (Hansen I y II) o en algunas enfermedades presentes en la columna de los caninos ocasionadas por varios factores (edad, traumatismos, infecciones).

### **3.1.5 Intraarticular**

El procedimiento se realiza con una adecuada antisepsia utilizando jeringas de material resistente al Ozono. Se conecta la jeringa al generador de Ozono y se calcula la concentración deseada de acuerdo al padecimiento del paciente y se extrae el volumen de gas que se va a infiltrar.

Para la aplicación se introduce la aguja en la capsula articular dañada, estando seguros que es la zona indicada, se inyecta el gas lentamente en la articulación, en este método no es necesaria la sedación o tranquilización del paciente ya que no hay mayor riesgo en contraste con la infiltración intradiscal, a excepción de que el paciente sea muy agresivo o nervioso.

El volumen de gas está relacionado con el tamaño de la articulación, y oscila entre 1 hasta 10 ml. La cantidad de sesiones del tratamiento depende de la evolución del paciente y se puede realizar dos veces a la semana (Schwartz, 2012).

### **3.1.6 Subcutánea**

Las sesiones se inician con la correcta antisepsia en la zona a tratar, la inyección subcutánea del Ozono se aplica lentamente en la periferia de úlceras para favorecer su epitelización. Las sesiones de ozonoterapia podrán realizarse dos veces a la semana con respecto a la gravedad de la lesión que padece el paciente, así como la evolución que lleve el mismo (Schwartz, 2012).

Las principales indicaciones de la terapia es en procesos de cicatrización difícil de manera que ha sido tardada la sanación, además de tratamiento de dolor neuropático (Asociación Española de Profesionales Médicos en Ozonoterapia, 2014).

### **3.2 Administración tópica y local**

#### **3.2.1 Insuflación rectal**

El tratamiento requiere de material como: sondas finas de plástico resistentes al Ozono (Fig. 5) y de diferente diámetro, además jeringas especiales de distintas capacidades 10, 20, 50 ml y deben ser desechables.

El paciente es colocado en posición latero lateral para un mejor manejo, no necesita de sedación o tranquilizante, solo en casos especiales que se requiera por el estado físico y carácter del paciente a tratar.

Se realiza la introducción de la sonda previamente lubricada por el recto para evitar irritar tejidos, hasta unos 10 a 15 cm de profundidad de acuerdo al tamaño del paciente, después se carga el volumen correspondiente de Ozono (fig. 6) (Fierro, 2013).

La administración es lenta, se va pasando el gas, si es que requiere el paciente el volumen más alto dentro del rango, se aplica la primera parte, después se retira la jeringa de la sonda, para cargar más Ozono se coloca una pinza en el extremo de la sonda para evitar fugas que pudieran ser toxicas para el ambiente en que se encuentran el personal y el paciente.

Se vuelve a conectar la jeringa con la sonda y se aplica el resto del Ozono, al final se pinza nuevamente la sonda y esta es retirada de la cavidad lentamente. Se aplican 20 sesiones aproximadamente de acuerdo a la evolución que el paciente

muestra y la frecuencia de la aplicación puede manejarse una por día o cada tercer día (Menéndez *et al.*, 2008).



Figura 5. Sonda para insuflación rectal



Figura 6 Introducción de la sonda vía rectal previamente lubricada

### **3.2.2 Insuflación por bolsa**

Según J. Hansler (1958) citado por (Schwartz, 2008), propuso el empleo de bolsas o cámaras plásticas que cubran la extremidad dañada que puede lograr la curación de la lesión, es importante considerar que la efectividad de esta vía de administración consiste en que la zona a tratar esté previamente humedecida preferentemente con agua ozonizada.

El material que se requiere para esta técnica es una bolsa Ozono resistente que consta de un orificio grande por donde se introduce la extremidad y dos pequeños, en uno de ellos se conecta una válvula por donde entra el Ozono proveniente del generador y el otro a un sistema de aspiración por vacío que conduce a un destructor que tiene la finalidad de eliminar el Ozono que no ha sido utilizado (Pérez, 2012).

La técnica consta en la introducción de la extremidad afectada dentro de la bolsa después esta se sella perfectamente con cinta metálica para evitar fugas de Ozono (Fig. 7 ) que puedan afectar al ambiente en el que se encuentra el personal encargado de la aplicación. Un punto importante de mencionar es que si las lesiones abarcan la mayor parte del cuerpo, este se cubre con la bolsa cuidadosamente para que la cabeza quede descubierta e impedir intoxicaciones por inhalación. Después se calcula la dosis de acuerdo a la gravedad de la lesión y la terapia se da en un lapso de tiempo de 20 minutos (Schwartz, 2008).

Es importante que cuando las heridas a tratar están infectadas la concentración de Ozono sea elevada y a medida que va mejorando y aparece el tejido de granulación la concentración de Ozono tiene que ir disminuyendo (Schwartz, 2012).

Una vez que la sesión termina se cierra el flujo de gas y se mantiene el vacío funcionando para desechar el Ozono restante y así cuando se retire la bolsa no haya residuos del gas.

El Ozono actuará como un agente germicida local, creando un medio aerobio para virus y bacterias que son incapaces de sobrevivir en atmósferas con una elevada concentración de Oxígeno. Esta terapia es utilizada principalmente en patologías vasculares, gangrena, ulceraciones, cicatrización y desinfección de heridas e infecciones en la piel (Fierro, 2013).



Figura 7 Ozonoterapia con embolsado

### **3.2.3 Aplicación de agua, aceite y crema ozonizados.**

Por las diferentes propiedades que proporciona el Ozono al organismo se recomiendan varias formas tópicas de aplicarlo, principalmente son:

- i. **Agua ozonizada:** Se llama agua ozonizada debido a que el agua se somete a un constante burbujeo a una cierta concentración de Ozono, para después usarla vía externa (oral, lavar heridas, quemaduras e infecciones cutáneas de lenta curación). También se usa como desinfectante en cirugía, el agua ozonizada se usa para tratar una amplia variedad de problemas intestinales y ginecológicos (Fierro, 2013).

- ii. **Aceite ozonizado:** los tipos de aceites que se utilizan para esta técnica son el aceite de oliva y el aceite de girasol.

Existe un fundamento en el que se menciona el método de ozonización de los aceites vegetales y es que al ocurrir la reacción del Ozono con los ácidos grasos insaturados, que componen los triglicéridos presentes en los aceites y grasas vegetales, se forma toda una gama de productos oxigenados (hidroperóxidos, ozónidos, diperóxidos, peróxidos y poliperóxidos) que son los responsables de la amplia actividad biológica de estos aceites vegetales ozonizados (Díaz, 2010).

- iii. **Crema ozonizada:** se usa principalmente en pacientes que padecen enfermedades en la piel principalmente en piodermas superficiales y profundas, ocasionadas por *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Malazzesia canis*. Se recomienda la aplicación en pacientes que padecen problemas de otitis en sus tipos externas e internas (Pacheco, 2012).

El procedimiento que se considera ideal en caso de heridas es lavar estrictamente la herida con agua ozonizada, se deja actuar por un lapso de 10 minutos, después se coloca una capa delgada de la crema sobre la lesión cubriéndola completamente.

Los procedimientos tópicos que se mencionan se están implementando como resolución de problemas dermatológicos ya sea por causas patógenas o heridas mostrando un avance notable en su cura (Díaz, 2010).

### Tabla No. 1

Concentraciones de Ozono que se maneja en medicina veterinaria de acuerdo a diferentes patologías, además de su vía de administración:

<b>Vías de administración</b>	<b>Patologías</b>		<b>Concentraciones</b>	<b>Volumen de gas</b>
AHM-m	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- 5 ml
Intraarticular	Enfermedades degenerativas de las articulaciones		10 a 15 µg/ml	1 a 10 ml
Subcutánea	Dolor neuropatico		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	5-40 ml
	Enfermedades musculo-esqueléticas	Dosis media		
	Enfermedades del sistema inmunológico			
	Enfermedades dermatológicas	Dosis alta		
Embolsado	Desinfección de heridas		50 µg/ml	
	Cicatrización de heridas		10-20 µg/ml	

\*Utilizar pocos µg/ml (10-20 µg/ml) para evitar irritación en la zona. Información tomada de (Rodekahr, 2015).

## **4. PRÁCTICA TERAPÉUTICA DE LA OZONOTERAPIA**

### **4.1 Uso de Ozono en Otitis**

La otitis es considerada como la inflamación del conducto auditivo externo y/o del tímpano, puede ser aguda o crónica (Bensignor *et al.*, 2009). Los signos clínicos frecuentes incluyen inflamación, descargas auriculares leves a moderadas, prurito y dolor (Soler *et al.*, 2000).

La otitis externa es una presentación clínica frecuente, suele tener una etiología multifactorial y forma parte de una dermatopatía generalizada o enfermedad sistémica subyacente (Patel y Forsythe, 2010).

Son diversos los factores que se involucran como causantes de la otitis entre ellos se mencionan:

- Factores predisponentes: estos no provocan la otitis pero aumentan el riesgo de inflamación auricular, considerando la conformación de la oreja y el entorno, dentro de estos factores.
- Factores primarios: son los agentes directamente responsables de la inflamación auricular, se incluyen, ectoparásitos, cuerpos extraños, tumores etc.
- Factores secundarios: por si solos no pueden provocar una otitis, contribuyen al fenómeno inflamatorio y se asocian con factores primarios y predisponentes. Como son bacterias y levaduras
- Factores perpetuantes: Aparecen después de los estadios iniciales de la inflamación auricular, como es el caso en las remodelaciones secundarias a la inflamación crónica por engrosamiento cutáneo, ulceraciones y edema, principalmente (Bensignor *et a.*, 2009).

Se realizó un estudio con la finalidad de obtener información acerca de la efectividad del uso de una crema a base de Ozono como tratamiento en pacientes caninos que cursan una enfermedad característica del oído que es la otitis, en sus diferentes estadios.

El estudio se realizó en 30 pacientes caninos que mostraron signos característicos de otitis, se empezó por tomar una muestra de las lesiones en el área afectada y se procedió a hacer un análisis microbiológico, una vez que los agentes presentes en la lesiones fueron identificados, se procedió a implementar tres protocolos de tratamiento divididos en tres grupos integrados por 10 perros cada uno.

En el primero con dos gramos de crema a base de Ozono, en el segundo con 4 gramos de crema y el tercer tratamiento se basó en la aplicación de enrofloxacin otica aplicándose consecutivamente en un periodo de 21 días.

Cuando los tratamientos finalizaron se tomó otra muestra de las áreas en las que se aplicó la crema a base de Ozono para exponer los resultados obtenidos en cada uno de los protocolos.

Los resultados que se obtuvieron con la aplicación de la crema a base de Ozono fueron considerables, debido a que en el tiempo de tratamiento fue posible la erradicación de los microorganismos causantes de la otitis, utilizando los 3 protocolos.

Al término de los 21 días de tratamientos con la crema a base de Ozono de 2 y 4 gr., al igual que el tratamiento con enrofloxacin ótica, mostraron una reducción al 0% comparado con los microorganismos encontrados antes de los tratamientos (Pacheco, 2012).

Los medicamentos administrados en problemas de otitis puede generar efectos secundarios, la ototoxicidad puede producirse en los casos en los que se procede

a la administración de tratamientos, sin que antes se verifique la integridad del tímpano (Bensignor *et al.*, 2009).

La conclusión a la que se llega es que independientemente de los resultados favorables obtenidos con los tres protocolos, la implementación del tratamiento con la crema a base de Ozono como tratamiento alternativo para la otitis externa, ayuda a obtener una recuperación considerable en los pacientes (Pacheco, 2012) y es menos tóxica que los tratamientos convencionales con antibióticos (Bensignor *et al.*, 2009).

#### **4.2 Uso de Ozono en piodermas**

La infección bacteriana de la piel es definida comúnmente como Pioderma (del latín pyo= pus, derma= piel) las piodermas son una de las causas más frecuentes de problemas dermatológicos en perros (Lorenza y Gómez, 2005).

La mayoría de los piodermas son secundarias, debido a varios factores que predisponen a la infección: factores físicos, higiene deficiente, procesos infecciosos y parasitarios, trastornos pruriginosos, endocrinopatías, malnutrición, malformaciones anatómicas (pliegues) (López, 2010).

La flora bacteriana es la que se encuentra normalmente en la piel y actúa como barrera natural para evitar la proliferación de patógenos que provoquen un desequilibrio en dicha barrera. La flora bacteriana de la piel se clasifica en:

- Transitorias: Se caracterizan por: adquirirse en el medio ambiente, se remueven con facilidad con la limpieza, no se multiplican sobre la piel normal, incluyen *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Corynebacterium sp*; *Pseudomonas*, *Bacillus sp*.
- Residente: Estas viven y se multiplican sobre la piel, se ubican en los espacios intercelulares, pueden ser reducidos en su número pero no eliminados con antibióticos, entre ellos están: *Micrococcus sp*,

*Staphylococcus intermedius* se encuentra en grandes cantidades mucocutaneas anal, nasal y oral.

- Nómadas: estas bacterias se distinguen de las residentes en que colonizan y se reproducen solo por cortos periodos de tiempo, y pueden tomar ventaja de los cambios climáticos de la superficie de la piel.
- Patógenas: se caracterizan principalmente por estar relacionadas en la patogénesis de la lesión (Gómez, 2011).

Se efectuó un estudio con el objetivo de analizar una población de 24 caninos que padecían de lesiones dermatológicas. A cada uno se les practicó estudios clínicos y de laboratorio para determinar el origen de la dermatitis, confirmando que la causa era bacteriana y se dieron protocolos de tratamiento correspondientes.

Una vez que se les practicaron las pruebas correspondientes a cada paciente y se confirmó la sospecha de piodermas, se manejó el siguiente protocolo de aplicación de Ozono:

La aplicación de Ozono se hizo mediante el uso de una bolsa de plástico Ozono resistente, que rodeaba la zona afectada, se insufló en el interior de la bolsa una mezcla de Ozono/Oxígeno a una concentración de 40 µg de Ozono/ml de Oxígeno en periodos cortos de 15 min cada 24 horas por 8 días.

Se tomaron muestras de las áreas afectadas al día 0, 4 y 8 del tratamiento para analizarlas en el laboratorio y hacer el conteo de UFC/ cm<sup>2</sup> (Unidad formadora de colonias por centímetro cuadrado), la cantidad de carga bacteriana en los días 4 y 8 del tratamiento habían disminuido considerablemente comparando con la cantidad que se encontró en la primer muestra en el día cero del tratamiento (Bernal, 2014).

Los pacientes afectados por la dermatitis bacteriana, sometidos a la aplicación de ozonoterapia gozaron de mejoría en la salud de la piel, es por ello que la

conclusión que se obtiene al término del estudio realizado fue que existe efectividad en el tratamiento de piodermas con la aplicación de ozonoterapia (Bernal, 2014).

#### **4.3 Factores de crecimiento derivados de plaquetas activados con Ozono. Proceso de obtención.**

Las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos que no presentan núcleo, resultantes de la ruptura de los megacariocitos, que son las células más grandes de la médula ósea (García, 2000).

El plasma rico en plaquetas (PRP) es la fracción de plasma que tiene una concentración de plaquetas superiores al valor basal, además contienen grandes cantidades de factores de crecimiento como son el factor de crecimiento derivado de plaquetas AB (PDGF-AB), factor de crecimiento transformador beta (TGF- $\beta$ ) y el factor de crecimiento vascular (VGF) principalmente que estimulan la proliferación celular, la quimiotaxis y la remodelación de la matriz extracelular y la angiogénesis (Schwartz *et al.*, 2011).

Cada uno de los factores encontrados dentro del plasma rico en plaquetas tiene diferentes funciones que relacionados entre sí permiten la regeneración de tejidos que han sufrido lesiones (Beca, 2007).

Los factores de crecimiento son proteínas que permiten la migración, diferenciación y proliferación celular. Es por ello que debido a la alta concentración y liberación de factores de crecimiento el plasma rico en plaquetas (PRP) puede aumentar la movilización e incremento de células madre y endoteliales (González, 2006).

El Ozono ocupa un papel importante en la activación de plaquetas, ya que promueve la agregación plaquetaria y la liberación de factores de crecimiento derivados de plaquetas. La activación de plaquetas con Ozono se ha utilizado

con efectividad en el tratamiento de tejidos blandos, cirugía oral, ortopedia y traumatología principalmente (Schwartz *et al.*, 2011).

Es importante considerar que existen factores predeterminantes implicados en la eficacia de la aplicación clínica de los concentrados de plaquetas, incluyendo: la concentración de plaquetas, técnica de obtención, manipulación y aplicación clínica.

Se considera primordial el uso de los factores de crecimiento en aquellos procesos en los que se necesita estimular la regeneración celular. Principalmente cuando existe degeneración de partes blandas. Se utiliza en la actualidad obteniendo resultados favorables en:

- Condropatías, osteocondritis y artrosis
- Lesión de los ligamentos de la rodilla, además de otras articulaciones
- Lesiones musculares y tendinosas
- Cicatrización de úlceras y heridas
- Lesiones corneales
- Regeneración cutánea
- Heridas con retardo de cicatrización
- Fracturas
- En cirugías se utiliza por su efecto antiinflamatorio, evita además hemorragias y edema (Vaquerizo, 2013).

Para poder llevar acabo la activación de las plaquetas se necesita obtener primero el plasma rico en plaquetas, para ello se realiza un proceso que incluye una serie de pasos:

1. La obtención de la sangre del paciente (figura 8) conservada con anticoagulante principalmente citrato de sodio o preferentemente utilizar

heparina, el volumen de sangre necesaria recomendablemente es de 5 a 10 ml (Schwartz *et al.*, 2011).



Figura 8 Extracción de la sangre para centrifugar (Alonso, 2013).

2. Posteriormente la sangre se deposita en un tubo y se mete a centrifugar a 1000 rpm durante 10 minutos, al término de la centrifugación se pueden observar tres fracciones principales 1) fracción eritrocitaria 2) capa leucocitaria 3) y plasma acelular, de igual manera esta última fracción puede subdividirse en: a) plasma rico en factores de crecimiento y b) plasma pobre en factores de crecimiento (figura 9) (Schwartz *et al.*; 2011).

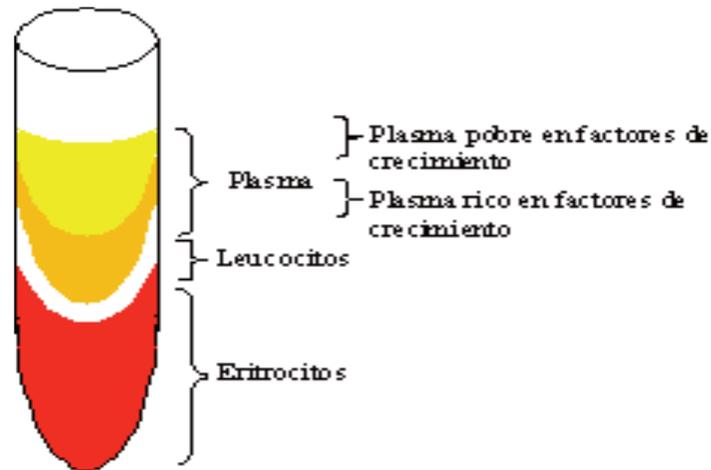


Figura 9. Obtención de las fracciones de eritrocitos, leucocitos y plasma (Schwartz *et al.*, 2011).

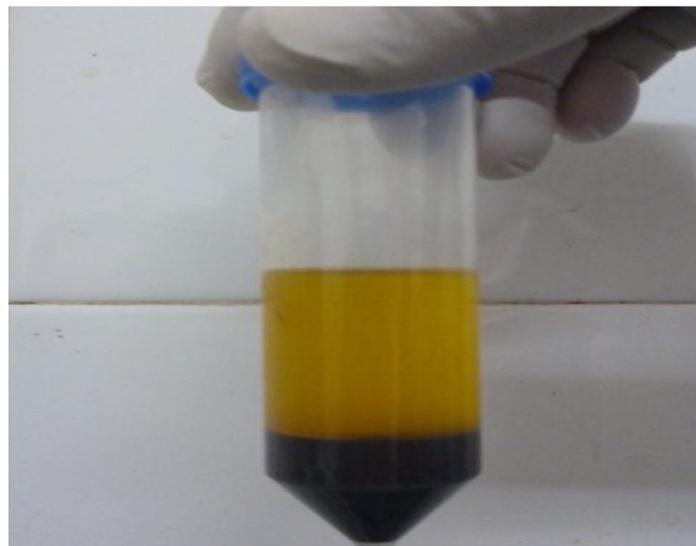


Figura 10 Sangre centrifugada (Alonso, 2013).

3. Al término de la primera centrifugación de la sangre, de las tres fracciones que se obtienen de esta, con una pipeta se toma la porción que contiene el plasma rico en plaquetas, (fig. 11) se deposita en otro tubo de ensayo y se realiza una segunda centrifugación (Reyes *et al.*, 2002).



Figura 11.Extracción del plasma rico en plaquetas (Alonso, 2013).

4. Para que el proceso se complete una vez que se ha obtenido el plasma rico en plaquetas PRP se carga con una jeringa un volumen de Ozono (fig. 12) similar al de PRP, las concentraciones de Ozono a las que se expone el plasma tiene una variación de  $40\mu\text{g/ml}$ ,  $60\mu\text{g/ml}$  y  $80\mu\text{g/ml}$  dependiendo del caso que se va a tratar y se procede a realizar la mezcla aproximadamente por un minuto (fig. 13) de igual manera se añade Cloruro de Calcio con la finalidad de dar una mejor y óptima liberación de los factores de crecimiento (Vaquerizo, 2013)

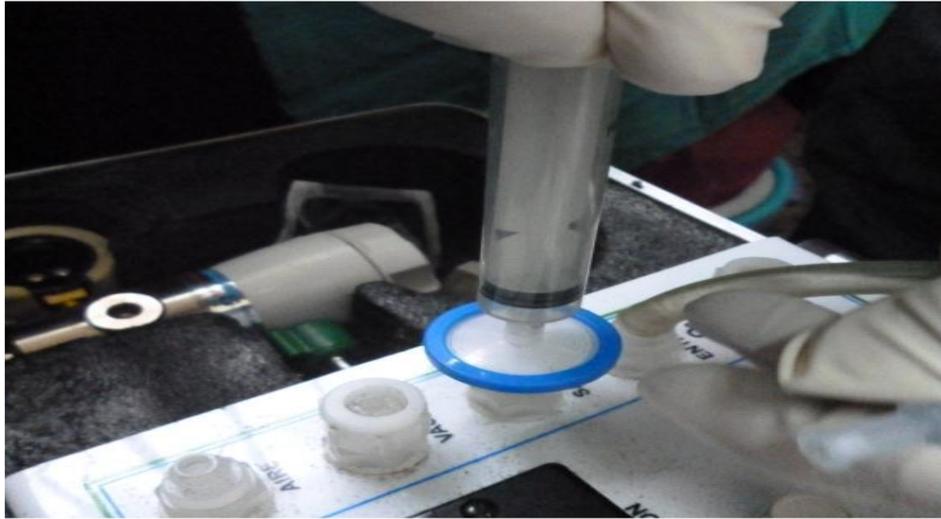


Figura 12 Extracción de Ozono del generador (Alonso, 2013).



Figura 13 Mezcla del Ozono con el plasma rico en plaquetas  
(Alonso, 2013).

La aplicación de factores de crecimiento es una técnica en medicina regenerativa reciente en medicina veterinaria poco usada pero con resultados exitosos en

patologías de la columna vertebral, y problemas de las articulaciones (Kirchner, 2012).

#### **4.4 Uso de Ozono en patologías músculo-esqueléticas**

Las enfermedades músculo esqueléticas afectan en gran parte a perros de edad avanzada, es importante destacar que perros jóvenes no están exentos de sufrir este tipo de enfermedades (Hernández, 2013).

Las funciones de la musculatura esquelética son mantener la postura y producir el movimiento, los pacientes que tienen alguna enfermedad de tipo muscular suelen presentar debilidad y esto se puede manifestar como una marcha rígida y forzada, temblores en la estación, posición baja de la cabeza, e intolerancia al ejercicio (Nelson y Couton, 2010).

El carácter regenerativo sobre los tejidos del aparato locomotor a través de los Factores de Crecimiento, que son liberados por los gránulos Alfa de las plaquetas, aceleran la regeneración de los tejidos lesionados mediante un mecanismo que reproduce las etapas fisiológicas iniciales de la reparación tisular mediante la regulación de las funciones celulares como: proliferación (mitosis) y supervivencia, degeneración o muerte programada (apoptosis), migración, comunicación intercelular y diferenciación celular como sucede, por ejemplo, en una fractura ósea o ruptura tendinosa que toma como punto inicial de la reparación la formación de un hematoma o trombo. También regulan la producción del colágeno, la síntesis de ácido hialurónico y la síntesis de matriz extracelular influyendo sobre el desarrollo o inhibición de artrosis (Kirchner, 2012).

Con la finalidad de estudiar los efectos analgésicos y antiinflamatorios del Ozono se realizó un trabajo en el que se formaron dos grupos de caninos, el primero integrado por 7 perros diagnosticados con osteoartritis y el segundo grupo

animales que presentaban dolor lumbar o cervical a causa de existentes hernias discales.

En el primer grupo se realizaron 4 sesiones, en la primera se aplican 5 ml de Ozono a una concentración de 8  $\mu\text{g/ml}$ , en cada una de las articulaciones afectadas, 7 días después se aplicaron tres sesiones con dos semanas de descanso entre ellas, para la activación de factores derivados de plaquetas con Ozono se obtuvo plasma rico en plaquetas (PRP) después fue ozonizado con un volumen de Ozono proporcional al volumen del plasma obtenido, a una concentración de 50  $\mu\text{g/ml}$  ya que el plasma se mezcló perfectamente con el Ozono se procedió a inyectar el plasma en la articulación afectada, además de la aplicación de ácido hialurónico a una dosis de 1 ml. Enseguida se complementa cada sesión con la administración de 5 ml del gas a una concentración de 8  $\mu\text{g/ml}$ .

Y en el segundo grupo comprendido por 15 perros con presencia de dolor e inflamación en los miembros posteriores causado por caídas o golpes, para estos casos se implementó el protocolo de tratamiento a base solamente de Ozono administrando 5 ml de Ozono a una concentración de 8  $\mu\text{g/ml}$ , el periodo de aplicación fue al tercer y sexto día después de la primera aplicación

Al término del tratamiento los resultados que se observaron fueron favorables, debido a que los dos grupos mostraron mejorías significativas, en el primer grupo se observó la mejoría ya que la actividad física aumentó, disminuyó el dolor a la palpación y de acuerdo a la edad empezaron a correr a partir de la tercera sesión.

Mientras que en el segundo grupo el dolor que padecía desapareció en la mitad del grupo a las 24 horas después de la primera sesión. La aplicación de Ozono y PRP activados con Ozono muestran como una opción de gran importancia para tratar patologías que afectan al sistema músculo-esquelético (Hernández, 2013).

Este estudio entre otros relacionados son indicativos de que el Ozono se puede aplicar como terapia analgésica y antiinflamatoria y así evitar administrar fármacos como los AINES que por tiempos prolongados pueden atraer efectos secundarios.

#### **4.5 Uso de Ozono en carcinoma de células escamosas.**

El carcinoma de células escamosas, es un tumor originado a partir del epitelio escamoso (Cotê, 2010) epidemiológicamente este tumor se presenta en pacientes caninos geriátricos y es considerado el segundo tumor más frecuente del canal auditivo luego del adenocarcinoma de glándulas ceruminosas. Y se encuentra característicamente en pacientes con piel poco o nada pigmentada, en muchos casos se describe una relación con la exposición solar (Vail y Whithrow, 2010).

Refiriéndose a razas los cocker Spaniel tienen una incidencia alta de neoplasias benignas y malignas, dentro de las neoplasias predominan los tumores de la piel y de las estructuras anexas del oído. El tumor maligno que se diagnostica comúnmente en los perros es el adenocarcinoma de células escamosas (Flores, 2009).

La presentación clínica de este tumor en los pacientes se muestra con la presencia de masas, de secreción ótica, prurito, dolor, parálisis del nervio facial y en grados más graves pueden incluso mostrar inclinación de cabeza o marcha en círculos (Cotê, 2010).

En los últimos años se han hecho publicaciones que demuestran que la ozonoterapia es un procedimiento antitumoral así como anti metástasis, en combinación con los tratamientos convencionales como la quimioterapia y radioterapia (Pérez, 2014).

Los carcinomas de células escamosas representan un tipo de tumores con gran capacidad metastásica y con una alta tasa de mortalidad en el hombre y en animales. La aplicación de Ozono ha demostrado IN VITRO capacidad de inhibir el

crecimiento de diversas células carcinomatosas, por lo cual se realizó un estudio para comprobar si el Ozono es capaz de producir efectos antitumorales sobre ciertos carcinomas (Schulz, 2008).

El estudio se realizó en 42 conejos blancos Nueva Zelanda, se les implantó el carcinoma VX2 en las orejas. La administración de la mezcla de gases en los conejos fue realizada insuflando en el peritoneo (neumoperitoneo) mientras cursaban una fase avanzada de la enfermedad, habiendo ya metástasis locales y regionales (Schulz, 2008).

La población de los 42 conejos se dividió en tres grupos: en el primer grupo 14 conejos fueron tratados con Ozono, el segundo grupo conformado por 13 conejos recibieron Oxígeno, y el tercero fue el grupo control con 14 conejos que no recibió ningún tratamiento (Schulz, 2008).

Finalmente los resultados fueron los siguientes: El periodo de aplicación de Ozono fue de 5 días consecutivos, de los ejemplares que recibieron la terapia de Ozono Intraperitoneal 7 conejos sobrevivieron, en 6 se observó una remisión completa del carcinoma. En los conejos tratados con Oxígeno sobrevivieron 3 y de ellos hubo 2 remisiones completas. Y en el tercer grupo en el que no se dio ningún tratamiento, de los 14 conejos sobrevivió uno con remisión espontánea.

Se presume de la efectividad que tiene la ozonoterapia en pacientes tanto humanos como animales con carcinomas en etapas avanzadas mostrando una alta tasa de mortalidad de las células cancerígenas (Schulz, 2008).

#### **4.6 Uso de Ozono en osteoartritis.**

La osteoartritis o artropatía degenerativa (ADP) es un proceso degenerativo que conduce a cambios en todos los componentes de una articulación sinovial, cartílago articular y hueso subcondral, membrana sinovial, líquido sinovial y tejidos blandos peri articulares (Bojrab y Monnet 2010).

Existe daño en la membrana sinovial o en el cartílago, que estimulan la activación de la cascada de la inflamación en la capsula articular, este hecho provoca la extravasación de las células inflamatorias desde los capilares sinoviales en la producción de enzimas degenerativas y mediadores de la inflamación. Incluido dentro de los mediadores de la inflamación se encuentra a los radicales libres derivados del Oxígeno, colagenasas y metaloproteinasas, que promueven la destrucción del cartílago a largo plazo (Beale, 2010).

Los signos clínicos de la ADP se limitan al sistema músculo esquelético, al principio la claudicación y la rigidez solo son evidentes después de realizar ejercicio intenso y pueden empeorar en climas fríos y húmedos, pero cuando la enfermedad progresa la fibrosis y el dolor producen disminución de la tolerancia al ejercicio, claudicación constante y en casos graves, atrofia muscular puede afectar a una única articulación o a varias articulaciones (Nelson y Couto, 2010).

Los pacientes veterinarios con avanzada edad llegan a padecer alteraciones óseas, principalmente en razas grandes. Se presenta el caso de un canino raza Bull dog Americano de 10 años de edad, presentaba edema en la región del carpo derecho, durante el examen físico al palpar el miembro torácico, se percibió crepitación en el área. El diagnóstico emitido para el paciente fue una osteoartritis en el carpo derecho.

Se describe que el paciente dos años antes recibió un tratamiento para dicha patología con glucosamina y condroitin de 600mg. Al observar que no se obtuvieron resultados favorables en el paciente tras el tratamiento se decidió optar por un cambio de tratamiento, y se aplicó la ozonoterapia como coadyuvante.

El protocolo de tratamiento que se empleó al paciente fue insuflación rectal una dosis de 100 ml y una concentración de 29 µg/ml de Ozono, añadiendo el uso tópico de aceite de girasol ozonizado sobre la articulación afectada, además del

uso de la técnica de embolsado cubriendo perfectamente el miembro anterior derecho durante 30 minutos.

Se dio un total de 10 sesiones divididas en 2 sesiones por semana. Observándose una mejoría en la segunda sesión del tratamiento, de tal manera que aumentó la actividad física del paciente.

Para la séptima sesión de ozonoterapia hubo una notable reducción del edema y de la crepitación en la articulación del carpo afectado que presentó al inicio del tratamiento. Ya en la octava sesión el carpo derecho presentó el mismo diámetro de la articulación contralateral y la dificultad para caminar era nula.

De acuerdo con los resultados obtenidos con el protocolo establecido para este caso se concluye que esta técnica fue eficaz en el tratamiento del paciente con osteoartritis por lo que se sugiere como terapia complementaria en casos que presentan el mismo problema (Carvalho *et al.*, 2013).

## **5. APLICACIÓN DE OZONO EN CASOS CLÍNICOS**

### **5.1 Aplicación intra-articular**

Paciente canino macho raza Dachshund de nombre Rigoletto de 2 años de edad. El dueño comenta que dos horas antes de llevar al paciente al hospital, este había saltado de un sillón, por lo que enseguida observó que al tratar de caminar no apoyaba el miembro anterior derecho.

De acuerdo a lo mencionado por el dueño se procedió a realizar el examen físico general de Rigoletto, los parámetros fisiológicos se encontraron dentro del rango normal. En el examen ortopédico realizado en estática se observó inflamación desde la región del codo hasta la región del hombro, presencia de algesia al tacto con crepitación en la articulación escapulo-humeral, durante el examen en dinámica se observó la incapacidad del paciente para desplazarse de un lugar a otro, mostrando una evidente claudicación grado 2 en el miembro anterior derecho en el que a pesar de que era notable la claudicación el miembro afectado lo seguía apoyando en estática (Hernández y santoscoy, 2003) La claudicación es el resultado de una patología o traumatismo del hueso, cartílago, músculo, tendón, ligamento o de alguna estructura neurovascular (Ramírez, 2013). De acuerdo al problema observado en la articulación se procedió a realizar un estudio radiográfico (fig. 14).



Figura 14. Radiografía medio-lateral de la articulación escapulo-humeral con osteoartrosis

La articulación del hombro es una diartrosis preparada para movimientos en todas las direcciones pero fundamentalmente en flexión y extensión y en menor grado en abducción y aducción (Chico, 2012).

El cartílago es un tejido elástico y resistente que cubre las extremidades de los huesos, impidiendo el roce y contacto directo entre ellos previniendo su desgaste, cuando este cartílago se daña, desgasta o rompe, surge la osteoartrosis, y es cuando los huesos expuestos se friccionan, provocan dolor, hinchazón, pérdida de movimiento de la articulación y deformaciones (Chico, 2012).

La imposibilidad de Rigoletto de apoyar la extremidad fue a causa del dolor producido por formación de osteofitos (fig. 14 se muestran en el círculo rojo) a nivel de la articulación escapulo-humeral que se observan claramente en la placa radiográfica (Rial, 2009). Permitiendo diagnosticar una osteoartritis.

Tratamiento: Con respecto al diagnóstico, el tratamiento coadyuvante que se estableció fue:

- Artroflex a base de condroitin sulfato, que es un constituyente del cartílago, glucosamina y colágeno, se mandó una tableta cada 24 horas por un periodo de 45 días, posteriormente se suspende por 45 días y se reinició el tratamiento por 45 días más.
- Se le aplicó ozonoterapia por vía intraarticular con un total de 10 sesiones, aplicando 2 sesiones por semana e iniciando la primer terapia a partir del día 20 de septiembre de 2014.

**Resultados:** Los resultados observados en la segunda sesión de ozonoterapia en Rigoletto fueron favorables, debido a que mostró mejoría en cuanto al grado de claudicación 2 que presentó antes del inicio de la terapia, disminuyendo al grado 1. Posteriormente al término de las sesiones, el dueño refiere que el paciente ya no muestra ningún signo de claudicación ni de dolor, observando que este realiza nuevamente sus actividades normales sin signos clínicos aparentes.

## **5.2 Técnica de embolsado**

Paciente canino de nombre Fritz, macho de 12 años de edad, raza Pastor Alemán, con un peso de 34.5 Kg. El dueño refiere que el canino fue atacado por un perro raza Pitbull, presentando múltiples heridas en los cuatro miembros, en el labio inferior y en pabellón auricular derecho, (fig.15), se procedió a realizar el examen físico general, presentando una ligera hipotermia, y una marcada deshidratación, correspondiente a un 10%, debido a que se encontraba en un estado de shock hipovolémico, como consecuencia de la hemorragia a través de las heridas.

En la parte ventral del canal auditivo externo se formó un absceso que al madurar se reventó y provocó la necrosis de los tejidos, aunado a presencia de otitis, y consecuentemente la secreción de material purulento.

En la otitis externa están involucrados una gran cantidad de microorganismos que empeoran aún más el estado de salud del canal auditivo, considerando principalmente: *Staphylococcus intermedius*, *Proteus spp.* y *Pseudomonas* (Álvarez y Álvarez, 2006).



Figura 15 Paciente con otitis causada por traumatismo

Debido a la gravedad del paciente se decide hospitalizar y realizar pruebas rutinarias. Se canalizó y administró fluidoterapia para la reposición de la hidratación de esta manera corregir el estado de shock, además de hacerle un baño para eliminar partículas contaminantes y limpiar el área para realizar limpiezas posteriores, antes de elegir un plan terapéutico se realizaron e interpretaron pruebas de laboratorio, puesto que se trataba de un perro geriátrico y era importante conocer el estado de salud en el que se encontraba.

Tabla 2. Resultados de biometría hemática de Fritz

	Unidad		Resultado	Valor de referencia
<b>Hto.</b>	<b>L/L</b>		<b>0.27</b>	<b>0.37- 0.50</b>
<b>Eritrocitos</b>	<b>X 10<sup>12</sup>/L</b>		<b>4.0</b>	<b>5.5-8.5</b>
<b>Hemoglobina</b>	<b>g/L</b>		<b>90</b>	<b>120-180</b>
VGM	g/L		67.5	60-77
CMHG	g/L		333	320-360
PT	g/L		67	60-75
<b>Leucocitos</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>		<b>18.4</b>	<b>6-17</b>
Linfocitos	%	X 10 <sup>9</sup> /L	0	1.0-4.8
<b>Monocitos</b>	%	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>1.1</b>	<b>0.1-0.8</b>
<b>Eosinófilos</b>	%	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>0</b>	<b>0.2-1.4</b>
Basófilos	%	X 10 <sup>9</sup> /L	0	Raros
<b>N. Banda</b>	%	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>1.28</b>	<b>0-0.3</b>
<b>N. segmentados</b>	%	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>16</b>	<b>3.0-11.5</b>

Interpretación de biometría hemática: Anemia normocítica normocromica asociada a pérdidas y/o falta de aporte. Leucocitosis por neutrofilia y desviación a la izquierda, monocitosis, linfopenia y eosinopenia asociado a un proceso inflamatorio y/o infeccioso.

Tabla 3. Resultados de química sanguínea

Analito	Resultado	Unidad	Valor de referencia
<b>Albumina</b>	<b>2.5</b>	<b>g/dL</b>	<b>2.6-4.0</b>
<b>PT</b>	<b>5.1</b>	<b>g/dL</b>	<b>5.2-8.2</b>
Glucosa	90	mg/dL	70-110
AST	94	UI/L	≤212
ALT	265	UI/L	≤120
Bilirrubinas totales	<0.4	mg/dL	≤0.9
Amilasa	657	UI/L	400-1500
<b>BUN/urea</b>	<b>31.3</b>	<b>mg/dL</b>	<b>6.0-26.0</b>
<b>Creatinina</b>	<b>2.4</b>	<b>mg/dL</b>	<b>≤1.6</b>
Calcio	9.2	mg/dL	8.6-12.0
Fosforo	6.5	mg/dL	2.5-6.8
Sodio	141	mmol/L	138-160
<b>Potasio</b>	<b>7.9</b>	<b>mmol/L</b>	<b>3.7-5.8</b>
Globina	N/A	g/dL	2.5-4.5

Interpretación de química sanguínea:

Hipoproteinemia por hipoalbuminemia asociado a pérdidas y/o falta de aporte, azotemia e hipercalemia asociado a daño renal (Núñez y Bouda, 2007).

De acuerdo con los resultados obtenidos en la química sanguínea se pudo verificar la presencia de daño renal en el paciente, por tal motivo es un indicativo que permitió manejar un plan terapéutico minucioso.

Posteriormente se realizó un lavado profundo de las heridas utilizando yodo espuma, agua oxigenada y suero fisiológico NaCl al 9% así como pomadas antisépticas y cicatrizantes (Fortderm).

De acuerdo con la clasificación básica de las heridas las lesiones que exhibía el paciente correspondieron a heridas sucias e infectadas, teniendo en cuenta la secreción purulenta (Pavletic, 2011) de acuerdo a la microbiología de las heridas por mordedura, estas se encuentran contaminadas por una gran variedad de microorganismo principalmente se encuentran bacterias aerobias (*Streptococcus*, *Clostridium perfringens*, *Klebsiella*, *Staphylococcus aureus* y *epidermis*) y bacterias anaerobias (*Fussobacterium*) entre otros (Velázquez *et al.*, 2013).

Como tratamiento para la otitis y desinfección de las heridas se administró amoxicilina con ácido clavulánico a una dosis de 15 mg/kg cada 12 horas, además como analgésico para el dolor provocado por las heridas graves se dio tramadol a 2 mg/kg cada 24 horas por 3 días. Al observar que no se obtenían los resultados esperados tras 2 administraciones del antibiótico y que el grado de infección ponía cada vez más en riesgo la vida del paciente (sepsis) se optó por cambiar el antibiótico por enrofloxacin a una dosis de 5 mg/kg cada 24 horas durante 5 días.

Además como coadyuvante del tratamiento se administró ozonoterapia con el objetivo de disminuir el tiempo de antibioterapia evitando generar un mayor daño renal al ya existente, considerando la farmacocinética del antibiótico. De igual

manera actúa en la eliminación de la infección del canal auditivo (fig. 16), por tal razón se aplicó la técnica de embolsado (fig. 17) el tratamiento completo se administró en un lapso de 20 días, las primeras 4 sesiones se aplicaron a una concentración de 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  como terapia de desinfección de las heridas manteniendo esta dosis, una vez que se pudo controlar la infección, en la cuarta sesión, la concentración de Ozono fue disminuyendo con el objetivo de ejercer un efecto cicatrizante que de acuerdo a la literatura es de 20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .



Figura 16 Otitis al inicio del tratamiento con Ozono, Véase la secreción purulenta proveniente del canal auditivo.



Figura 17 Aplicación de embolsado con Ozono. La parte rostral del paciente se deja descubierta, mientras que la región del canal auditivo es totalmente sellada para evitar fugas.

Al término del tratamiento se logra una respuesta favorable controlando en su totalidad la infección, y permitiendo una cicatrización de las heridas, con una evolución satisfactoria (fig. 18).



Figura 18. Cicatrización y remoción total de la otitis, al término de las sesiones con Ozono

### **5.3 Auto hemoterapia menor.**

Paciente canino hembra raza Schnauzer de 12 años de edad con antecedentes de problemas dermatológicos. Se refiere por presentar prurito intenso en la mayor parte del cuerpo. El paciente anteriormente había sido tratado por varios médicos quienes mediante pruebas dermatológicas dieron el diagnóstico de dermatitis atópica. Los médicos habían mantenido un plan terapéutico con glucocorticoides por tiempo prolongado como tratamiento para el prurito y la inflamación ocasionada, puesto que la enfermedad que manifestaba la paciente la padecía desde hace varios años.

Los tratamientos que se habían dado con anterioridad no habían tenido efectos favorables, e incluso se le realizó una inmunoterapia alérgeno-específica que consiste en la inoculación progresiva de pequeñas diluciones de alérgenos a los que es hipersensible el paciente y así conseguir una tolerancia a los mismos. (Lorente, 2013), pero desafortunadamente tiempo después tuvo recaída.

La atopia se considera como la predisposición genética al desarrollo de alergia por medición de IgE, frente a alérgenos medioambientales. Como tal la dermatitis atópica es una enfermedad inflamatoria y pruriginosa de la piel con predisposición genética con características clínicas determinadas (Carlotti, 2011).

Se realizó el examen físico general y se observaron lesiones producidas por la propia paciente al rascarse por el intenso prurito que sentía, consecuentemente la presencia de eritema, y alopecia en la región lateral del abdomen (Fig. 19).



Figura 19. Alopecia en región lateral del abdomen en paciente con dermatitis atópica

En base al diagnóstico se sugirió al propietario la aplicación de ozonoterapia y los beneficios que esta le ofrecía para mejorar el estado de salud de su mascota, el accedió al tratamiento y de acuerdo al cuadro clínico que presentaba se optó por la aplicación de autohemoterapia menor (AHM-m)

El procedimiento que se realizó fue:

1. Extracción de 3 ml de sangre del paciente volumen necesario de acuerdo al peso (fig. 20).
2. Se mezcló la sangre con un volumen de 10 ml de Ozono a una concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$  indicada en autohemoterapia menor (fig. 21).
3. Por 3 minutos se agitó la jeringa para homogenizar la sangre con el Ozono
4. Después se administró la sangre por vía intramuscular (fig. 22)



Figura 20. Extracciones de la muestra de sangre de la vena yugular



Figura 21. Vaciado de la sangre a la jeringa con Ozono



Figura 22. Aplicación de la autohemoterapia menor

El tratamiento comprendió la administración de Ozono en 10 sesiones, aplicando una por semana. Durante el tiempo del tratamiento se distinguió un cambio considerable en el problema dermatológico debido a la ausencia de prurito.

En la patogenia de la dermatitis atópica canina (DAC) juegan un papel muy importante un gran número de mediadores de la inflamación como: la histamina, serotonina, leucotrienos y citocinas (Carlotti, 2011). Esto explica el porqué de la aplicación de autohemoterapia menor (AHM-m) ya que está indicada en procesos inflamatorios y alergias.

Se considera importante y de gran ayuda la aplicación de ozonoterapia en esta paciente con dermatitis atópica, por lo tanto al concluir con la terapia, el propietario menciona un progreso satisfactorio en cuanto a la salud de la piel de su mascota, y señala un crecimiento del pelo en la zona afectada (fig. 23), además de la ausencia de prurito que era el signo clínico principal en la enfermedad descrita.



Figura 23. Paciente diagnosticado con dermatitis atópica al término de las sesiones de ozonoterapia mostrando el crecimiento de pelo.

#### **5.4 Insuflación rectal**

Paciente canino, raza Bernés de las Montañas de 3 meses de edad, sin esquema de vacunación ni desparasitación con una gastroenteritis hemorrágica. El propietario relató que el animal estaba decaído, presentaba inapetencia, vómito, diarrea sanguinolenta. Se hizo examen físico general mostrando dolor a la palpación abdominal, un estado del 9% de deshidratación, las mucosas pálidas y el TLLC (Tiempo de llenado capilar) >3 segundos. Por el cuadro que presentaba se realizan pruebas de laboratorio para orientarse a un diagnóstico exacto.

Tabla 4 Resultado de biometría hemática

	Unidad		Resultado	Valor de referencia
Hto.	L/L		0.44	0.37- 0.50
Eritrocitos	X 10 <sup>12</sup> /L		6.8	5.5-8.5
Hemoglobina	g/L		160	120-180
VGM	g/l		64	60-77
CMHG	g/L		363	320-360
<b>PT</b>	<b>g/L</b>		<b>78</b>	<b>60-75</b>
<b>Leucocitos</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>		<b>3.4</b>	<b>6-17</b>
<b>Linfocitos</b>	<b>%</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>0.1</b>	<b>1.0-4.8</b>
Monocitos	%	X 10 <sup>9</sup> /L	0.4	0.1-0.8
<b>Eosinófilos</b>	<b>%</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>0.06</b>	<b>0.2-1.4</b>
Basófilos	%	X 10 <sup>9</sup> /L	0	Raros
<b>N. Banda</b>	<b>%</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>0.5</b>	<b>0-0.3</b>
<b>N. segmentados</b>	<b>%</b>	<b>X 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>2.1</b>	<b>3.0-11.5</b>

**Interpretación:**

Leucopenia por neutropenia, linfopenia y eosinopenia con desviación a la izquierda asociada a un proceso infeccioso (Núñez y Bouda, 2007).

Con respecto a los resultados obtenidos en el hemograma y los signos clínicos característicos se sospecha de una infección viral, por tal razón además de las pruebas de laboratorio, se realizó mediante kit comercial una prueba de Elisa para la detección de anticuerpos IgG contra parvovirus canino, utilizada en la fase aguda de la enfermedad (2-8 días post infección) la cual dio positivo, emitiendo una parvovirus canina como diagnóstico definitivo (Gómez y Guida 2010).

El tratamiento establecido para este paciente fue a base de fluidoterapia administrando Cl Na al 0.9% para reponer la hidratación por pérdida de líquidos por el vómito constante, y diarrea sanguinolenta, para evitar infección bacteriana secundaria se aplicó un doble esquema de antibioterapia.

Se realizó tratamiento con Ozono mediante insuflación rectal (fig. 24) con un total de 10 sesiones cada tercer día a una concentración de 25 µg/ml por sesión.



Figura 24. Aplicación de insuflación rectal

La ozonoterapia aplicada en el paciente con parvovirus fue favorable, puesto que después de las primeras tres sesiones se observó que el paciente ya mostraba apetito y una evolución considerable, que significa que se puede proponer esta

terapia coadyuvante en pacientes que cursan enfermedades virales, la función principal es eliminar el virus del organismo del paciente, de acuerdo al efecto viricida que posee el Ozono al actuar como un potente oxidante, además del efecto inmunomodulador elevando el sistema de defensas para así poder contrarrestar la enfermedad.

### **5.5 Infiltración paravertebral**

Paciente canino de nombre Roy raza Husky Siberiano de dos años de edad, con un peso de 23.6 kg. El dueño describe que su mascota empezó con dificultad para caminar y desplazarse, previamente había sido atendido por otro médico, que dio un tratamiento con carprofeno y dexametasona, sin ver mejoría, y que cada día empeoraba. Al remitir el caso al Hospital Veterinario Valle se realizó examen físico general, mostrando constantes fisiológicas normales.

Posteriormente se hizo examen neurológico, se evaluó la marcha y postura se le hizo subir escaleras, rehusándose a subir por el dolor intenso que provocaba el escalar, también se incluyeron pruebas de reflejos espinales como el reflejo panicular, esta prueba consiste en punzar con una aguja de exploración neurológica la piel dorso-lateral a la columna vertebral (Raurell y Morales, 2010), desde la región lumbosacra hacia craneal hasta la región cervico-torácica, el reflejo panicular suele ser bilateral independientemente del sitio estimulado (Pellegrino *et al.*, 2000).

En la región lumbar se observó una respuesta aumentada del reflejo panicular del músculo cutáneo del tronco, Para obtener un diagnóstico se realizó un estudio radiográfico de la porción toracolumbar de la columna vertebral. (fig. 25)

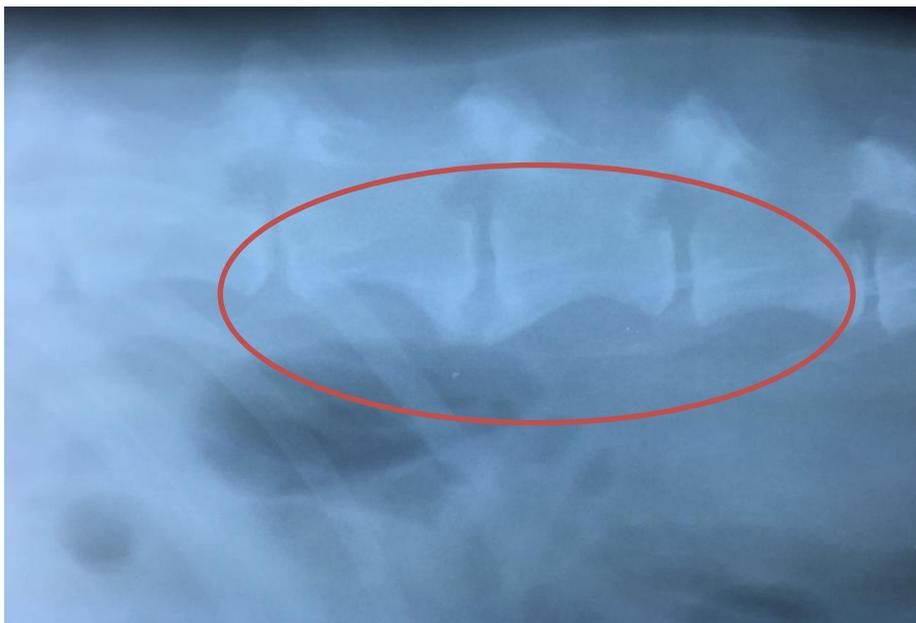


Figura 25. Radiografía lateral del segmento Toracolumbar de Roy, donde se observan puentes óseos (picos de Loro) marcados en círculo rojo en L1- L2

Las características observadas en la radiografía fueron disminución de los espacios intervertebrales, apenas visibles, presencia de osteofitos en los espacios intervertebrales lumbares L1-L2 y L3-L4 de la columna. La discoespondiloartrosis consiste en presentación de lesiones degenerativas de la columna vertebral a nivel del cartílago articular con neoformaciones de los rebordes articulares, que con el tiempo van creciendo y el daño en los tejidos cercanos provoca la presencia de inflamación y consecuentemente dolor en los pacientes (Barrera, 2005).

Característicamente es producto de la edad, pero también en algunas ocasiones a lesiones previas por rotaciones bruscas así como factores individuales: el sobrepeso y actividad física.

El paciente no se consideró como un caso geriátrico, así que la lesión pudo haber sido causa de un movimiento físico brusco o algún traumatismo, puesto que el

dueño refiere que está en constante movimiento físico debido a que lo lleva a correr.

El tratamiento que se dio para disminuir el dolor a causa del problema degenerativo fue aplicación de Ozono paravertebral, (fig. 26) que se infiltra exactamente en la facetas intervertebrales. Fueron 5 sesiones aplicando una por semana, con un volumen de 5 ml a una concentración de 15 µg/ml.



Figura 26 infiltración de Ozono paravertebral

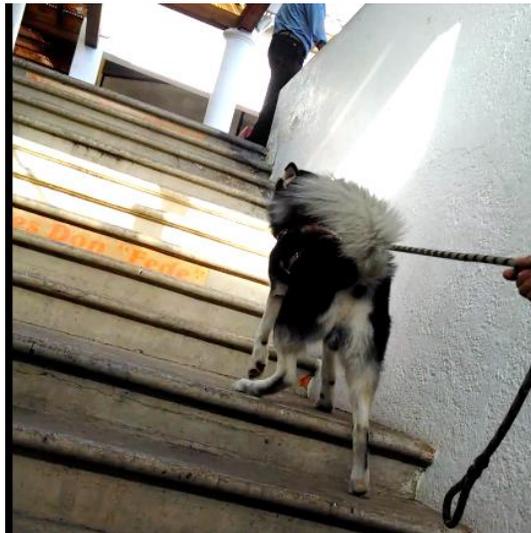


Figura 27 Paciente al término de las sesiones de infiltración paravertebral con Ozono

Al término de las sesiones se realiza examen en dinámica del paciente y se le indica subir las escaleras que sin problema alguno accedió, sin presentar alteraciones notables comparadas antes del tratamiento con Ozono (Fig. 27)

## **CONCLUSIONES**

La ozonoterapia es una técnica reciente en la práctica veterinaria que posee efectos favorables en diferentes enfermedades existentes en animales

Es una terapia considerablemente accesible para los propietarios que poseen mascotas que necesitan terapias alternativas como tratamiento para las diferentes enfermedades, además de no poseer efectos secundarios, evitando que agraven aún más el estado de salud del paciente.

A través de los resultados obtenidos en los casos descritos, se puede considerar la ozonoterapia como tratamiento coadyuvante importante en enfermedades que a largo plazo han sido tratadas con terapias convencionales que mantienen recidivas.

### **LITERATURA CITADA**

1. AEPROMO (2014): Declaración Madrid sobre la ozonoterapia. [http://www.aepromo.org/declaracion\\_madrid/DeclaracionMadrid.pdf](http://www.aepromo.org/declaracion_madrid/DeclaracionMadrid.pdf). (25 de Febrero 2015).
2. Alonso R. (2013): Plasma rico en plaquetas ozonizado en lesiones de los ligamentos de la articulación falangiana distal. Tesis de licenciatura. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
3. Alvarado GF. (2013): Aplicación de la ozonoterapia en sacroileitis. *International Journal of Ozone Therapy*, 12:140-141.
4. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A (2007): Plasma rico en plaquetas. una revisión bibliográfica. *Avances*. 19(1):20-22
5. Bensignor E, Germain P, Gauthier O. (2009): Enfermedades del oído en perro y gato. *Servet*, España.
6. Bernal RMR. (2014): Evaluación del efecto de la ozonoterapia en perros con problemas de dermatitis bacteriana en la ciudad Cuenca Provincia del Azuay. Tesis de licenciatura, Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
7. Barrera GM. (2005): Tratamiento de espondiloartrosis y canal lumbar estrecho. *Medigraphic*, 19(2).103-108.
8. Bojrab J, Monnet E. (2010): Mecanismos de enfermedad en cirugía de pequeños animales. *Inter-medica*, Buenos Aires, Argentina.
9. Briz LM, Vázquez GA. (2013): Autohemoterapia con ozono y su uso en la clínica equina. <http://www.equisan.com/images/pdf/ozonoterapia2.pdf>, (14 de Agosto de 2015).

10. Carvalho Z, Leal S, Moreira S, Abreu B, Cuña S. (2013): Terapia de oxígeno/ ozono en tratamiento de osteoartritis en perro reporte de un caso. *International Journal of ozone Therapy*, 12:171-182.
11. Chico A. (2012): Traumatología para no traumatólogos. Aproximación a los problemas ortopédicos más frecuentes AVEPA, Formación continuada, España, 6-10.
12. Díaz A, Valdés M, Hormigo MA. (2014): Animales en acción. *Revista ozonoterapia salud y vida*, (1):39-42.
13. Díaz GM, (2010): Uso y propiedades de los aceites vegetales ozonizados. La experiencia Cubana. *Revista CENIC.*, 41:2-6.
14. Díaz. LJ, Matías AC, Menéndez CS. (2013): Efecto modulador de la ozonoterapia sobre la actividad del sistema inmune. *Revista cubana de hematología, inmunología y hemoterapia*, 29:2-6.
15. Dorado MC, Rugerio VC, Rivas AS. (2003): Estrés oxidativo y neurodegeneración. *Rev. Fac Med UNAM.*, 17:172-179.
16. Fierro A. (2015): Ozonoterapia en la medicina veterinaria. [http://www.edifarm.com.ec/edifarm\\_quickvet/pdfs/articulos\\_tecnicos/OZONOTERAPIA.pdf](http://www.edifarm.com.ec/edifarm_quickvet/pdfs/articulos_tecnicos/OZONOTERAPIA.pdf). (28 de Febrero de 2015)
17. García FP. (2001): *Terapéutica del dolor*. Editorial aula veterinaria. Madrid, España.
18. García LJ. (2012): *Bases Bioquímicas, Clínicas y Técnicas de la terapia con ozono*. Facultad de ciencias veterinarias. Universidad de Buenos Aires. <http://www.fvet.uba.ar.>equinos>ozonoterapia> (12 de abril de 2015).
19. García LJ. (2014): Efectividad de la inyección eco guiada de peróxido de Oxígeno (Ozono) en artropatías intervertebrales del equino. Tesis de

- maestría. Universidad de Buenos Aires en medicina deportiva del equino. Buenos Aires, Argentina.
20. García MM, Coma CA. (2000): Características estructurales y funcionales de las plaquetas. *Rev. Cubana Angiol y Cir Vascular*, 1(2):132-141.
21. Gómez L, Blanco M, Domenech A. (2007): Manual de inmunología Veterinaria. PEARSON Prentice Hall, Madrid, España.
22. Gómez N, Guida N. (2010): Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos. Intermedica. Argentina.
23. González E. (2011): Ozonoterapia en flebología. *International Journal of Ozone Therapy*. 12:43-60.
24. González LJ. (2006): Plasma rico en plaquetas. *Revista española de cirugía oral y maxilofacial*. Madrid, España
25. Hernández AM, Santoscoy MC. (2003): Ortopedia. Diplomado a distancia en medicina cirugía y zootecnia en perros y gatos. UNAM, México, DF.
26. Hernández A. (2013). Utilización del ozono y factores de crecimiento ozonizados en patologías musculo-esqueléticas en la especie canina. *Revista Española de Ozonoterapia*, 2(1):91-94.
27. Hidalgo FJ, Torres LM. (2013): Ozonoterapia en medicina del dolor. Revisión. *Revista sociedad Española del dolor*. 20(6):291-300.
28. IAOT (Instituto Argentino de Ozonoterapia). (2015): Ozonoterapia. efecto analgésico y antiinflamatorio del dolor. [www.iaot.com.ar/analgesico-antiinflamatorio](http://www.iaot.com.ar/analgesico-antiinflamatorio) (01 de Septiembre de 2015).
29. Kirchner F. (2012): Tratamiento de las patologías discales y degenerativas de la columna vertebral con plasma rico en factores de crecimiento

- plaquetario ozonizado. Revista española de ozonoterapia. Barcelona, España.
30. López JR, Goicoa AV, Payo PP, Balazs VM, Rodríguez FAM. (2010): Manual de dermatología de los pequeños animales de compañía. <https://sites.google.com/site/manualdedermatologia/home/piodermas>. (02 de Noviembre de 2010).
31. Lorenzana, CLC, Gómez MCS. (2005): Pioderma canina. Virbac Al Día animales de compañía, 13:(6):2-8.
32. Lozada S. García L. (2009): Estrés oxidativo y antioxidantes: como mantener el equilibrio. Universidad del valle de Cali. Colombia, 17:172-179.
33. Mendoza RJE (2010): Utilización de la ozonoterapia en el tratamiento de hernia de discos intervertebrales en perros y gatos. Tesina de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México.
34. Menéndez S, González R, Ledea O, Hernández F, León O, Díaz F. (2008): Ozono, aspectos básicos y aplicaciones clínicas. Cenic, la Habana Cuba.
35. Nelson G, Couton C. (2010): Medicina interna de pequeños animales. Elsevier, Madrid, España.
36. Núñez OL, Bouda J. (2007): Patología clínica veterinaria. UNAM, México D. F.
37. Patel A. Forsythe P. (2010): Dermatología de pequeños animales. Elsevier, Barcelona España.
38. Pacheco AAG. (2012): Utilización de una crema a base de ozono para la otitis externa canina en el barrio la ecuatoriana en la Ciudad de Quito. Tesis de licenciatura, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.

39. Pavletic MM. (2011): Atlas de manejo de heridas y cirugía reconstructiva en pequeños animales. Intermedica. Buenos Aires, Argentina.
40. Pellegrino F. Suraniti A. Garibaldi L. (2000): Síndromes neurológicos en perros y gatos. Intermedica. Argentina.
41. Pérez OJ. (2012): Ozono Intraperitoneal con electro acupuntura en osteosarcoma. [www.oxigeno-ozonoterapia.com/index.php](http://www.oxigeno-ozonoterapia.com/index.php). (02 de Agosto de 2015).
42. Pérez OJ. (2014): Ozonoterapia en el cáncer. Oxígeno-Ozono Intraperitoneal [www.oxigeno-ozonoterapia.com/index.php.tratamiento-del-cancer-con-ozono-Intraperitoneal](http://www.oxigeno-ozonoterapia.com/index.php.tratamiento-del-cancer-con-ozono-Intraperitoneal). (20 de Octubre de 2015).
43. Reyes M, Montero R, Cifuentes F, Zarzar C. (2002): Actualización de la técnica de obtención y uso de plasma rico en factores de crecimiento. *Revista dental de Chile*, 93(2):3-9.
44. Rial CJ. (2009): Artroscopia del hombro. ARGOS. Alicante. <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/672/articulos-archivo/artroscopia-del-hombro-.html>. (28 de enero de 2016).
45. Rodríguez Y, Menéndez S, Bello J, Matos E. (1998): Actividad antitumoral del ozono. *Revista CENIC Ciencias Biológicas. La Habana Cuba*. 29(3):5-8.
46. Rojas RA. (2009): El estrés oxidativo en la pared vascular y su potencialidad de manipulación terapéutica. [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol28\\_3\\_09/ibi10309.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol28_3_09/ibi10309.htm) (Junio de 2015).
47. Sánchez AN, Vilaseca RL. (2011): Nuevas estrategias nutricionales para el manejo de la osteoartritis canina con Advance articular care. [http://www.advance.es/articular\\_care](http://www.advance.es/articular_care) (25 de diciembre de 2015).
48. Beale S B. (2010): Artritis del perro y del gato. *Banfield Journal*, 6(4):5-13

49. Schulz S. (2008): Treatment with ozone/oxygen- pneumoperitoneum results in complete remission of rabbit squamous cell carcinomas. *International Journal of Cáncer*, 122:2360-2367.
50. Schwartz A, Martínez- Sánchez G, Re L. (2011): Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. *Revista Española de Ozonoterapia*, 1(1):54-73.
51. Schwartz A, Martínez G. (2012): La Ozonoterapia y su fundamentación científica. *Revista Española de Ozonoterapia*, 2(1):163-198.
52. Solar M, Tello M, Moreso JM, Riera L. (2000): Otitis externa en perros y gatos: Aislamiento microbiológico y antibioterapia. *AVEPA.*, 20(3):7-11.
53. Uso de ozono pre y post quirúrgico en cirugía de cavidad abdominal en caninos. [www.edifarm.com.ec/edifarm\\_quickvet/pdfs/articulos\\_tecnicos/](http://www.edifarm.com.ec/edifarm_quickvet/pdfs/articulos_tecnicos/) (02 de Marzo de 2015).
54. Vaquerizo GV (2013): tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento. Tesis doctoral, Universidad de Alcalá, Madrid España.
55. Velázquez RV, Flores AM, Gómez PA. (2009): Tratamiento de heridas por mordeduras de perro en región craneofacial. *Revista odontológica mexicana*, 17(4):1-8.
56. Vidal L, Urruchi W, Zamora Z. (2009): Utilidad potencial de la Ozonoterapia en Medicina Veterinaria. *REDVET*, 10(10):3-11.
57. Vidal S. (2008): Efectividad clínica de las intervenciones con ozono. AETSA, España.
58. Virgilio G. (2013): Artritis séptica. Uso de la ozonoterapia para su tratamiento. *International Journal of Ozono Therapy*, 12:173-176.

59. Zamora RZB. (2012): Efecto del pre condicionamiento oxidativo con ozono en la prevención del daño orgánico y muerte en modelos de sepsis peritoneal y choque endotoxico. Tesis de doctoral. Centro Nacional de Investigaciones Científicas. La Habana Cuba.
60. Zerecero RKE (2013): Valoración del efecto protector del ozono sobre el rechazo crónico en el trasplante pulmonar experimental. Tesis doctoral, Las Palmas de Gran Canaria, España.