



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

PAULA LIMA DE OLIVEIRA

**Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de
estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à
ozonioterapia por insuflação retal**

**Araçatuba-SP
2023**

PAULA LIMA DE OLIVEIRA

Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Breno Fernando Martins de Almeida

**Araçatuba-SP
2023**

O48p

Oliveira, Paula Lima de

Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal / Paula Lima de Oliveira. -- Araçatuba, 2023
41 p. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba
Orientador: Breno Fernando Martins de Almeida

1. Ozônio. 2. Radicais livres. 3. Antioxidante. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal

AUTORA: PAULA LIMA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA**
Data: 03/07/2023 15:17:43 -0001
Verifique em: <https://validador.gov.br>

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)
Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos

Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Dr. JEAN GUILHERME FERNANDES JOAQUIM (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu / UNESP

Araçatuba, 03 de julho de 2023.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal

AUTORA: PAULA LIMA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)
Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos

Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Dr. JEAN GUILHERME FERNANDES JOAQUIM (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu / UNESP

 Documento assinado digitalmente
JEAN GUILHERME FERNANDES JOAQUIM
Emitido em 03/07/2023 às 17:40:03:00
Verifique em <https://valida1.jf.gov.br/>

Araçatuba, 03 de julho de 2023.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

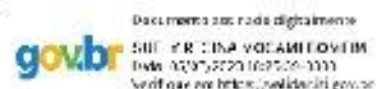
Título: Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal

AUTORA: PAULA LIMA DE OLIVEIRA

ORIENTADOR: BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em Ciência Animal, área: Fisiopatologia Médica e Cirúrgica pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. BRENO FERNANDO MARTINS DE ALMEIDA (Participação Virtual)
Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos



Profa. Dra. SUELY REGINA MOGAMI BOMFIM (Participação Virtual)
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal / Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/UNESP

Dr. JEAN GUILHERME FERNANDES JOAQUIM (Participação Virtual)
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Câmpus de Botucatu / UNESP

Araçatuba, 03 de julho de 2023.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha mais profunda gratidão ao Prof. Dr. Breno Fernando Martins de Almeida pelo seu apoio inestimável e orientação durante todo o processo de elaboração da minha tese de mestrado e durante toda a minha vida acadêmica. Obrigada por todo conhecimento compartilhado, pois eles foram fundamentais para minha formação, profissional e pessoal. Além disso, sou grata pela paciência, disponibilidade para sanar minhas dúvidas (mesmo que fossem várias) e encorajamento que você demonstrou em todos os momentos. Suas orientações claras e objetivas me ajudaram a superar desafios e a desenvolver meu potencial.

Não posso deixar de mencionar sua disponibilidade e prontidão em responder minhas dúvidas e fornecer feedback construtivo. Sua capacidade de estabelecer uma relação de confiança e respeito contribuiu para um ambiente de aprendizado saudável e estimulante.

Por fim, gostaria de expressar minha sincera gratidão por ter sido meu orientador durante esta etapa significativa da minha carreira acadêmica. Seu compromisso com o ensino e a pesquisa é inspirador, e serei eternamente grato por ter tido a oportunidade de aprender com você.

À banca examinadora da minha qualificação, Professor Doutor Paulo César Ciarlini e Professora Doutora Fernanda Saules Ignácio, agradeço à todas as considerações e sugestões extremamente relevantes, que lindamente enriqueceram esse trabalho. Além disso, obrigada por todas as palavras bonitas e pela postura profissional e amigável, o que tornou a experiência muito mais produtiva e positiva. Gostaria também de estender meu agradecimento aos membros da banca examinadora da defesa, a Professora Doutora Suely Regina Mogami Bomfim e ao Professor Doutor Jean Guilherme Fernandes Joaquim. Sua avaliação cuidadosa e contribuições valiosas com certeza enriquecerão o conteúdo da minha dissertação.

Não posso deixar de agradecer à equipe que me acompanhou no desenvolvimento deste projeto de pesquisa ou me ajudou de alguma forma para que isso se tornasse possível, Raquel, Mariana, Laura Arduíno, Tainara, Beatriz, Helena, Laura, Kaendra, Camila em Nathália, meus mais sinceros obrigada. O trabalho árduo, compromisso, entusiasmo ou até mesmo palavras de apoio foram fundamentais para

o sucesso deste estudo. Aos meus colegas de trabalho e amigos Ana Beatriz, Diana, Nely, Hugo e Duda, sou grata pela paciência, apoio e parceria, durante o processo de escrita dessa dissertação.

Também gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha família, minha mãe, meu pai e meus irmãos, por seu apoio incansável, encorajamento e compreensão durante todo o período de realização do mestrado. Suas palavras de incentivo e suporte emocional foram um alicerce sólido que me permitiu perseverar nos momentos mais desafiadores.

Além disso, gostaria de agradecer ao meu noivo, Guilherme Vieira Fernandes, por seu apoio inabalável e compreensão ao longo desta jornada acadêmica. Sua paciência, amor e encorajamento foram fundamentais para meu sucesso e felicidade durante essa etapa importante da minha vida.

Expresso minha sincera gratidão à instituição Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, por proporcionar a oportunidade de poder realizar minha formação e por enriqueceram minha experiência acadêmica.

Não posso deixar de agradecer à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo auxílio financeiro concedido para o desenvolvimento da minha pesquisa (Proc. 2020/04749-0). Sua contribuição foi fundamental para a realização deste estudo e para a busca por novos conhecimentos científicos.

Uma vez mais, agradeço a todos os mencionados e a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização da minha tese de mestrado. Sou imensamente grata por seu apoio, incentivo e confiança em mim.

Com os mais sinceros agradecimentos, Paula Lima de Oliveira.

OLIVEIRA, P. L. **Parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo em cães saudáveis submetidos à ozonioterapia por insuflação retal.** 2023. 41 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

A ozonioterapia atua no organismo induzindo um estresse oxidativo controlado, promovendo melhora da resposta antioxidante, imune e circulatória, o que parece auxiliar nos processos infecciosos e inflamatórios. Todavia, muito pouco é conhecido sobre como a ozonioterapia afeta os parâmetros fisiológicos e os indicadores de estresse oxidativo em cães. Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar os parâmetros clínicos, hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo de cães saudáveis submetidos à ozonioterapia e oxigenioterapia por insuflação retal. Para tal, 10 cães saudáveis foram alocados em três grupos experimentais em delineamento cruzado com um mês de intervalo: controle, sem intervenção; ozônio, que recebeu 100µg de O₃/kg por insuflação retal; e oxigênio, que recebeu volume equivalente ao de ozônio de O₂ medicinal por insuflação retal. Cada animal recebeu quatro aplicações consecutivas com intervalos semanais, com 2 coletas de sangue por semana no terceiro e sétimo dias após a aplicação. Posteriormente, foram acompanhados por mais 4 semanas, com coleta semanal. Sendo assim, os animais foram acompanhados por um total de 12 momentos, sendo avaliados parâmetros hematológicos, bioquímicos e de estresse oxidativo, determinando-se a capacidade antioxidante total (CAT) equivalente a trolox pela inibição da redução do cátion ABTS sozinho (CAT-ABTS) e associado à peroxidase (CAT ABTS-HRP), pela capacidade de redução férrica (CAT-FRAP) e cúprica (CAT-CUPRAC); além da determinação da capacidade oxidante total (COT), peroxidação lipídica pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e dos antioxidantes ácido úrico e albumina. As variáveis foram testadas quanto à normalidade e as diferenças entre os momentos e grupos foram verificadas pelos testes de ANOVA com medidas repetidas e pós-teste de Tukey ou Friedmann com pós-teste de Dunn, sendo consideradas significativas quando $p < 0,05$. A ozonioterapia por insuflação retal aumentou significativamente o peso dos animais e ao avaliar os parâmetros hematológicos, houve aumento do volume corpuscular médio (VCM) e do volume plaquetário médio (VPM); nos

parâmetros bioquímicos houve redução dos níveis séricos de colesterol total. Quanto aos parâmetros de estresse oxidativo a ozonioterapia reduziu significativamente CAT-FRAP em D7 tanto em relação ao momento basal quanto ao controle, aumentou significativamente a CAT-CUPRAC em D42 e D49 quando comparado ao grupo controle, causou aumento de ácido úrico quando comparado ao grupo oxigênio e reduziu a peroxidação lipídica em D21 em relação ao grupo controle. Conclui-se que a ozonioterapia por insuflação retal em cães saudáveis causa estresse oxidativo transitório seguido de uma resposta antioxidante e interfere de forma discreta em alguns parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos ainda permanecendo dentro dos intervalos de referência para a espécie, evidenciando ser uma terapia segura. Além disso, a oxigenioterapia causa estresse oxidativo sem induzir resposta antioxidante posterior.

Palavras-chave: Ozônio. Radicais livres. Antioxidante.

OLIVEIRA, P. L. Clinical, hematological, biochemical and oxidative stress parameters in healthy dogs submitted to ozone therapy by rectal insufflation. 2023. 41 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Ozone therapy acts in the body inducing a controlled oxidative stress, promoting an improvement in the antioxidant, immune and circulatory response, which seems to help in infectious and inflammatory processes. However, very little is known about how ozone therapy affects physiological parameters and oxidative stress indicators in dogs. In this context, the present study aimed to evaluate the clinical, hematological, biochemical and oxidative stress parameters of healthy dogs submitted to ozone therapy and oxygen therapy by rectal insufflation. For this purpose, 10 healthy dogs were allocated into three experimental groups in a crossover design with a one-month interval: control, without intervention; ozone, which received 100µg of O₃/kg by rectal insufflation; and oxygen, who received an ozone-equivalent volume of medicinal O₂ by rectal insufflation. Each animal received four consecutive applications at weekly intervals, with 2 blood collections per week on the third and seventh days after application. Subsequently, they were followed up for another 4 weeks, with weekly collection. Thus, the animals were followed up for a total of 12 moments, evaluating hematological, biochemical and oxidative stress parameters, determining the total antioxidant capacity (TAC) equivalent to trolox by inhibition of the reduction of the ABTS cation alone (TAC-ABTS) and associated with peroxidase (TAC ABTS-HRP), due to its ability to reduce iron (TAC-FRAP) and cupric (TAC-CUPRAC); in addition to determining the total oxidizing capacity (TOC), lipid peroxidation by reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS) and the antioxidants uric acid and albumin. Variables were tested for normality and differences between moments and groups were verified by ANOVA tests with repeated measures and Tukey or Friedmann post-test with Dunn post-test, being considered significant when $p < 0.05$. Ozone therapy by rectal insufflation significantly increased the weight of the animals and when evaluating the hematological parameters, there was an increase in mean corpuscular volume (MCV) and mean platelet volume (MPV); in the biochemical parameters there was a reduction in serum levels of total cholesterol. As for the oxidative stress parameters,

ozone therapy significantly reduced TAC-FRAP in D7 both in relation to the baseline and control moment, significantly increased TAC-CUPRAC in D42 and D49 when compared to the control group, caused an increase in uric acid when compared to the group oxygen and reduced lipid peroxidation on D21 compared to the control group. It is concluded that ozone therapy by rectal insufflation in healthy dogs causes transient oxidative stress followed by an antioxidant response and discreetly interferes with some clinical, hematological and biochemical parameters, still remaining within the reference ranges for the species, proving to be a safe therapy. Furthermore, oxygen therapy causes oxidative stress without inducing a subsequent antioxidant response.

Keywords: Ozone. Free radicals. Antioxidant.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1 Aprovação no Comitê de Ética.....	12
2.2 Seleção dos animais e delineamento experimental	12
2.3 Grupos experimentais e ozonioterapia.....	13
2.4 Coleta das amostras	13
2.5 Avaliação clínica, hematológica e bioquímica	14
2.6 Análise estatística	16
3 RESULTADOS	17
4 DISCUSSÃO	30
5 CONCLUSÃO.....	37
REFERÊNCIAS.....	38

1 INTRODUÇÃO

O oxigênio é um elemento fundamental para o organismo, podendo atuar de forma benéfica ou danosa em sistemas biológicos (BURTON; JAUNIAUX, 2011). Ele é vital para a oxidação de compostos orgânicos e produção de energia no metabolismo celular. De toda a quantidade consumida pelo organismo, 2 a 5% é reduzido, gerando uma série de substâncias químicas altamente reativas, conhecidas como espécies reativas de oxigênio (EROs) (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). As EROs produzidas em quantidades adequadas são benéficas para as células pois estão envolvidas em diversos processos fisiológicos de sinalização e regulação, e vivem em equilíbrio com as defesas antioxidantes que atuam intensivamente no controle da agressão produzida por essas espécies reativas (SAND et al., 2007). Quando há um desequilíbrio entre as defesas antioxidantes e os agentes oxidantes no organismo, desencadeia-se o estresse oxidativo (PEAKE; SUZUKI, 2004).

A ozonioterapia utiliza uma mistura de oxigênio e de ozônio resultante da passagem de oxigênio puro por uma descarga elétrica de alta voltagem e frequência (BOCCI, 2006). O objetivo da ozonioterapia é provocar estresse oxidativo agudo controlado de caráter transitório que promoverá estimulação e ativação do sistema antioxidante, além de melhorar a oxigenação tecidual e metabolismo (BOCCI et al., 1999). Tardamente, a terapia forma peróxido de hidrogênio, aldeídos diversos, ozonídeos e lipidioperóxidos que são produtos de oxidação lipídica, substâncias que possuem atividade de radicais livres, gerando uma resposta antioxidante tardia no próprio organismo (BOCCI et al., 1999).

A segurança da utilização da ozonioterapia tem sido demonstrada em alguns poucos estudos, principalmente na espécie equina, nos quais observaram pouca (CARVALHO, A. et al., 2022; HADDAD et al., 2009) ou nenhuma alteração clínica e bioquímica dos animais tratados (TSUZUKI et al., 2015). Contudo mais estudos são necessários para atestar as propriedades, efeitos e segurança da ozonioterapia na espécie canina. Moda et al. (2022) observaram tendência de melhora da função renal em cães positivos para leishmaniose visceral após ozonioterapia por via intrarretal. Enquanto Santos et al. (2023), observaram melhora clínica de cães positivos para parvovirose, por meio da terapia com ozônio intravenosa. A literatura é escassa quando se trata de padrões de estresse oxidativo e em mostrar em termos

quantitativos, qual é o seu impacto nos parâmetros clínicos e laboratoriais de cães saudáveis submetidos à ozonioterapia, sendo que a maior parte se resume a análises hematológicas e bioquímicas gerais a fim de tentar assegurar a segurança da aplicação da terapia. Ao se aprofundar se há alteração nos parâmetros de estresse oxidativo relativos às capacidades antioxidantes e oxidantes, nota-se a ausência de trabalhos que indique se o estresse oxidativo causado pela ozonioterapia é benéfico ou acarretará prejuízos a saúde do animal.

Nesse aspecto, para implementação da ozonioterapia na rotina da clínica médica e cirúrgica de cães, a comprovação da sua segurança é imprescindível. Com isso, o objetivo do presente estudo foi avaliar o estresse oxidativo, os parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos de cães saudáveis submetidos à ozonioterapia e oxigenioterapia por insuflação retal.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Aprovação no Comitê de Ética

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário das Faculdades Integradas de Ourinhos (CEUA-Unifio) sob protocolo número 013/2019.

2.2 Seleção dos animais e delineamento experimental

Foram selecionados 10 cães, com faixa etária média de $6,20 \pm 1,75$ anos de idade, pesando $11,96 \pm 0,29$ kg, de ambos os sexos (todas as fêmeas eram castradas), vacinados, vermifugados, sem a presença de ectoparasitas e alimentados exclusivamente com ração comercial, sem variação durante o experimento. Todos os cães eram clinicamente saudáveis e sem alterações hematológicas e bioquímicas séricas para inclusão no estudo, bem como não faziam uso de qualquer tipo de medicação. A inclusão de todos os cães utilizados no experimento ocorreu mediante autorização expressa por seu tutor, por meio de assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

A escolha dos animais baseou-se no critério de sanidade, falta de comorbidades e ausência do uso de medicação. O estudo foi delineado em modelo cruzado (*cross-over*) randomizado, de modo que todos os cães passaram por todos os tratamentos. Inicialmente a distribuição dos cães nos grupos experimentais foi aleatória e ocorreu por sorteio. Foram realizados três ciclos de intervenção com grupos de 3 ou 4 cães com duração dois meses cada ciclo, sendo um mês de tratamento e um mês de acompanhamento sem tratamento. Posteriormente, ao término do primeiro ciclo, os animais foram redistribuídos aleatoriamente por sorteio em outro grupo de tratamento. No último ciclo, os cães foram distribuídos nos grupos experimentais que ainda não haviam passado, totalizando seis meses de intervenção.

Os tutores dos animais e o patologista clínico que realizou as análises laboratoriais não tinham conhecimento do grupo experimental em que o animal estava, uma vez que as amostras obtidas foram codificadas e os tutores anotaram reações adversas durante os seis meses de intervenção.

2.3 Grupos experimentais e ozonioterapia

O delineamento experimental para avaliação da ozonioterapia por insuflação retal com o animal em estação foi composto de três tratamentos:

- Ozônio (O_3): os cães receberam, por via retal, insuflação da mistura oxigênio-ozônio ($13 \mu\text{g}$ de O_3/mL de gás), de forma que receberam a dose fixa de $100 \mu\text{g}$ de O_3/kg (DI FILIPPO et al., 2008) de peso vivo realizado uma vez por semana, durante quatro semanas.

- Oxigênio (O_2): os cães receberam, por via retal, insuflação do mesmo volume de oxigênio medicinal que receberiam quando tratados com ozônio, porém com equipamento ajustado para não produzir ozônio e liberar apenas oxigênio medicinal puro, sendo realizado na mesma frequência do grupo ozônio.

- Controle: os cães não receberam insuflação retal, tiveram apenas amostras obtidas nos mesmos momentos dos grupos anteriores.

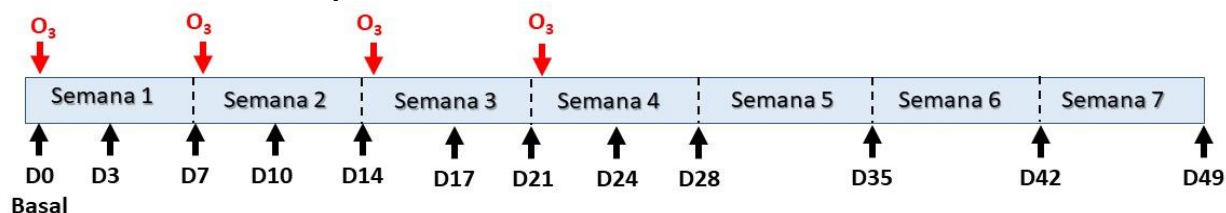
Os tratamentos e coletas foram realizados sempre no mesmo horário em todos os grupos. O ozônio foi produzido por equipamento específico (Ozone and Life, modelo OeL1.5RM, São José dos Campos, Brasil), acoplado a um cilindro de oxigênio medicinal, com fluxo de $0,25 \text{ L/min}$, filtro biológico $0,22 \mu\text{m}$ (Millipore®, Darmstadt, Germany) para garantir a esterilidade da mistura gasosa. A mistura era obtida e o volume mensurado em seringa estéril livre de látex e a aplicação retal feita de forma lenta com sonda uretral de silicone estéril compatível com o porte do animal.

Não foi realizada nenhuma outra terapia durante e após o tratamento. Além disso, foi entregue ao tutor uma ficha para anotação de efeitos adversos observados nos animais como apatia, hiporexia, vômito, diarreia ou qualquer outra alteração observada.

2.4 Coleta das amostras

As amostras de sangue foram obtidas após jejum de 8 horas na frequência de duas vezes por semana, nos terceiro e sétimo dias após o tratamento, durante as quatro semanas após o início do tratamento. Posteriormente seguiu-se com mais quatro coletas, uma vez por semana, no período de intervalo sem aplicação de gás, totalizando 12 coletas por animal. Quando a coleta coincidia com o tratamento, a mesma era realizada imediatamente antes do tratamento (Figura 1).

Figura 1 - Delineamento de aplicação da ozonioterapia ou oxigenioterapia nos cães por insuflação retal em doses fixas de 100 µg/kg. Cada dose foi aplicada uma vez na semana durante 4 semanas, posteriormente, nas quatro semanas seguintes, os cães tiveram amostras coletadas uma vez por semana. Os cães do grupo controle não passaram por tratamento e tiveram apenas amostras coletadas nos mesmos momentos.



Fonte: Elaborado pela autora.

O sangue foi colhido por punção jugular (cerca de 7 mL), acondicionado em tubo com ativador de coágulo (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para obtenção de soro e em tubos com K₂EDTA (BD Vacutainer®, Becton-Dickson, New Jersey, USA) para realização do hemograma. O tubo destinado à obtenção de soro foi centrifugado e o soro obtido foi armazenado a -20°C sob proteção da luz por um período máximo de 30 dias até o processamento laboratorial. Todo o manuseio e processamento das amostras ocorreu sem incidência de luz direta.

2.5 Avaliação clínica, hematológica e bioquímica

Os parâmetros clínicos avaliados incluíram frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, tempo de preenchimento capilar (TPC) e inspeção visual das mucosas oculopalpebrais. Para realização do hemograma, as contagens de hemácias, leucócitos, plaquetas e determinação de hemoglobina foram realizadas em contador automatizado de células veterinário (ABX Micros ESV 60, Paris, França). O volume globular foi determinado pelo método do microcapilar de Strumia (11.400 rpm por 5 minutos) e a contagem diferencial de leucócitos juntamente com avaliação morfológica de hemácias, leucócitos e plaquetas, foi realizada em esfregaço sanguíneo corado com corante hematológico comercial (Instant-Prov, Newprov, Pinhais, PR, Brasil), seguindo-se recomendações de Jain (1986).

As determinações bioquímicas foram realizadas em fotocolorímetro semiautomatizado (BIO 2000, BioPlus, Barueri, SP, Brasil) utilizando conjunto de reativos comerciais (Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) de acordo com as recomendações do fabricante. As determinações bioquímicas foram realizadas em

duplicata a 37°C após calibração com calibrador (Calibra H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) e verificação com controles comerciais níveis I (Qualitrol 1H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) e II (Qualitrol 2H, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil). Os níveis de colesterol total e triglicerídeos foram determinados por métodos enzimáticos-Trinder, glicose pelo método glicose oxidase-Trinder, ALT e AST por metodologia cinética ultravioleta (UV), albumina por método colorimétrico com verde de bromocresol, cálcio total pelo método colorimétrico cresoltaleína, creatinina por método colorimétrico do picrato alcalino-Jaffé, FA pelo método cinético de Bowers e McComb modificado, fósforo por determinação UV segundo método Daly e Ertingshausen modificado, GGT por método Szasz modificado, proteínas totais pelo método colorimétrico do biureto e ureia segundo metodologia enzimática UV. Os teores de colesterol HDL foram determinados após precipitação com ácido fosfotúngstico e cloreto de magnésio com posterior determinação de colesterol. O teor de globulinas foi obtido a partir da subtração de albumina das proteínas totais (MARTINS et al., 2023).

O estresse oxidativo foi determinado a partir do soro pela mensuração da CAT por quatro diferentes metodologias, da COT, da peroxidação lipídica pela determinação das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e da determinação dos antioxidantes ácido úrico e albumina segundo metodologia previamente descrita e realizada por nosso grupo de pesquisa em cães (ALMEIDA et al., 2013, 2017). Todas as determinações foram realizadas em fotocolorímetro semiautomatizado (BIO 2000, BioPlus, Barueri, SP, Brasil). O primeiro método foi o da capacidade de redução do cátion 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) (ABTS) associado à peroxidase (ABTS+HRP), o segundo foi o da capacidade de redução do cátion ABTS descrito por (EREL, 2004), o terceiro método foi pela capacidade antioxidante cúprica redutora (CUPRAC) conforme descrito em cães por (RUBIO et al., 2016) e o quarto pela capacidade de redução férrica do plasma (FRAP) segundo descrito por Benzie e Strain (1996). A COT foi determinada pelo método colorimétrico do xilenol laranja descrito por Erel (2005). A peroxidação lipídica foi determinada pelas TBARS segundo metodologia descrita Hunter, Nlemdim e Davidson (1985), sendo os resultados obtidos após comparação das amostras a uma curva-padrão com concentrações variando de 0 a 100 µmol de malondialdeído/L.

Todos os reagentes foram provenientes da Sigma-Aldrich Chemical Co (ALMEIDA et al., 2021; BONATTO et al., 2021).

2.6 Análise estatística

As variáveis foram testadas quanto à normalidade pelo Teste de Shapiro-Wilk e as diferenças entre os momentos e grupos foram verificadas pelos testes de ANOVA com medidas repetidas com pós-teste de Tukey ou Friedman com pós-teste de Dunn. Todas as análises estatísticas foram efetuadas em programa computacional (GraphPad Prism, v.6.00 para Windows, GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, www.graphpad.com), sendo considerados significantes quando $p < 0,05$.

3 RESULTADOS

Ao avaliar os parâmetros clínicos como a frequência cardíaca, a frequência respiratória, temperatura retal, TPC, inspeção visual das mucosas oculopalpebrais, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ou entre os momentos. Somente o peso dos animais no grupo ozônio aumentou significativamente em D3 (Tabela 1). As fichas de relato de reações adversas entregue aos tutores dos animais também não evidenciou a presença de efeitos adversos (dados não mostrados).

A concentração de hemácias, teor de hemoglobina e hematócrito reduziram em D17 no grupo oxigênio quando comparados ao controle. A ozonioterapia intrarretal aumentou significativamente o VCM em D7, D10 e D14 quando comparados ao momento basal. Não houve diferença significativa entre os grupos ou momentos em relação ao CHCM e RDW (Tabela 2).

A concentração de leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos e eosinófilos não apresentaram diferença significativa entre os grupos ou momentos. Neutrófilos bastonetes foram observados esporadicamente e em concentrações muito baixas, portanto não foram realizadas análises estatísticas. A aplicação de oxigênio intrarretal aumentou a contagem de monócitos em D10 quando comparado ao momento basal e em relação ao grupo controle e ozônio (Tabela 3).

A ozonioterapia aumentou o volume plaquetário médio (VPM) em D35 em relação ao momento basal. Não houve diferença significativa em relação à concentração de plaquetas, índice ictérico e concentração de proteínas plasmáticas totais (Tabela 4).

Nos parâmetros bioquímicos, não foram observadas diferenças nas variáveis albumina, ALT, AST, cálcio, colesterol HDL, creatinina, FA, fósforo, GGT, glicose, globulinas, proteínas totais, triglicerídeos e ureia. O grupo ozônio apresentou redução significativa de colesterol total em D49 em relação ao basal, não sendo observadas diferenças quanto aos demais tratamentos (Tabela 5).

Em relação aos parâmetros de estresse oxidativo, teores de ácido úrico aumentaram em D35 no grupo ozônio em relação ao grupo oxigênio (Figura 2D), sem diferenças entre grupos. Ao se avaliar o efeito do tempo após cada tratamento, não foi observada diferenças para variáveis CAT-ABTS (Figura 3), CAT-ABTS+HRP (Figura 4) CAT-CUPRAC (Figura 5) e COT (Figura 7). A aplicação intrarretal de

oxigênio aumentou significativamente a peroxidação lipídica em D24 (Figura 8B). A ozonioterapia intrarretal reduziu significativamente a CAT-FRAP em D7 e D28 (Figura 6C).

Ao se comparar as diferenças entre os tratamentos em cada momento, a oxigenioterapia intrarretal reduziu significativamente a CAT-ABTS em D42 (Figura 3D), a CAT-FRAP em D35 e D42 (Figura 6D) e a COT em D21 e D35 (Figura 7D) em relação do grupo controle. Já a ozonioterapia intrarretal causou aumento significativo da CAT-CUPRAC em D42 e D49 quando comparado ao grupo controle (Figura 5D) e da COT em D14, D17, D24 e D35 quando comparado ao grupo oxigênio (Figura 7D). Além disso, também reduziu significativamente a CAT-FRAP em D7 (Figura 7D) e a peroxidação lipídica em D21 (Figura 8D) em relação ao grupo controle.

Tabela 1 - Peso, frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura de cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001).**

	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D35	D42	D49
<i>Peso (kg)</i>												
Controle	11,8 ± 4,01	11,8 ± 4,08	11,8 ± 4,17	11,9 ± 4,19	11,7 ± 4,35	11,9 ± 4,24	11,8 ± 4,21	11,8 ± 4,07	11,8 ± 4,27	12,2 ± 4,31	11,9 ± 4,22	13,4 ± 3,82
Oxigênio	12,0 ± 4,01	11,8 ± 3,90	11,8 ± 3,68	11,8 ± 3,85	11,8 ± 3,91	11,7 ± 3,70	11,8 ± 3,79	11,8 ± 3,83	11,9 ± 3,83	11,9 ± 3,87	11,8 ± 3,88	11,8 ± 3,87
Ozônio	12,2 ± 3,95	12,4 ± 3,95 *	12,3 ± 3,80	12,2 ± 4,01	12,2 ± 3,91	12,2 ± 3,83	12,0 ± 3,94	11,9 ± 3,96	12,0 ± 3,92	12,0 ± 3,98	12,0 ± 4,02	12,0 ± 3,95
<i>Frequência cardíaca (bpm)</i>												
Controle	120 ± 12,22	122 ± 20,15	126 ± 18,60	123 ± 19,05	126 ± 14,99	118 ± 20,85	121 ± 16,23	116 ± 17,83	122 ± 22,01	121 ± 21,83	124 ± 18,76	112 ± 14,11
Oxigênio	119 ± 21,46	115 ± 26,23	117 ± 20,14	123 ± 30,99	128 ± 27,42	121 ± 21,73	119 ± 25,93	118 ± 18,21	124 ± 27,68	124 ± 21,12	108 ± 18,13	116 ± 27,48
Ozônio	115 ± 28,91	122 ± 16,36	123 ± 19,49	131 ± 23,93	114 ± 21,44	113 ± 18,55	119 ± 30,23	108 ± 16,27	112 ± 15,60	109 ± 16,77	114 ± 27,53	110 ± 20,93
<i>Frequência respiratória (mpm)</i>												
Controle	43,6 ± 8,10	41,2 ± 12,23	40,2 ± 11,25	38,4 ± 16,78	32,8 ± 6,75	37,6 ± 11,35	40,8 ± 16,09	36,6 ± 15,38	38,0 ± 11,2	35,6 ± 11,54	42,0 ± 13,23	36,8 ± 8,60
Oxigênio	43,6 ± 10,23	33,2 ± 9,81	33,2 ± 5,98	31,2 ± 3,16	34,4 ± 11,96	32,4 ± 10,74	34,4 ± 6,59	36,0 ± 11,16	35,2 ± 9,20	34,8 ± 10,34	36,8 ± 16,31	37,2 ± 12,08
Ozônio	41,2 ± 17,29	37,2 ± 11,16	35,6 ± 6,92	41,2 ± 20,31	35,2 ± 8,80	37,2 ± 9,99	33,4 ± 9,24	38,8 ± 14,24	37,2 ± 9,99	41,2 ± 20,66	34,2 ± 14,19	34,8 ± 9,25
<i>Temperatura (°C)</i>												
Controle	38,4 ± 0,51	38,3 ± 0,43	38,2 ± 0,55	38,5 ± 0,48	38,3 ± 0,46	38,4 ± 0,39	38,7 ± 0,36	38,3 ± 0,29	38,5 ± 0,23	38,4 ± 0,56	38,6 ± 0,22	38,6 ± 0,39
Oxigênio	38,1 ± 0,38	38,2 ± 0,61	38,5 ± 0,39	38,4 ± 0,50	38,1 ± 0,44	38,4 ± 0,45	38,2 ± 0,34	38,4 ± 0,34	38,4 ± 0,22	38,2 ± 0,57	38,4 ± 0,55	38,4 ± 0,35
Ozônio	38,5 ± 0,52	38,2 ± 0,38	38,3 ± 0,57	38,3 ± 0,52	38,4 ± 0,30	38,6 ± 0,36	38,3 ± 0,24	38,4 ± 0,37	38,4 ± 0,38	38,2 ± 0,45	38,2 ± 0,48	38,4 ± 0,22

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 2 - Hemácias, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), capacidade hemoglobínica corpuscular média (CHCM) e amplitude de distribuição eritrocitária (RDW) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D35	D42	D49
<i>Hemácias (x10¹²/L)</i>												
Controle	6,9 ± 0,67	7,0 ± 0,65	7,1 ± 0,57	7,0 ± 0,77	6,9 ± 0,71	7,3 ± 0,51	7,2 ± 0,76	7,0 ± 0,71	6,7 ± 0,59	7,0 ± 0,36	6,9 ± 0,38	7,0 ± 0,54
Oxigênio	6,8 ± 0,68	7,2 ± 0,62	6,8 ± 0,63	6,8 ± 0,94	6,6 ± 0,79	6,4 ± 0,66 §	6,7 ± 0,66	6,4 ± 0,56	6,5 ± 0,68	6,6 ± 0,57	6,5 ± 0,35	6,5 ± 0,83
Ozônio	6,9 ± 0,53	6,8 ± 0,55	6,9 ± 0,77	6,9 ± 0,44	6,9 ± 0,77	6,8 ± 0,97	6,9 ± 0,58	6,9 ± 0,68	6,8 ± 0,79	6,8 ± 0,90	6,9 ± 0,37	6,5 ± 0,84
<i>Hemoglobina (g/dL)</i>												
Controle	16,6 ± 1,26	17,0 ± 1,27	17,1 ± 1,71	16,4 ± 1,31	16,8 ± 1,55	17,5 ± 1,53	17,4 ± 1,86	16,3 ± 1,75	16,1 ± 1,50	16,8 ± 1,10	16,4 ± 0,93	16,66 ± 1,92
Oxigênio	16,4 ± 1,60	17,1 ± 1,03	16,5 ± 1,24	16,2 ± 1,99	16,4 ± 1,90	15,8 ± 1,50 §	16,1 ± 1,64	15,3 ± 1,12	15,9 ± 1,43	16,0 ± 1,14	15,7 ± 0,48	15,75 ± 2,45
Ozônio	16,5 ± 1,18	16,2 ± 1,44	16,8 ± 1,82	16,6 ± 0,91	17,1 ± 2,31	16,4 ± 2,29	16,7 ± 1,45	16,3 ± 1,81	16,6 ± 2,31	16,5 ± 2,39	16,8 ± 0,90	15,74 ± 2,28
<i>Hematócrito (%)</i>												
Controle	49,5 ± 3,34	50,0 ± 3,80	50,5 ± 4,03	49,1 ± 3,57	48,9 ± 4,72	51,5 ± 4,06	51,1 ± 5,04	48,9 ± 4,93	47,4 ± 3,81	50,4 ± 2,55	48,4 ± 2,67	49,4 ± 5,23
Oxigênio	48,6 ± 5,70	50,3 ± 3,37	49,2 ± 3,94	48,3 ± 5,23	47,8 ± 4,78	46,6 ± 4,03 §	47,1 ± 4,31	45,7 ± 3,20	46,2 ± 3,26	47,2 ± 2,39	46,3 ± 1,77	47,0 ± 6,48
Ozônio	49,0 ± 3,23	47,7 ± 3,47	49,7 ± 5,08	48,9 ± 2,42	49,4 ± 5,48	48,6 ± 5,89	48,8 ± 3,79	49,0 ± 4,81	48,1 ± 5,30	48,3 ± 6,29	49,3 ± 2,63	47,0 ± 5,64
<i>VCM (fL)</i>												
Controle	71,1 ± 3,05	71,0 ± 2,60	71,2 ± 3,12	70,4 ± 3,87	71,1 ± 3,20	70,9 ± 3,75	71,4 ± 3,19	70,3 ± 2,99	70,6 ± 3,34	71,8 ± 3,28	70,7 ± 2,67	70,4 ± 4,37
Oxigênio	71,4 ± 3,31	69,9 ± 3,40	72,1 ± 3,23	71,7 ± 3,48	72,7 ± 3,10	72,5 ± 3,01	70,6 ± 3,98	71,2 ± 2,77	71,4 ± 3,31	71,8 ± 3,64	71,3 ± 2,27	72,1 ± 4,06
Ozônio	70,6 ± 2,69	70,3 ± 2,82	72,1 ± 3,24 ***	71,0 ± 4,11 *	71,8 ± 3,33 *	71,8 ± 3,24	71,3 ± 2,19	71,3 ± 2,63	71,0 ± 2,71	70,8 ± 3,88	71,5 ± 3,00	72,4 ± 3,52
<i>CHCM (%)</i>												
Controle	33,5 ± 0,97	34,0 ± 1,10	33,8 ± 0,98	33,4 ± 0,70	34,5 ± 0,90	34,0 ± 0,53	34,1 ± 1,00	33,4 ± 1,44	33,9 ± 1,47	33,3 ± 0,92	33,8 ± 0,49	33,7 ± 1,14
Oxigênio	33,8 ± 1,32	34,0 ± 0,97	33,6 ± 0,51	33,6 ± 0,99	34,3 ± 0,94	33,8 ± 0,99	34,1 ± 1,42	33,5 ± 0,74	34,3 ± 1,38	33,9 ± 1,16	33,8 ± 0,66	33,4 ± 0,90
Ozônio	33,6 ± 1,10	33,9 ± 1,02	33,8 ± 0,95	33,9 ± 1,38	34,5 ± 1,13	33,6 ± 0,89	34,3 ± 1,34	33,1 ± 1,02	34,5 ± 1,68	34,0 ± 1,47	34,2 ± 1,49	33,4 ± 1,03
<i>RDW (%)</i>												
Controle	17,0 ± 0,50	17,1 ± 0,58	17,5 ± 0,86	17,1 ± 0,63	16,9 ± 0,74	17,1 ± 0,84	16,9 ± 0,62	17,0 ± 0,84	16,8 ± 0,81	17,4 ± 0,75	17,1 ± 0,56	17,0 ± 0,73
Oxigênio	17,0 ± 0,61	17,1 ± 0,77	17,5 ± 0,68	17,0 ± 0,56	16,8 ± 0,69	16,9 ± 0,72	17,0 ± 0,86	17,1 ± 0,66	16,7 ± 0,61	16,9 ± 0,77	17,0 ± 0,62	17,0 ± 0,51
Ozônio	17,0 ± 0,59	16,9 ± 0,6	17,3 ± 0,88	17,2 ± 0,41	16,7 ± 0,73	17,1 ± 0,64	16,7 ± 0,95	17,3 ± 0,61	16,7 ± 0,71	17,0 ± 0,82	17,0 ± 0,93	17,0 ± 0,65

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 3 - Leucócitos totais, neutrófilos segmentados, linfócitos, monócitos e eosinófilos em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D35	D42	D49
<i>Leucócitos totais (x10⁹/L)</i>												
Controle	5,7 ± 1,63	6,0 ± 1,85	6,5 ± 2,04	6,3 ± 1,55	6,0 ± 1,55	5,9 ± 1,91	5,8 ± 1,86	5,9 ± 2,11	5,6 ± 1,88	6,1 ± 1,58	5,9 ± 1,59	5,6 ± 1,57
Oxigênio	6,0 ± 1,28	6,5 ± 1,95	6,5 ± 1,55	7,0 ± 2,30	6,2 ± 2,09	6,4 ± 2,20	6,8 ± 2,82	6,6 ± 1,69	6,3 ± 1,85	5,6 ± 1,37	5,7 ± 1,46	5,8 ± 1,65
Ozônio	5,6 ± 1,40	5,8 ± 1,38	6,3 ± 2,18	6,2 ± 1,67	6,1 ± 1,73	5,7 ± 1,54	5,7 ± 1,52	6,0 ± 1,69	6,3 ± 2,03	6,2 ± 1,90	6,0 ± 1,13	5,6 ± 1,11
<i>Neutrófilos (x10⁹/L)</i>												
Controle	3,63 ± 7,92	3,86 ± 9,21	4,31 ± 7,09	4,04 ± 5,04	3,98 ± 7,50	3,70 ± 3,57	3,48 ± 5,04	3,73 ± 7,33	3,46 ± 9,05	4,10 ± 8,58	3,86 ± 7,81	3,64 ± 6,08
Oxigênio	3,83 ± 11,83	4,42 ± 5,64	4,61 ± 10,82	4,58 ± 9,95	4,32 ± 11,19	4,43 ± 7,41	4,91 ± 8,27	4,76 ± 11,78	4,23 ± 3,67	3,63 ± 5,45	3,71 ± 5,83	3,56 ± 7,44
Ozônio	3,59 ± 11,75	3,75 ± 13,35	4,45 ± 7,82	4,02 ± 9,77	4,29 ± 10,62	3,63 ± 8,08	3,95 ± 10,02	4,20 ± 6,19	4,29 ± 7,40	4,33 ± 14,55	4,18 ± 11,16	3,70 ± 17,51
<i>Linfócitos (x10⁹/L)</i>												
Controle	1,37 ± 0,48	1,53 ± 0,96	1,56 ± 1,04	1,67 ± 0,97	1,44 ± 0,60	1,57 ± 0,56	1,55 ± 0,58	1,38 ± 0,53	1,47 ± 0,56	1,30 ± 0,59	1,41 ± 0,33	1,40 ± 0,25
Oxigênio	1,40 ± 0,47	1,33 ± 0,65	1,17 ± 0,35	1,50 ± 0,58	1,11 ± 0,52	1,18 ± 0,36	1,10 ± 0,42	1,12 ± 0,46	1,49 ± 0,84	1,30 ± 0,45	1,23 ± 0,45	1,43 ± 0,48
Ozônio	1,29 ± 0,44	1,40 ± 0,59	1,25 ± 0,58	1,23 ± 0,45	1,11 ± 0,46	1,31 ± 0,56	1,17 ± 0,59	1,31 ± 0,46	1,19 ± 0,42	1,09 ± 0,44	1,31 ± 0,47	1,32 ± 0,39
<i>Monócitos (x10⁹/L)</i>												
Controle	0,22 ± 0,21	0,24 ± 0,23	0,12 ± 0,16	0,21 ± 0,21	0,19 ± 0,21	0,13 ± 0,24	0,11 ± 0,19	0,11 ± 0,18	0,12 ± 0,22	0,09 ± 0,2	0,11 ± 0,17	0,10 ± 0,22
Oxigênio	0,08 ± 0,16	0,20 ± 0,22	0,15 ± 0,23	0,21 ± 0,40 §*#	0,10 ± 0,21	0,10 ± 0,17	0,18 ± 0,23	0,17 ± 0,22	0,16 ± 0,18	0,08 ± 0,15	0,12 ± 0,16	0,21 ± 0,28
Ozônio	0,13 ± 0,22	0,14 ± 0,19	0,11 ± 0,19	0,10 ± 0,24	0,16 ± 0,32	0,10 ± 0,16	0,13 ± 0,17	0,12 ± 0,14	0,20 ± 0,25	0,20 ± 0,33	0,12 ± 0,29	0,13 ± 0,24
<i>Eosinófilos (x10⁹/L)</i>												
Controle	0,49 ± 0,36	0,40 ± 0,40	0,47 ± 0,37	0,37 ± 0,29	0,36 ± 0,30	0,41 ± 0,32	0,60 ± 0,61	0,56 ± 0,55	0,46 ± 0,51	0,47 ± 0,52	0,47 ± 0,44	0,37 ± 0,34
Oxigênio	0,58 ± 0,56	0,48 ± 0,36	0,48 ± 0,43	0,50 ± 0,46	0,52 ± 0,44	0,61 ± 0,68	0,52 ± 0,29	0,51 ± 0,39	0,41 ± 0,47	0,55 ± 0,56	0,54 ± 0,71	0,54 ± 0,55
Ozônio	0,53 ± 0,46	0,43 ± 0,21	0,45 ± 0,22	0,64 ± 0,39	0,42 ± 0,47	0,64 ± 0,50	0,36 ± 0,33	0,38 ± 0,35	0,52 ± 0,62	0,47 ± 0,45	0,47 ± 0,26	0,55 ± 0,42

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 4 - Valores de plaquetas, Volume Plaquetário Médio (VPM,) proteína plasmática total e índice ictérico (IIC) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D35	D42	D49
<i>Plaquetas (x10⁹/L)</i>												
Controle	184,3 ± 45,2	183,2 ± 60,7	192,9 ± 45,6	194,7 ± 22,9	191,3 ± 37,7	197,3 ± 34,7	195,4 ± 41,1	193,8 ± 46,4	184,7 ± 60,3	191,9 ± 37,0	191,7 ± 44,5	198,9 ± 42,3
Oxigênio	202,0 ± 37,9	203,6 ± 36,1	207,4 ± 31,7	178,0 ± 40,3	191,0 ± 33,0	188,6 ± 27,9	201,6 ± 32,1	222,8 ± 54,9	211,9 ± 53,3	210,4 ± 51,1	194,2 ± 42,5	194,0 ± 48,1
Ozônio	196,7 ± 26,3	193,0 ± 30,9	200,0 ± 32,5	189,7 ± 39,5	182,0 ± 32,4	193,5 ± 35,7	185,1 ± 27,1	184,4 ± 32,9	175,8 ± 35,1	190,9 ± 32,6	184,4 ± 25,5	204,0 ± 38,7
<i>VPM (fL)</i>												
Controle	9,9 ± 0,91	10,1 ± 0,9	10,0 ± 0,94	9,8 ± 0,97	9,9 ± 1,04	9,8 ± 1,03	10,0 ± 1,03	9,7 ± 0,99	9,9 ± 1,17	10,0 ± 1,02	9,7 ± 0,84	9,9 ± 0,9
Oxigênio	9,8 ± 0,73	9,8 ± 0,80	9,9 ± 0,72	9,9 ± 0,79	9,6 ± 0,61	9,9 ± 0,83	9,8 ± 0,83	9,8 ± 0,91	9,9 ± 0,89	10,0 ± 0,69	9,9 ± 0,82	9,9 ± 0,79
Ozônio	9,8 ± 0,80	9,9 ± 0,92	10,2 ± 1,08	9,9 ± 1,02	9,8 ± 0,88	10,0 ± 1,21	9,9 ± 0,92	9,9 ± 0,92	9,9 ± 0,82	10,1 ± 0,82*	9,9 ± 0,88	9,9 ± 0,82
<i>PPT (g/dL)</i>												
Controle	6,9 ± 0,72	6,8 ± 0,59	6,8 ± 0,50	6,8 ± 0,52	6,8 ± 0,46	6,9 ± 0,38	6,8 ± 0,37	6,7 ± 0,42	6,6 ± 0,31	6,8 ± 0,24	6,8 ± 0,35	6,8 ± 0,18
Oxigênio	6,7 ± 0,47	6,9 ± 0,43	6,7 ± 0,33	6,6 ± 0,43	6,7 ± 0,51	6,6 ± 0,37	6,7 ± 0,40	6,5 ± 0,29	6,8 ± 0,33	6,8 ± 0,25	6,6 ± 0,39	6,5 ± 0,52
Ozônio	6,7 ± 0,43	6,9 ± 0,75	6,7 ± 0,44	6,7 ± 0,30	6,8 ± 0,47	6,7 ± 0,65	6,8 ± 0,32	6,6 ± 0,36	6,6 ± 0,56	6,9 ± 0,31	6,8 ± 0,43	6,3 ± 0,62
<i>IIC (U)</i>												
Controle	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0
Oxigênio	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0
Ozônio	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0	2 ± 0

Fonte: Elaborado pela autora.

Tabela 5 - Albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), cálcio, colesterol total, colesterol HDL, creatinina, fosfatase alcalina (FA) fósforo, gamaglutamil transferase (GGT), glicose, globulinas, proteína total, triglicerídeos e ureia em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

	D0	D3	D7	D10	D14	D17	D21	D24	D28	D35	D42	D49
(continua)												
<i>Albumina (g/dL)</i>												
Controle	3,1 ± 0,31	3,1 ± 0,33	3,2 ± 0,3	3,2 ± 0,31	3,2 ± 0,33	3,3 ± 0,35	3,3 ± 0,36	3,1 ± 0,37	3 ± 0,32	3,1 ± 0,31	3,2 ± 0,28	3,2 ± 0,32
Oxigênio	3,3 ± 0,43	3,3 ± 0,42	3,3 ± 0,36	3,2 ± 0,35	3,3 ± 0,41	3,3 ± 0,46	3,2 ± 0,28	3,2 ± 0,31	3,3 ± 0,38	3,3 ± 0,33	3,2 ± 0,36	3,3 ± 0,33
Ozônio	3,2 ± 0,34	3,2 ± 0,42	3,1 ± 0,35	3,2 ± 0,28	3,3 ± 0,41	3,2 ± 0,43	3,2 ± 0,3	3,2 ± 0,39	3,1 ± 0,32	3,2 ± 0,41	3,1 ± 0,42	3,1 ± 0,48
<i>ALT (UI/L)</i>												
Controle	47,7 ± 28,42	45,6 ± 21,39	43,0 ± 14,35	41,4 ± 13,17	40,3 ± 11,59	41,9 ± 12,10	47,7 ± 20,58	50,3 ± 23,84	50,8 ± 31,63	47,1 ± 32,19	51,9 ± 39,35	50,8 ± 35,02
Oxigênio	42,4 ± 10,61	44,5 ± 12,89	45,0 ± 14,44	46,1 ± 10,12	51,3 ± 24,16	49,8 ± 19,64	48,7 ± 15,82	40,3 ± 7,83	41,9 ± 9,24	47,1 ± 24,07	47,7 ± 20,28	46,2 ± 15,43
Ozônio	45,0 ± 12,15	41,9 ± 13,07	41,9 ± 12,83	41,4 ± 13,62	46,6 ± 21,87	43,5 ± 19,14	46,6 ± 19,36	46,1 ± 15,58	41,9 ± 15,22	40,3 ± 13,98	37,7 ± 8,11	40,9 ± 7,32
<i>AST (UI/L)</i>												
Controle	30,9 ± 5,21	30,4 ± 6,44	32,0 ± 7,18	30,9 ± 7,98	26,7 ± 2,97	28,3 ± 4,42	34,6 ± 8,26	37,2 ± 9,05	31,4 ± 6,98	31,4 ± 6,98	34,0 ± 7,51	33,0 ± 5,55
Oxigênio	33,5 ± 10,53	34,6 ± 9,30	34,0 ± 7,51	32,0 ± 6,74	29,9 ± 7,01	29,3 ± 5,06	28,3 ± 4,42	32,5 ± 10,99	34,0 ± 12,89	32,5 ± 6,44	35,6 ± 10,99	32,5 ± 6,44
Ozônio	30,9 ± 7,98	27,2 ± 6,90	31,4 ± 10,76	28,8 ± 6,65	29,3 ± 5,63	28,8 ± 3,71	29,9 ± 4,97	33,5 ± 9,30	30,4 ± 6,44	31,4 ± 11,58	29,3 ± 6,63	27,8 ± 4,31
<i>Cálcio (mg/dL)</i>												
Controle	9,5 ± 0,52	10,0 ± 0,48	9,8 ± 0,68	9,5 ± 0,57	9,8 ± 0,63	9,5 ± 0,81	9,5 ± 0,64	9,9 ± 0,88	9,7 ± 0,84	10,2 ± 0,96	10,1 ± 0,95	9,9 ± 0,72
Oxigênio	9,4 ± 0,56	9,4 ± 0,76	9,5 ± 0,60	9,4 ± 0,76	9,8 ± 0,80	9,4 ± 0,87	9,4 ± 0,63	9,6 ± 0,53	9,9 ± 0,78	10,0 ± 0,73	10,0 ± 0,68	9,9 ± 0,41
Ozônio	9,6 ± 0,76	10,1 ± 0,93	10,2 ± 0,8	10,0 ± 0,68	10,0 ± 0,81	10,0 ± 0,75	9,7 ± 0,93	9,8 ± 0,79	9,9 ± 0,66	10,3 ± 0,71	10,4 ± 0,65	10,1 ± 0,63
<i>Colesterol total (mg/dL)</i>												
Controle	210 ± 116	220 ± 103	221 ± 101	218 ± 101	210 ± 95	220 ± 104	212 ± 102	220 ± 114	216 ± 104	232 ± 111	221 ± 114	221 ± 113
Oxigênio	182 ± 74	195 ± 65	195 ± 69	193 ± 64	193 ± 54	185 ± 60	183 ± 58	193 ± 70	203 ± 84	211 ± 105	213 ± 113	212 ± 108
Ozônio	197 ± 76	196 ± 71	196 ± 63	199 ± 74	196 ± 68	189 ± 58	182 ± 64	181 ± 55	178 ± 52	184 ± 60	190 ± 76	179 ± 64*
<i>Colesterol HDL (mg/dL)</i>												
Controle	94,7 ± 45,1	91,7 ± 35,8	91,3 ± 30,3	104,7 ± 35,1	92,4 ± 22,4	112,1 ± 36,8	104,1 ± 27,7	98,7 ± 26,9	102,6 ± 30,3	106,1 ± 40,2	111,2 ± 36,3	106,2 ± 41,8
Oxigênio	102,9 ± 45,9	102,6 ± 46,3	91,1 ± 37,5	94,3 ± 42,5	92,9 ± 40,6	97,0 ± 37,0	109,4 ± 36,8	103,0 ± 64,2	103,9 ± 47,4	119,9 ± 65,6	115,7 ± 46,8	99,9 ± 35,2
Ozônio	78,3 ± 26,0	99,5 ± 33,8	93,8 ± 41,0	86,5 ± 34,2	92,3 ± 23,6	89,5 ± 28,4	93,7 ± 37,7	89,2 ± 28,6	92,9 ± 35,5	101,2 ± 34,2	98,7 ± 42,1	89,1 ± 37,6

Tabela 5 - Albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), cálcio, colesterol total, colesterol HDL, creatinina, fosfatase alcalina (FA) fósforo, gamaglutamil transferase (GGT), glicose, globulinas, proteína total, triglicerídeos e ureia em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

	(continuação)											
	<i>Creatinina (mg/dL)</i>											
Controle	1,2 ± 0,18	1,2 ± 0,23	1,1 ± 0,27	1,1 ± 0,18	1,2 ± 0,21	1,1 ± 0,18	1,2 ± 0,23	1,2 ± 0,16	1,2 ± 0,16	1,3 ± 0,27	1,3 ± 0,18	1,4 ± 0,21
Oxigênio	1,0 ± 0,19	1,1 ± 0,27	1,1 ± 0,24	1,1 ± 0,21	1,1 ± 0,29	1,0 ± 0,21	1,1 ± 0,21	1,2 ± 0,21	1,2 ± 0,31	1,1 ± 0,28	1,1 ± 0,21	1,2 ± 0,25
Ozônio	1,2 ± 0,32	1,2 ± 0,28	1,2 ± 0,32	1,1 ± 0,30	1,2 ± 0,23	1,2 ± 0,25	1,1 ± 0,24	1,2 ± 0,25	1,2 ± 0,18	1,1 ± 0,28	1,2 ± 0,28	1,1 ± 0,29
	<i>FA (U/L)</i>											
Controle	38,1 ± 14,73	39,0 ± 13,57	36,5 ± 12,48	37,3 ± 14,76	41,5 ± 12,96	38,1 ± 14,2	37,3 ± 13,68	50,6 ± 31,86	51,4 ± 25,87	43,1 ± 19,86	40,6 ± 13,79	43,9 ± 13,57
Oxigênio	39,8 ± 11,60	40,6 ± 11,36	41,0 ± 13,61	39,1 ± 14,05	46,9 ± 15,38	45,2 ± 17,96	42,3 ± 13,79	43,9 ± 12,39	46,4 ± 6,99	40,6 ± 15,36	42,3 ± 12,02	41,5 ± 12,36
Ozônio	38,1 ± 9,73	40,6 ± 15,85	34,0 ± 11,36	38,9 ± 16,63	37,3 ± 9,77	39,0 ± 8,78	36,5 ± 6,99	36,5 ± 9,73	38,1 ± 8,91	41,5 ± 14,62	43,1 ± 8,56	41,9 ± 12,73
	<i>Fósforo (mg/dL)</i>											
Controle	5,0 ± 1,21	5,2 ± 1,16	5,0 ± 1,40	5,0 ± 1,42	4,8 ± 1,23	5,2 ± 1,17	4,9 ± 1,32	5,0 ± 1,06	4,8 ± 0,92	4,7 ± 0,48	4,8 ± 1,36	4,9 ± 1,38
Oxigênio	4,7 ± 0,80	4,8 ± 0,68	5,0 ± 1,12	5,1 ± 1,07	5,1 ± 0,88	4,9 ± 0,81	4,9 ± 1,24	5,2 ± 1,02	4,6 ± 1,03	4,7 ± 0,32	4,7 ± 0,47	4,7 ± 0,97
Ozônio	4,8 ± 1,44	5,0 ± 1,57	4,5 ± 1,34	4,7 ± 1,69	4,6 ± 0,85	4,9 ± 1,20	4,6 ± 1,12	4,3 ± 0,98	3,9 ± 0,66	4,3 ± 0,62	4,5 ± 1,41	4,5 ± 1,41
	<i>GGT (U/L)</i>											
Controle	3,8 ± 0,82	3,8 ± 0,88	3,8 ± 0,67	3,6 ± 0,96	3,6 ± 0,81	3,6 ± 0,95	3,3 ± 0,89	3,9 ± 1,55	3,8 ± 1,38	3,6 ± 1,34	4,0 ± 0,95	3,8 ± 1,14
Oxigênio	3,5 ± 0,86	3,4 ± 1,17	4,3 ± 1,53	4,4 ± 1,63	3,9 ± 1,30	3,7 ± 0,89	3,6 ± 0,80	3,9 ± 0,99	3,6 ± 0,53	3,5 ± 0,62	3,6 ± 0,81	3,5 ± 0,54
Ozônio	3,9 ± 1,10	3,7 ± 0,79	3,8 ± 0,82	3,6 ± 0,80	3,1 ± 0,97	3,4 ± 1,0	3,6 ± 0,75	3,4 ± 0,91	3,4 ± 1,00	3,2 ± 0,82	3,7 ± 1,42	3,5 ± 0,96
	<i>Glicose (mg/dL)</i>											
Controle	87,0 ± 16,14	88,0 ± 16,1	85,8 ± 12,02	87,1 ± 12,58	93,0 ± 13,23	92,4 ± 15,86	92,2 ± 21,83	91,4 ± 13,01	97,0 ± 11,04	87,7 ± 13,53	95,1 ± 19,50	96,1 ± 16,52
Oxigênio	80,7 ± 8,86	89,5 ± 7,78	82,4 ± 9,35	88,4 ± 8,48	84,6 ± 7,01	91,7 ± 15,51	86,3 ± 18,86	82,6 ± 12,31	88,0 ± 13,31	94,6 ± 9,50	91,9 ± 10,57	87,3 ± 16,39
Ozônio	81,4 ± 15,69	98,2 ± 12,13	83,5 ± 14,63	85,2 ± 12,75	84,2 ± 14,06	92,5 ± 16,16	88,4 ± 14,55	80,7 ± 17,26	88,7 ± 13,93	88,3 ± 15,10	91,1 ± 15,88	92,3 ± 18,12
	<i>Globulinas (g/dL)</i>											
Controle	3,4 ± 0,58	3,4 ± 0,76	3,4 ± 0,48	3,2 ± 0,68	3,4 ± 0,53	3,5 ± 0,51	3,4 ± 0,45	3,5 ± 0,60	3,5 ± 0,46	3,6 ± 0,38	3,4 ± 0,54	3,4 ± 0,55
Oxigênio	3,0 ± 0,67	3,2 ± 0,77	3,1 ± 0,95	3,2 ± 0,91	2,9 ± 0,96	2,9 ± 0,72	3,0 ± 0,88	3,3 ± 0,59	3,2 ± 0,59	3,3 ± 0,70	3,3 ± 0,49	3,1 ± 0,58
Ozônio	3,1 ± 0,75	3,2 ± 0,93	3,4 ± 0,68	3,3 ± 1,01	3,3 ± 1,01	2,9 ± 1,04	2,9 ± 0,84	3,4 ± 0,49	3,3 ± 0,62	3,5 ± 0,51	3,6 ± 0,61	3,3 ± 0,70
	<i>Proteína total (g/dL)</i>											
Controle	6,5 ± 0,57	6,5 ± 0,77	6,6 ± 0,45	6,4 ± 0,52	6,5 ± 0,59	6,8 ± 0,60	6,6 ± 0,61	6,6 ± 0,63	6,5 ± 0,42	6,6 ± 0,38	6,6 ± 0,48	6,6 ± 0,53
Oxigênio	6,3 ± 0,60	6,5 ± 0,81	6,4 ± 0,82	6,4 ± 0,88	6,1 ± 0,83	6,2 ± 0,59	6,2 ± 0,78	6,5 ± 0,45	6,5 ± 0,52	6,5 ± 0,58	6,4 ± 0,37	6,4 ± 0,47
Ozônio	6,3 ± 0,72	6,4 ± 0,83	6,6 ± 0,83	6,5 ± 1,01	6,5 ± 0,92	6,1 ± 1,02	6,0 ± 0,85	6,6 ± 0,53	6,4 ± 0,59	6,7 ± 0,59	6,7 ± 0,65	6,4 ± 0,51

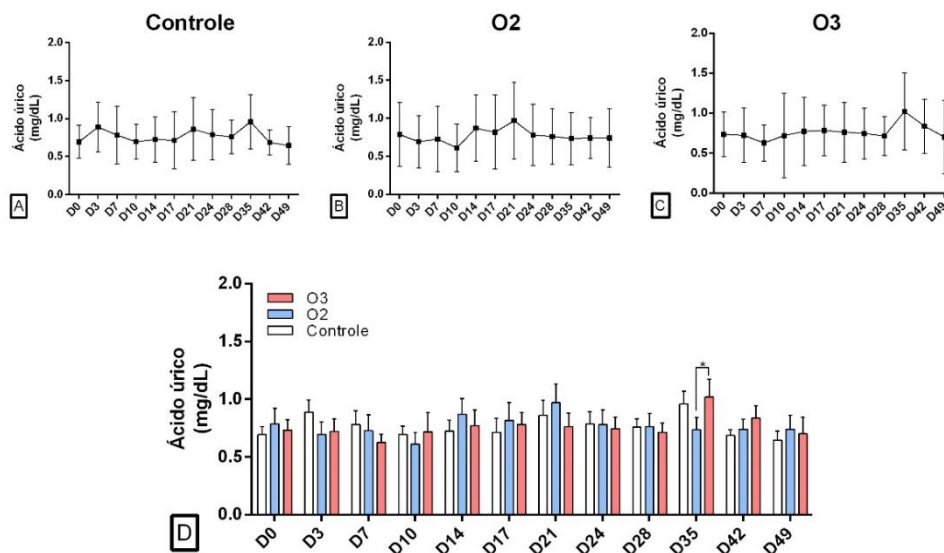
Tabela 5 - Albumina, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), cálcio, colesterol total, colesterol HDL, creatinina, fosfatase alcalina (FA) fósforo, gamaglutamil transferase (GGT), glicose, globulinas, proteína total, triglicerídeos e ureia em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (Oxigênio) ou ozônio medicinal (Ozônio) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os valores são representados por média e desvio-padrão e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal é indicada por * (p<0,05), ** (p<0,01), * (p<0,001) ou **** (p<0,0001), em relação ao grupo controle é indicada por § e em relação ao grupo oxigênio indicada por #.**

(conclusão)

	<i>Triglicerídeos (mg/dL)</i>											
Controle	71,4 ± 19,81	77,8 ± 22,27	78,5 ± 10,25	69,5 ± 20,59	66,2 ± 12,13	68,6 ± 23,66	80,9 ± 27,04	76,2 ± 28,03	61,3 ± 19,83	71,4 ± 29,85	64,0 ± 18,96	55,0 ± 22,39
Oxigênio	53,9 ± 19,36	72,2 ± 29,91	80,2 ± 44,69	65,3 ± 26,32	59,1 ± 18,36	60,3 ± 26,58	69,6 ± 30,91	72,0 ± 29,25	57,7 ± 12,12	55,6 ± 13,91	49,9 ± 14,48	62,8 ± 24,31
Ozônio	84,0 ± 42,39	92,7 ± 45,26	81,7 ± 31,92	81,0 ± 58,48	73,7 ± 34,11	70,8 ± 21,46	78,6 ± 33,04	80,7 ± 31,12	63,8 ± 19,24	73,8 ± 30,61	68,8 ± 37,04	66,1 ± 30,57
	<i>Ureia (mg/dL)</i>											
Controle	38,1 ± 7,92	39,6 ± 9,21	39,3 ± 7,09	35,6 ± 5,04	35,7 ± 7,50	39,2 ± 3,57	38,5 ± 5,04	39,6 ± 7,33	36,3 ± 9,05	39,9 ± 8,58	38,5 ± 7,81	40,9 ± 6,08
Oxigênio	37,8 ± 11,83	38,3 ± 5,64	41,6 ± 10,82	39,5 ± 9,95	40,1 ± 11,19	39,1 ± 7,41	40,1 ± 8,27	44,4 ± 11,78	37,4 ± 3,67	36,7 ± 5,45	34,2 ± 5,83	33,5 ± 7,44
Ozônio	39,8 ± 11,75	40,7 ± 13,35	37,7 ± 7,82	35,8 ± 9,77	40,5 ± 10,62	46,0 ± 8,08	39,1 ± 10,02	40,7 ± 6,19	36,4 ± 7,40	39,7 ± 14,55	41,0 ± 11,16	37,3 ± 17,51

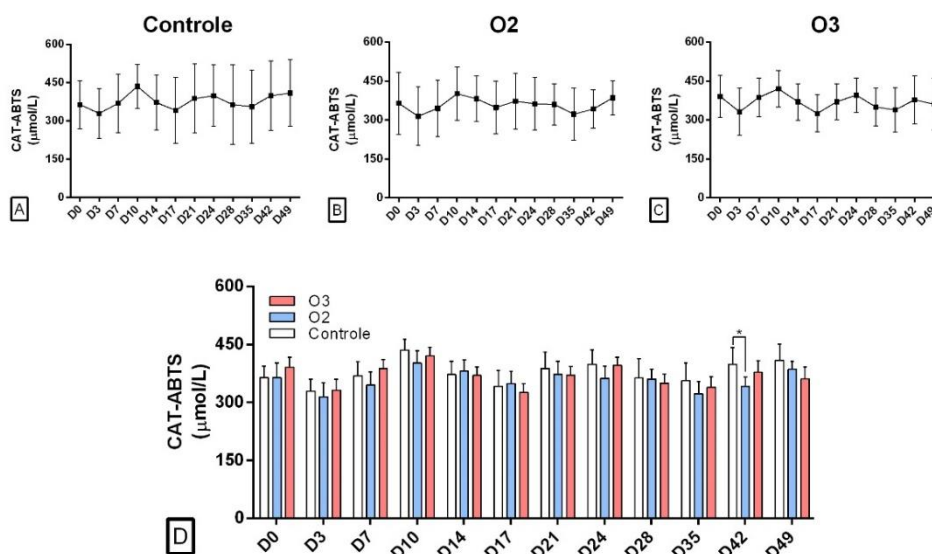
Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 2 - Ácido úrico de cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**



Fonte: OLIVEIRA, 2023

Figura 3 - Capacidade antioxidante total (CAT) determinada pela inibição do cátion ABTS (CAT-ABTS) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**



Fonte: OLIVEIRA, 2023

Figura 4 - Capacidade antioxidante total (CAT) determinada pela inibição do cátion ABTS associado à peroxidase (CAT-ABTS+HRP) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**

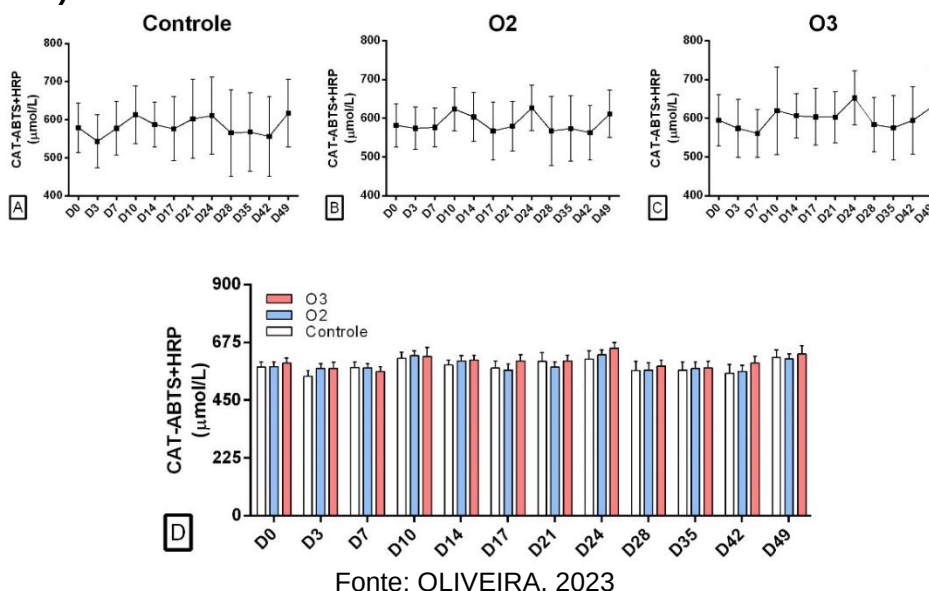


Figura 5 - Capacidade antioxidante total (CAT) determinada pela capacidade redutora cúprica (CAT-CUPRAC) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**

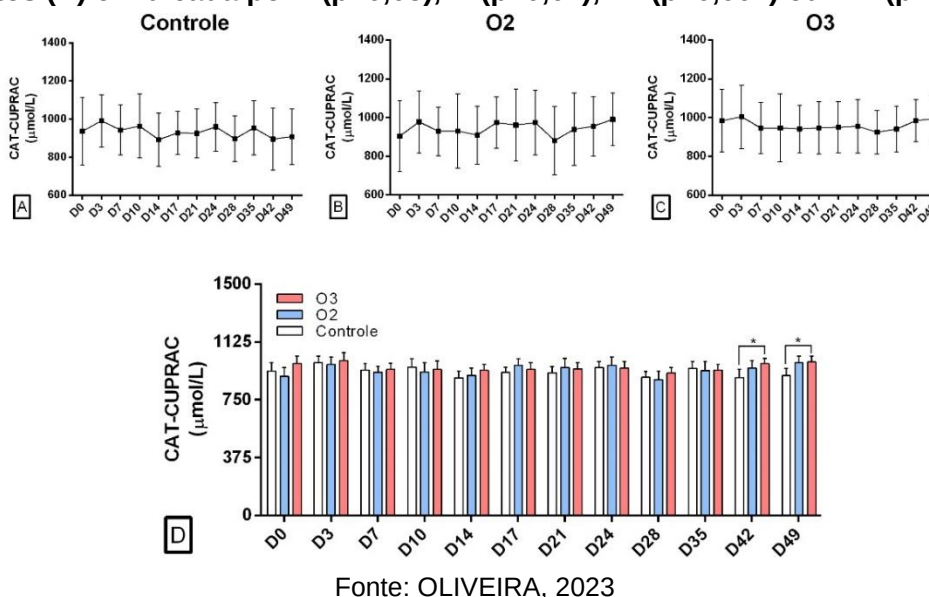
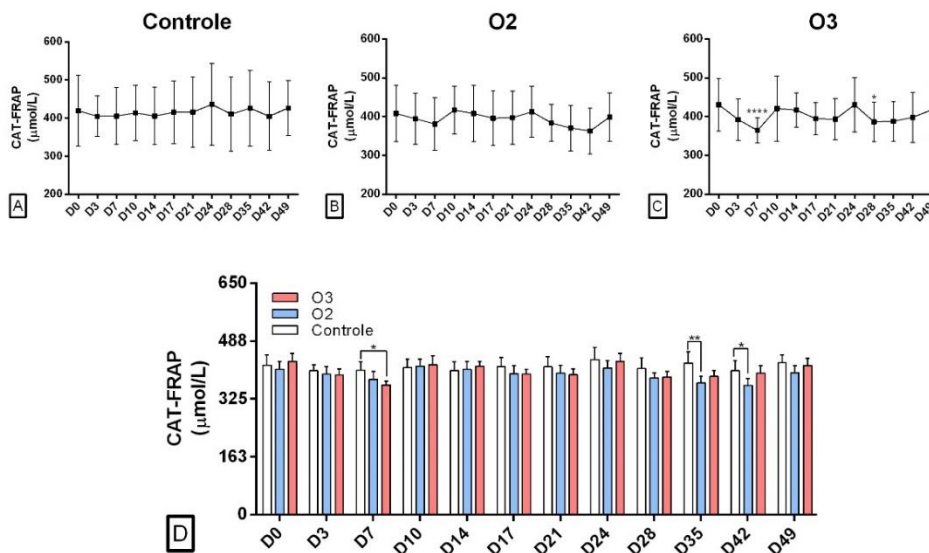
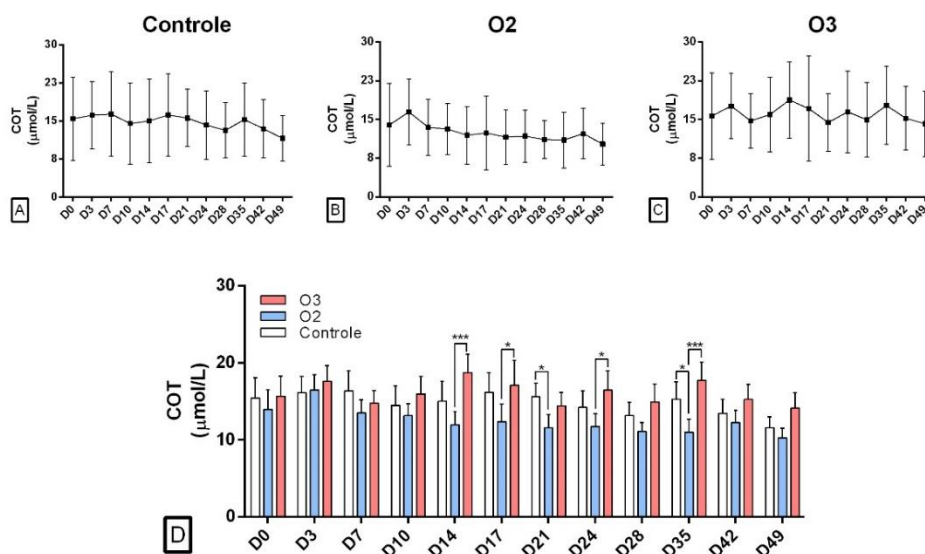


Figura 6 - Capacidade antioxidante total (CAT) determinada pela capacidade redutora férrica (CAT-FRAP) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**



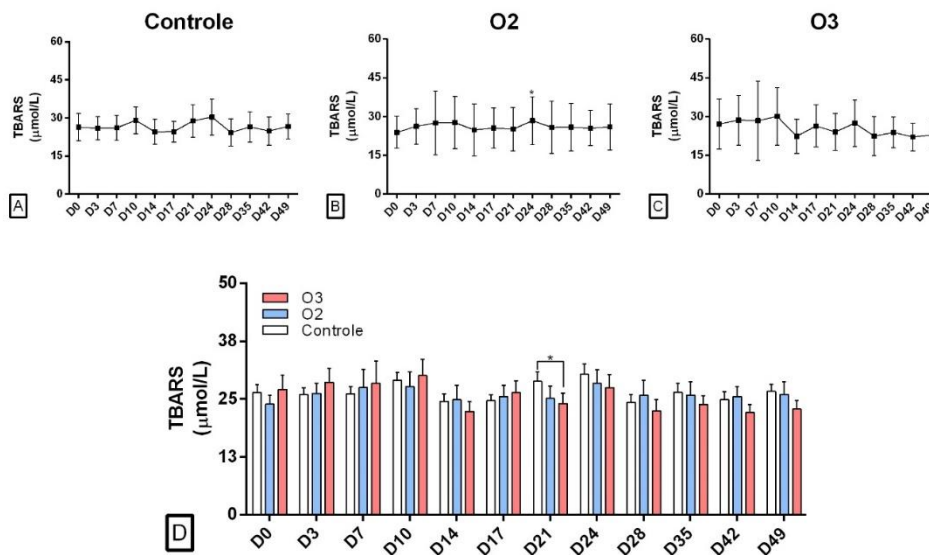
Fonte: OLIVEIRA, 2023

Figura 7 - Capacidade oxidante total (COT) determinada pelo método colorimétrico do xilenol laranja em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**



Fonte: OLIVEIRA, 2023

Figura 8 - Peroxidação lipídica determinada pelas substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em cães saudáveis (n=10) sem tratamento algum (Controle) ou tratados com quatro sessões intrarretais semanais de oxigênio (O2) ou ozônio medicinal (O3) com avaliação a cada 3 dias (D3 a D24) e acompanhados por mais 4 semanas sem tratamento algum com avaliação a cada 7 dias (D28 a D49). Os gráficos são representados por média e desvio-padrão (A a C) ou erro-padrão (D) e a diferença estatisticamente significativa em relação ao momento basal (A a C) ou entre os tratamentos (D) é indicada por * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), * ($p<0,001$) ou **** ($p<0,0001$).**



Fonte: OLIVEIRA, 2023

4 DISCUSSÃO

Foram realizados poucos estudos determinando o efeito da ozonioterapia em cães e não existem estudos amplos, randomizados e cruzados que comprovam a sua segurança até o momento. O presente estudo objetivou avaliar se a ozonioterapia por insuflação retal poderia causar alterações clínicas e laboratoriais em cães saudáveis e, dessa forma, determinar se essa terapia é clinicamente segura em cães. Foi observado pelos proprietários que os animais não apresentaram alterações de comportamento, colaborando para realização do experimento, o que refletiu nos parâmetros clínicos, visto que os valores médios de frequência cardíaca, frequência respiratória e temperatura retal foram de 118 bpm, 37 mpm e 38,3°C, respectivamente. Outro estudo realizado em equinos também observou um grande nível de aceitação por parte dos animais, demonstrando a facilidade da utilização da ozonioterapia na rotina veterinária (JARAMILLO et al., 2020).

Re et al. (2008), ao realizarem sessões de ozonioterapia por insuflação retal em ratos, observaram um notável aumento na ingestão alimentar e no peso. Tais resultados também foram observados em nosso estudo, visto que alguns proprietários relataram aumento da ingestão alimentar após as aplicações e, estatisticamente, houve um aumento significativo no peso dos animais no grupo que recebeu ozônio no início do tratamento.

A concentração de hemácias, hemoglobina e hematócrito foi semelhante entre os grupos em todos os tempos de avaliação, demonstrando diferença em relação ao tempo somente nos animais que receberam oxigênio, os quais apresentaram redução no D17. O oxigênio puro induz a formação de radicais livres, que podem gerar um processo oxidativo e provocar alterações de proteínas de membrana dos eritrócitos (JOSHI et al., 1983), o que justificaria os resultados obtidos. Contudo, os valores não excederam os limites de referência para a espécie, portanto, há pouca relevância clínica (WEISS; WARDROP, 2010). Carvalho, A. et al. (2022) observaram o aumento desses parâmetros em equinos atletas tratados com a ozonioterapia intrarretal. Já Chica, Cardona Álvarez e Bossa (2022) e Carvalho, H. et al. (2022), assim como em nosso estudo, não observaram diferenças em relação a esses parâmetros ao realizarem ozonioterapia intravenosa em equinos e

ozonioterapia por meio de um circuito fechado venturi *in vitro* em sangue de equino, respectivamente.

O aumento significativo do VCM foi observado apenas no grupo ozônio, sem diferenças significativas nos demais parâmetros do eritrograma. Segundo Barger (2003), o aumento dos valores de VCM, quando acompanhado do aumento de CHCM e diminuição do hematócrito, ocorre pela destruição de eritrócitos em decorrência de hemólise *in vitro* ou *in vivo*. Em nosso estudo, não houve alteração do RDW e a contagem de reticulócitos e dosagem de bilirrubina não foram realizadas, portanto não é possível associar o aumento do VCM à regeneração medular ou à ocorrência de hemólise. No entanto, o aumento do VCM também não possui relevância clínica, uma vez que os valores permaneceram dentro da referência para a espécie (WEISS; WARDROP, 2010).

Quanto ao leucograma, a oxigenioterapia provocou um aumento significativo apenas na contagem de monócitos, porém dentro dos intervalos de referência para a espécie canina, também não apresentando relevância clínica (WEISS; WARDROP, 2010). Já a ozonioterapia não interferiu de forma significativa na contagem de leucócitos totais e das subpopulações. De acordo com Sagai e Bocci (2011), o ozônio aplicado por auto-hemoterapia é capaz de modular a resposta imune em humanos, podendo suprimir ou estimular as células de defesa para a detecção de possíveis patógenos. Todavia, esse efeito não tem sido observado em estudos realizados na veterinária, como demonstrado por Chica, Cardona Álvarez e Bossa (2022) em equinos submetidos à auto-hemoterapia ozonizada e Jaramillo et al. (2020) por meio da insuflação retal. Além disso, em um estudo que avaliou o efeito da terapia com ozônio em cães com leishmaniose, embora tenha sido observado uma tendência ao aumento dos leucócitos totais, não foi observada diferença estatística (MODA et al., 2022). Tais resultados corroboram com nosso estudo em cães, o que mostra a importância da avaliação do efeito da ozonioterapia em diferentes espécies e diferentes metodologias.

Em relação ao plaquetograma, Haddad et al. (2009) observaram o aumento inicial seguido por diminuição dos valores de plaquetas em equinos tratados com ozônio intravenoso, enquanto Chica, Cardona Álvarez e Bossa (2022) observaram um aumento do número de plaquetas com a ozonioterapia, ao contrário de nosso estudo que não observou mudança significativa no número de plaquetas. Porém houve

aumento do VPM em D35, em relação ao momento basal. Esses resultados sugerem que o ozônio provocou a liberação de plaquetas mais jovens, visto que essas possuem tamanho maior. Embora tais diferenças sejam estatisticamente significativas, os valores de plaquetas dos animais permaneceram dentro dos limites de referência para a espécie (WEISS; WARDROP, 2010).

Quanto às análises bioquímicas, os teores de colesterol HDL não sofreram alterações em nenhum dos grupos e momentos. No entanto, os níveis de colesterol total apresentaram redução no grupo ozônio em D49 em relação ao momento basal. O mesmo também foi relatado por Hernández, Menéndez e Wong (1995), que não observaram alterações significativas na medição de colesterol HDL em humanos após 15 sessões de auto-hemoterapia maior ozonizada. Em seu estudo, ainda foi observada redução de colesterol total e da porção LDL, com isso o autor sugere que a redução do colesterol total foi devido à redução da porção LDL e que isso se deve à reação do ozônio com os lipídios, gerando peroxidação lipídica. Os produtos desta reação formam oxisteróis, que são transportados pelas partículas de LDL, metabolizados pelo fígado e excretado nas fezes. Em nosso estudo, a avaliação das demais porções de colesterol não foi realizada, contudo, podemos sugerir que os mecanismos em cães sejam similares, necessitando de mais estudos para confirmação dessa hipótese.

Em nosso estudo não foi observada diferença nos teores de glicose e triglicerídeos entre os momentos ou grupos, permanecendo dentro dos intervalos de referência estabelecidos para a espécie canina (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008). Até o momento, não encontramos estudos que tenham avaliado o efeito da ozonioterapia retal nesses analitos em cães.

Quanto aos níveis séricos de albumina, globulinas e proteínas totais, bem como os achados de Chica, Cardona Álvarez e Bossa (2022) em equinos, a ozonioterapia não gerou alterações significantes, assim como a oxigenoterapia por via retal. Almeida et al. (2021) também observaram que a aplicação de ozônio intrauterino em éguas não alterou os teores de albumina. Segundo Kaneko, Harvey e Bruss (2008), os valores de proteínas totais e albumina podem variar de acordo com a raça, tamanho e metabolismo do animal, podendo ser observadas alterações em situações de desidratação, inflamação ou desequilíbrio, uma vez que as proteínas possuem papel importante na homeostase do organismo. Portanto, os resultados obtidos no

presente estudo refletem a higidez dos animais selecionados e segurança da ozonioterapia.

Nos estudos realizados por Jaramillo et al. (2020) e Moda et al. (2022), não foram observadas diferenças estatísticas nos valores de ureia e creatinina após insuflação retal de ozônio em equinos e em cães, respectivamente. Tais resultados também foram observados no presente estudo, no qual não houve alterações estatísticas ou clinicamente significativas nos níveis desses analitos. Todavia, Chica, Cardona Álvarez e Bossa (2022) observaram uma leve diminuição dos níveis de ureia no começo do protocolo com auto-hemoterapia ozonizada em equinos, os quais foram aumentando até atingir seus valores máximos na última aplicação, estando sempre dentro do intervalo de referência da espécie. Dessa forma, os autores sugerem que a ozonioterapia por insuflação retal não possui efeitos nos marcadores renais de cães saudáveis, uma vez que os valores permaneceram dentro da referência para a espécie (CHICA; CARDONA ÁLVAREZ; BOSSA, 2022; JARAMILLO et al., 2020; MODA et al., 2022).

Quanto às atividades enzimáticas, a ozonioterapia não parece interferir de forma significativa nas determinações de ALT, AST, FA e GGT. Os valores de ALT e FA se mantiveram estáveis dentro do intervalo de referência para a espécie (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008) e sem diferenças em relação aos tempos e tratamentos. A atividade de AST também se manteve estável em estudos que utilizaram ozônio por insuflação retal com equinos (AJAMIEH et al., 2002; JARAMILLO et al., 2020), porém Carvalho, A. et al. 2023 observaram um aumento da atividade desses analito. Zaky, Fouad e Kotb (2011), ao realizarem ozonioterapia por insuflação retal, observaram melhora na oxigenação e metabolismo hepático em casos de cirrose em humanos. Os valores de GGT também se encontraram dentro do intervalo de referência para a espécie canina (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), assim como observado por Jaramillo et al. (2020) em equinos. Podemos então afirmar que a ozonioterapia por insuflação retal não afetou de maneira clinicamente relevante a atividade sérica enzimática de marcadores de hepáticos e/ou musculares de cães saudáveis. Como os valores de cálcio total e fósforo também permaneceram estáveis durante todo o experimento, não excedendo os intervalos de referência para a espécie (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 2008), o mesmo pode ser inferido para esses analitos.

De maneira geral, a ozonioterapia parece ter induzido estresse oxidativo pontual no início do tratamento com posterior aumento de antioxidantes, dependendo do método de análise. Além disso, não afetou a quantidade de oxidantes e foi capaz de reduzir a peroxidação lipídica em um momento específico. Um estudo que utilizou a ozonioterapia intrauterina em éguas demonstrou que esse tratamento gera um estresse oxidativo sistêmico transitório em éguas saudáveis (ALMEIDA et al., 2021).

A ozonioterapia reduziu significativamente a CAT-FRAP em D7, tanto em relação ao momento basal quanto em relação ao grupo controle, evidenciando o consumo de antioxidantes não enzimáticos dependentes desse método de análise no início do tratamento, o que corrobora com os achados de Almeida et al. (2021) que observaram diminuição em mais de um momento. Já a CAT-CUPRAC dos cães que receberam o ozônio por insuflação retal foi maior que a dos cães controle em D42 e D49, também evidenciando uma resposta antioxidante com maior produção de antioxidantes não enzimáticos dependentes desse método de avaliação no final do período de avaliação. Cabe destacar que tais discrepâncias entre os métodos de análise são decorrentes das características de análise, uma vez que esses métodos se baseiam na detecção indireta dos componentes antioxidantes. O método FRAP se baseia na redução de íons férricos e ferrosos pela adição de uma amostra com atividade redutora (KUSANO; FERRARÍ, 2008) e detecta principalmente ácido úrico, bilirrubina, vitamina C e polifenóis (BENZIE; STRAIN, 1996), enquanto o método CUPRAC avalia principalmente os antioxidantes do grupo tiol (RUBIO et al., 2016).

Esse efeito da ozonioterapia sobre as capacidades antioxidantes ocorreu sem alteração da COT nos momentos avaliados e ainda reduziu a peroxidação lipídica em relação ao grupo controle em D21, após 3 aplicações semanais do ozônio por insuflação retal. O ozônio possui efeito paradoxal, pois é uma molécula triatômica com maior poder oxidativo que o oxigênio e, ainda, possui ação mais seletiva sobre compostos orgânicos. Por esse motivo, induz o aumento dos sistemas enzimáticos antioxidantes (BOCCI, 1996). Em relação aos lipídeos, o ozônio promove a reação de peroxidação devido à dupla ligação de carbono, presente nos ácidos graxos poli-insaturados. O ozônio, quando em contato com tecidos vivos, reage com a membrana celular e gera lipooligopeptídeos (LOP). Esses LOP podem ser parcialmente reduzidos pelos antioxidantes ou serem absorvidos parcialmente por via endovenosa e por capilares linfáticos (BOCCI, 1996). É possível que tais efeitos tenham ocorrido

em momentos não avaliados no presente estudo e que, a médio/longo prazo, a terapia contribua para redução da peroxidação lipídica observada.

Em relação ao antioxidante ácido úrico, observamos que a ozonioterapia não alterou os níveis desse constituinte quando comparado ao grupo controle. De forma similar, Tsuzuki et al. (2015) observaram que a ozonioterapia por auto-hemoterapia maior não alterou parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos em equinos. Ainda em outro estudo, Almeida et al. (2021) observaram a diminuição do ácido úrico nos dias 3 e 6 após a aplicação de ozônio intrauterino em éguas saudáveis, evidenciando que a ozonioterapia parece consumir esse antioxidante no início do tratamento, diferentemente do que foi observado em cães no presente estudo. O ácido úrico tem ação antioxidante por recuperar estruturas oxidadas que se tornaram radicais livres pela doação de um elétron e um próton. Além disso, também é responsável pela estabilização do ascorbato no plasma sanguíneo, inibindo a reação de Fenton ao quelar íons metálicos livres como ferro e cobre (LARSON, 1997). Embora o ácido úrico tenha demonstrado ser um bom marcador de estresse oxidativo em equinos (ALMEIDA et al., 2021; SOFFLER, 2007) e o mesmo ser responsável por grande parte da CAT (RUBIO et al., 2016), a ozonioterapia em cães não afetou os teores desse antioxidante em cães saudáveis em relação ao grupo controle. Entretanto, quando comparado ao grupo oxigênio, a ozonioterapia aumentou os níveis de ácido úrico em D35. É possível que tal diferença tenha sido observada devido ao efeito oxidativo do oxigênio, reduzindo os níveis de ácido úrico dos cães que receberam insuflação retal de oxigênio.

Com relação à insuflação retal com oxigênio medicinal, observamos que o próprio oxigênio é capaz de induzir estresse oxidativo sem induzir reposta antioxidante posterior e ainda promover maior peroxidação lipídica. Quando comparado ao grupo controle, a oxigenioterapia aplicada por via intrarretal reduziu a CAT-ABTS em D42 e a CAT-FRAP em D35 e D42, e curiosamente, também causou uma redução da COT em D21 e D35. Já em relação ao grupo ozônio, o tratamento com oxigênio reduziu a COT em diversos momentos e reduziu os teores de ácido úrico. O oxigênio sofre redução tetravalente na mitocôndria, com aceitação de quatro elétrons resultando na formação de água, enquanto o citocromo oxidase catalisa essa reação controlando a geração de radicais livres (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). A aplicação do oxigênio por insuflação retal pode ter estimulado ainda mais essa produção, causando então

uma diminuição dos componentes antioxidantes e aumento da peroxidação lipídica. É possível ainda que os oxidantes formados nesse processo não sejam detectados na COT, que é baseada principalmente na detecção de peróxido de hidrogênio, pela oxidação do íon ferroso para íon férrico na presença de espécies oxidantes em meio ácido. Em equinos, a insuflação retal com oxigênio medicinal levou à maior ativação dos neutrófilos, aumentando a produção de espécies reativas de oxigênio por esses leucócitos (JARAMILLO et al., 2020). Entretanto, a avaliação sistêmica não foi realizada e não se conhece o efeito da oxigenioterapia sobre esse marcador em cães, sendo necessários mais estudos para elucidação.

Mesmo na ausência do aumento de oxidantes determinados pela COT utilizando o xilenol laranja, a oxigenioterapia promoveu maior peroxidação lipídica em relação ao momento basal. Esse aumento pode ser explicado pela ação de radicais livres formados a partir do oxigênio, que provocam alterações nos lipídeos presentes nas membranas celulares (ZHANG, 2010). As membranas das células e organelas contêm grandes quantidades de ácidos graxos poli-insaturados e os radicais livres abstraem um átomo de hidrogênio do grupo metileno das cadeias de ácidos graxos poli-insaturados, iniciando o processo de peroxidação lipídica (HALLIWELL; GUITTERIDGE, 1991). O fato de a ozonioterapia ter reduzido a peroxidação lipídica sugere que o estresse controlado agudo e de caráter transitório no organismo (VENDRUSCOLO et al., 2018) apresenta maior benefício que a oxigenioterapia em relação à peroxidação lipídica e CAT.

São necessários mais estudos com diferentes doses e intervalos de aplicação para que se comprove de fato o efeito da ozonioterapia sob os parâmetros de estresse oxidativo caninos. Além disso, o presente estudo utilizou animais saudáveis que não apresentavam um quadro de estresse oxidativo previamente estabelecido, sendo que para adequada comprovação da segurança dessa terapia, estudos semelhantes também devem ser conduzidos em animais doentes com o quadro de estresse oxidativo já estabelecido.

5 CONCLUSÃO

A ozonioterapia semanal por insuflação retal em cães saudáveis com dose de 100 µg de O₃/kg, causa estresse oxidativo transitório com posterior resposta antioxidante dependendo do método de análise e é capaz de interferir de forma discreta em alguns parâmetros clínicos, hematológicos e bioquímicos cães saudáveis, evidenciando ser uma terapia segura quando aplicada por insuflação retal em cães, enquanto a oxigenioterapia demonstrou causar estresse oxidativo sem induzir resposta antioxidante.

REFERÊNCIAS

- AJAMIEH, H. et al. Similar protective effect of ischaemic and ozone oxidative preconditionings in liver ischaemia/reperfusion injury. **Pharmacological Research**, London, v. 45, n. 4, p. 333-339, abr. 2002. DOI: 10.1006/phrs.2002.0952.
- ALMEIDA, B. F. M. et al. Leishmaniasis causes oxidative stress and alteration of oxidative metabolism and viability of neutrophils in dogs. **The Veterinary Journal**, London, v. 198, n. 3, p. 599-605, dez. 2013. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.08.024.
- ALMEIDA, B. F. M. et al. The effects of increased heme oxygenase-1 on the lymphoproliferative response in dogs with visceral leishmaniasis. **Immunobiology**, Amsterdam, v. 222, n. 5, p. 693-703, maio 2017. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.12.006.
- ALMEIDA, B. F. M. et al. Effect of uterine ozone therapy and anticoagulant sampling on oxidative stress parameters in mares. **Research in Veterinary Science**, London, v. 136, p. 503-511, maio 2021. DOI: 10.1016/j.rvsc.2021.04.002.
- BARGER, A. M. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. **The Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 1207-1222, nov. 2003. DOI: 10.1016/s0195-5616(03)00100-1.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 239, n. 1, p. 70-76, jul. 1996. DOI: 10.1006/abio.1996.0292.
- BOCCI, V. Ozone as a bioregulator: pharmacology and toxicology of ozonotherapy today. **Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents**, Milano, v. 10, n. 2-3, p. 31-53, abr. 1996.
- BOCCI, V. et al. Quasi-total-body exposure to an oxygen-ozone mixture in a sauna cabin. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, Heidelberg, v. 80, n. 6, p. 549-554, nov. 1999. DOI: 10.1007/s004210050633.
- BOCCI, V. A. Scientific and medical aspects of ozone therapy: state of the art. **Archives of Medical Research**, New York, v. 37, n. 4, p. 425-435, maio 2006. DOI: 10.1016/j.arcmed.2005.08.006.
- BONATTO, N. C. M. et al. Postprandial lipemia causes oxidative stress in dogs. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 136, p. 277-286, maio 2021. DOI: 10.1016/j.rvsc.2021.03.008.
- BURTON, G. J.; JAUNIAUX, E. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 287-299, jun. 2011. DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016.
- CARVALHO, A. C. et al. Effects of ozone therapy on hematological, biochemical, and oxidative stress parameters of vaguejada athlete horses. **Arquivo Brasileiro de**

Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 74, n. 6, p. 1024-1038, nov.-dez. 2022. DOI: 10.1590/1678-4162-12733.

CARVALHO, H. C. et al. Mass transfer of ozone-blood: venturi use and influences on hematological parameters. **Research on Biomedical Engineering**, Rio de Janeiro, v. 38, n. 2, p. 683-688, jun. 2022. DOI: 10.1007/s42600-022-00220-4.

CHICA, A. S.; CARDONA ÁLVAREZ, J. A.; BOSSA, R. B. J. Efecto de la aplicación intravenosa de ozono en la biometría y bioquímica hemática en caballos clínicamente sanos. **Revista de Medicina Veterinaria**, Bogotá, v. 1, n. 45, artigo 10, 10 p., jul.-dez. 2022. DOI: 10.19052/mv.vol1.iss45.10.

EREL, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 37, n. 4, p. 277-285, abr. 2004. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015.

EREL, O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. **Clinical Biochemistry**, Toronto, v. 38, n. 12, p. 1103-1111, dez. 2005. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008.

DI FILIPPO C. et al. Acute oxygen-ozone administration to rats protects the heart from ischemia reperfusion infarct. **Inflammation Research**, Basel, v. 57, n. 10, p. 445-449, 2008. DOI: 10.1007/s00011-008-7237-0.

HALLIWELL, B.; GUITTERIDGE, J. M. C. **Free radicals in biology and medicine**. 2. ed. New York: Clarendon Press, 1991.

HADDAD, M. A. et al. Behavior of hematological variables in horses treated with ozone therapy. **REDVET Revista Electrónica de Veterinaria**, Malaga, v. 10, n. 7, 12 p., 2009.

HERNÁNDEZ, F.; MENÉNDEZ, S.; WONG, R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 19, n. 1, p. 115-119, jul. 1995. DOI: 10.1016/0891-5849(94)00201-t.

HUNTER, M. I. S.; NLEMADIM, B. C.; DAVIDSON, D. L. W. Lipid peroxidation products and antioxidant proteins in plasma and cerebrospinal fluid from multiple sclerosis patients. **Neurochemical Research**, New York, v. 10, n. 12, p. 1645-1652, dez. 1985. DOI: 10.1007/BF00988606.

JAIN, N.C. Hematologic techniques. In: JAIN, N. C. (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. p. 20-86.

JARAMILLO, F. M. et al. Effects of transrectal medicinal ozone in horses: clinical and laboratory aspects. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 72, n. 1, p. 56-64, jan.-fev. 2020. DOI: 10.1590/1678-4162-11155.

JOSHI, W. et al. Increased sensitivity of isolated alpha subunits of normal human hemoglobin to oxidative damage and crosslinkage with spectrin. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, St. Louis, v. 102, n. 1, p. 46-52, 1983.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. London: Academic Press, 2008.

KUSANO, C.; FERRARI, B. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. **Journal of Cell and Molecular Biology**, Istanbul, v. 7, n. 1, 15 p., 2008.

LARSON R. A. **Naturally occurring antioxidants**. New York: CRC Press, 1997.

MARTINS, T. O. et al. Feline obesity causes hematological and biochemical changes and oxidative stress: a pilot study. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 167-177, jan. 2023. DOI: 10.1007/s11259-022-09940-5.

MODA, T. F. et al. Effects of ozone therapy on hematological and serum biochemical parameters in dogs affected by visceral leishmaniasis. **Research, Society and Development**, Itaboraí, v. 11, n. 7, artigo e16711729886, 6 p., 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i7.29886.

PEAKE, J.; SUZUKI, K. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. **Exercise Immunology Review**, Greven, v. 10, p. 129-141, 2004.

RE, L. et al. Ozone therapy: clinical and basic evidence of its therapeutic potential. **Archives of Medical Research**, New York, v. 39, n. 1, p. 17-26, jan. 2008. DOI: 10.1016/j.arcmed.2007.07.005.

RUBIO, C. P. et al. Validation of an automated assay for the measurement of cupric reducing antioxidant capacity in serum of dogs. **BMC Veterinary Research**, London, v. 12, n. 1, artigo 137, 8 p., jul. 2016. DOI: 10.1186/s12917-016-0760-2.

SAGAI, M.; BOCCI, V. Mechanisms of action involved in ozone therapy: is healing induced via a mild oxidative stress? **Medical Gas Research**, Willoughby, v. 1, n. 1, artigo 29, 18 p., 20 dez. 2011. DOI: 10.1186/2045-9912-1-29.

SAND, C. V. et al. Influence of oral glutamine and glucose on markers of oxidative stress in a paraquat rat model. **e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism**, Amsterdam, v. 2, n. 3, p. 63-67, jun. 2007. DOI: 10.1016/j.eclnm.2007.03.004.

SANTOS, T. G. et al. Ozone therapy: protocol for treating canine parvovirus infection. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, Seropédica, v. 45, artigo e004622, 9 p., fev. 2023. DOI: 10.29374/2527-2179.bjvm004622.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. **Revista Brasileira**

de Medicina do Esporte, v. 10, n. 4, p. 314-318, jul.-ago. 2004. DOI: 10.1590/S1517-86922004000400008.

SOFFLER, C. Oxidative stress. **Veterinary Clinics of North America - Equine Practice**, Amsterdam, v. 23, n. 1, p. 135-157, abr. 2007. DOI: 10.1016/j.cveq.2006.11.004

TSUZUKI, N. et al. Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 77, n. 12, p. 1647-1650, dez. 2015. DOI: 10.1292/jvms.15-0225.

VENDRUSCOLO, C. P. et al. Effects of medical ozone upon healthy equine joints: clinical and laboratorial aspects. **PLoS One**, San Francisco, v. 13, n. 5, artigo e0197736, 18 p., maio 2018. DOI: 10.1371/journal.pone.0197736.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's veterinary hematology**. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010.

ZAKY, S.; FOUAD, E. A.; KOTB, H. I. M. The effect of rectal ozone on the portal vein oxygenation and pharmacokinetics of propranolol in liver cirrhosis (a preliminary human study). **British Journal of Clinical Pharmacology**, Oxford, v. 71, n. 3, p. 411-415, mar. 2011. DOI: 10.1111/j.1365-2125.2010.03851.x.

ZHANG, X. H. Regulation of protein function by residue oxidation. **Proteomics Insights**, London, v. 3, n. 1, p. 17-24, 17 mar. 2010. DOI: 10.4137/PRI.S3327.