

AperTO - Archivio Istituzionale Open Access dell'Università di Torino

**Utilizzo degli ozonidi in medicina veterinaria e loro effetto sull'endometrio equino: studio preliminare**

**This is a pre print version of the following article:**

*Original Citation:*

*Availability:*

This version is available <http://hdl.handle.net/2318/1934793> since 2023-09-28T09:58:04Z

*Terms of use:*

Open Access

Anyone can freely access the full text of works made available as "Open Access". Works made available under a Creative Commons license can be used according to the terms and conditions of said license. Use of all other works requires consent of the right holder (author or publisher) if not exempted from copyright protection by the applicable law.

(Article begins on next page)

# Utilizzo degli ozonidi in medicina veterinaria e loro effetto sull'endometrio equino: studio preliminare

L'uso dell'ozonoterapia si sta diffondendo sia in medicina umana sia in veterinaria, anche per contrastare l'antibiotico-resistenza sempre più dilagante. In questo studio si è valutata l'efficacia, in cavalle affette da endometrite, di un trattamento a base di ozono, di gemmoderivato di *Salix caprea*, e di un'associazione di entrambi, a fronte di un gruppo di controllo trattato con Ringer Lattato.

Mariagrazia Lucia Poletto\*,  
Tiziana Nervo\*,  
Gian Guido Donato\*,  
Elena Bozzetta\*\*,  
Katia Varello\*\*,  
Simonetta Appino\*\*\*

\*Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Torino, Grugliasco (TO).

\*\*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino.

\*\*\*Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Sassari

L'ozono è un gas costituito da tre atomi di ossigeno ( $O_3$ ), possiede un odore particolarmente acre che può essere percepito nell'aria durante le scariche elettriche (tuoni e fulmini) generate nell'atmosfera. In forma liquida e solida è esplosivo. Christian Friedrich Schönbein è stato il primo a riconoscere l' $O_3$  come sostanza chimica nel 1840, e gli diede tale nome riferendosi alla parola greca οζειν (*òzein*), che significa "odore" [36]. È una molecola con struttura dinamicamente instabile, per la presenza di stati mesomerici. A causa del suo stato energetico è difficile ottenerne elevate concentrazioni perché tende a scindersi in ossigeno molecolare ( $O_2$ ) e atomico (O); ha un'emivita di circa 40 minuti a temperatura ambiente e di circa 140 minuti a 0°C.

All'ozono sono attribuiti numerosi effetti, tra i principali possiamo ricordare quello immunostimolante, analgesico, anti-ipossico, detossificante, antimicrobico e biosintetico. L'ozono è in grado di stimolare il metabolismo di carboidrati, lipidi e proteine oltre che di influenzare la crescita e la differenziazione cellulare, incrementando il potenziale rigenerativo di organi e tessuti.

## MECCANISMO D'AZIONE

L'ozono può agire su più livelli:

- Inattivazione di batteri, virus, funghi, lieviti e protozoi: l'ozono spezza l'integrità della parete batterica tramite l'ossidazione dei fosfolipidi e delle lipoproteine, inibisce alcune fasi della

crescita dei miceti, danneggia il capsido dei virus e ne perturba il ciclo riproduttivo, interrompendo il contatto tra il virus e la cellula mediante perossidazione [20].

- Stimolazione del metabolismo dell'ossigeno: l'ozonoterapia rende la catena mitocondriale più efficiente, favorendo il flusso transmembrana di ossigeno [30]. Nei globuli rossi, l' $O_3$  incrementa l'attività della fosfofruttochinasi (PFK), aumentando di conseguenza l'attività glicolitica e la produzione di ATP e 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) [7]; provoca anche una riduzione della nicotinamide adenina dinucleotide (NADH) e favorisce l'ossidazione del citocromo c [9,20]. È stato inoltre dimostrato che l'ozonoterapia migliora la circolazione sanguigna e il rilascio di ossigeno ai tessuti ischemici [8]; inoltre, tramite un processo noto come *precondizionamento ossidativo*, l' $O_3$  può aumentare la differenziazione eritroblastica, con un progressivo aumento degli eritrociti, i quali saranno maggiormente resistenti allo stress ossidativo [20,28].

- Attivazione del sistema immunitario: l' $O_3$  provoca un aumento della produzione di interferone, TNF e IL-2 [20]. È stato inoltre dimostrato che basse dosi di  $O_3$  inibiscono la sintesi di prostaglandine, favoriscono il rilascio di bradichinina, nonché di macrofagi e leucociti [34].

- Azione antiossidante: reagendo con acidi grassi polinsaturi (PUFA) e acqua, l' $O_3$  forma perossido di idrogeno ( $H_2O_2$ ), una specie reattiva dell'ossigeno (ROS). Contemporaneamente, l' $O_3$  forma prodotti di ozonazione lipidica (LOP) [26]. Il lieve stress ossidativo

causato dall'O<sub>3</sub> aumenta la produzione del fattore trascrizionale eritroide 2 (Nrf2), la cui presenza favorisce la trascrizione degli elementi di risposta antiossidanti (ARE). In questa categoria rientrano sostanze come superossido dismutasi (SOD), glutatione perossidasi (GPx), glutatione S-transferasi (GST), catalasi (CAT), eme ossigenasi-1 (HO-1), NADPH quinone-ossidoreduttasi (NQO-1), proteine da shock termico (HSP) ed enzimi di fase II del metabolismo dei farmaci. Molti di questi enzimi agiscono come scavenger di radicali liberi clinicamente rilevanti per un'ampia varietà di malattie [26].

## APPLICAZIONI IN MEDICINA UMANA

Il suo primo utilizzo in campo medico risale a più di 150 anni fa; inizialmente impiegato come disinfettante nelle sale chirurgiche e per purificare l'acqua, iniziarono in seguito i primi impieghi come trattamento terapeutico [20]. In medicina umana, l'ozonoterapia ha numerose applicazioni, ad esempio per la cura di alcune patologie cardiocircolatorie [10,24], per diverse forme di artrite (somministrazione intra-articolare, nucleolisi dei dischi intravertebrali, infiltrazione paravertebrale, infiltrazione periarticolare) [22,25], per il trattamento di infezioni virali (epatite, virus di Epstein-Barr, herpes, ecc.) e fungine, per la rigenerazione tissutale in caso di ferite e ustioni, per malattie dermatologiche, delle cavità orali e patologie odontoiatriche [2, 29]. L'O<sub>3</sub> è stato inoltre utilizzato in oncologia [6, 20].

Il trattamento con O<sub>3</sub> può essere sistemico o locale. La somministrazione sistemica consiste nell'autoemoterapia con ozono (O<sub>3</sub>-AHT): una concentrazione precisa di una miscela di ossigeno e azoto in una quantità predeterminata di sangue autologo (circa 250 ml raccolti in una sacca eparinata) viene reinfusa lentamente nel paziente [4]. La somministrazione locale può avvenire tramite tre forme di O<sub>3</sub>, ovvero acqua ozonizzata, olio ozonizzato e una miscela di O<sub>2</sub> e O<sub>3</sub> [37]; tali prodotti sono disponibili in differenti prepara-

zioni farmaceutiche: creme, gas, schiume, perle, boli e soluzioni iniettabili [15]. Il prodotto può essere inoculato per via intramuscolare, intradiscale e paravertebrale; è comunemente usata l'insufflazione per via rettale, mentre le vie nasale, orale, vaginale, vescicale e peritoneale tendono ad essere approximate con più cautela [40].

Gli effetti terapeutici dell'ozono sono dose dipendenti, pertanto è fondamentale stabilire una giusta concentrazione di principio attivo per evitare gli effetti tossici [3,5]. Questi si verificano quando l'ozono comporta un sovraccarico del sistema antiossidante, determinando danno cellulare. Tale meccanismo tossico determina la formazione di radicali liberi e intermedi reattivi, provoca la perossidazione lipidica, l'alterazione della permeabilità e della funzione delle membrane, l'ossidazione di enzimi [33].

L'utilizzo dell'ozono si è rivelato benefico in numerose patologie e affezioni ginecologiche della donna, come l'ipertensione gravidica e la preeclampsia (sindrome caratterizzata dalla presenza singola o in associazione di edema, proteinuria o ipertensione in gravidanza), la ritenzione placentare, disordini infettivi come la vaginite batterica e la PID (malattia infiammatoria pelvica) [11].

Una patologia in cui l'ozono-terapia ha dato ottimi risultati è l'ostruzione delle salpingi, una delle maggiori cause di infertilità nella donna. In uno studio, 400 donne affette da tale patologia sono state sottoposte a ricanalizzazione tubarica utilizzando soluzione ozonizzata o salina (gruppo di controllo). Il tasso di gravidanza a 12 mesi dall'intervento era del 59% nel gruppo trattato con ozono e del 43% nel gruppo di controllo [23].

Uno studio del 2016 ha valutato l'effetto del flushing endometriale con soluzione fisiologica ozonizzata sterile nella donna, prendendo in considerazione diversi parametri ecografici ed istologici [11].

Il flushing con soluzione fisiologica ozonizzata ha determinato, rispetto alla semplice soluzione salina, un aumento statisticamente significativo dell'altezza epiteliale colonnare, un aumento del numero dei vasi sanguigni endometriali, nonché un aumento del

numero di cellule stromali, mostrando un effetto favorevole su vari parametri istologici endometriali della donna. Saranno necessari ulteriori studi per valutare l'effetto di questi cambiamenti sulla ricettività endometriale e sui tassi di gravidanza [11].

## APPLICAZIONI IN MEDICINA VETERINARIA

Le formulazioni farmaceutiche a base di ozonidi disponibili in medicina veterinaria sono schiume ed ovuli che trovano largo impiego nel trattamento della metrite e dell'endometrite, soprattutto nelle specie bovina e ovina [13, 15, 19, 31, 38].

Negli ultimi anni, l'ozonoterapia è stata più volte applicata sugli animali da reddito, con particolare attenzione ad alcune aree specifiche, in particolare per il trattamento di mastite, metrite, endometrite, ritenzione di membrane fetali, vaginite, urovagina, enterite e laminite, nonché per il trattamento locale di varie lesioni e disturbi neuromuscolari e per l'applicazione endovenosa di ozono diluito per il lavaggio intestinale nel cavallo [18, 31].

In campo buiatico, l'O<sub>3</sub> è stato usato, a scopo sia preventivo sia terapeutico, per il trattamento delle patologie riproduttive *post-partum* e per il miglioramento dell'efficienza riproduttiva [14, 46].

Lesioni del tratto riproduttivo a livello di vulva, vagina e tratto urogenitale, conseguenti a distocia, possono essere trattate con spray a base di olio ozonizzato somministrato per via vaginale con un catetere per 3-5 secondi. Lo spray produce una schiuma che, distribuendosi uniformemente in vagina fino al vestibolo, favorisce la cicatrizzazione e la rigenerazione dei tessuti attraverso la proliferazione del tessuto di granulazione. Tale trattamento, inoltre, sembra aumentare il tono vaginale, prevenendo i fenomeni di urovagina e pneumovagina, migliorando di conseguenza l'efficienza riproduttiva della vacca [47].

L'applicazione preventiva di ozono per via intrauterina ha avuto diversi effetti sulle prestazioni riproduttive nelle

vacche da latte. I soggetti trattati con spray a base di olio ozonizzato o perle in paraffina contenenti ozono 24-48 ore dopo il parto, sono rimasti gravidi prima rispetto ai soggetti non trattati, presentando un tasso di concepimento superiore al primo servizio. Il miglioramento delle performances riproduttive è stato osservato soprattutto con la somministrazione di olio ozonizzato, in quanto, grazie alla sua formulazione riesce a distribuirsi in modo uniforme su tutta la superficie uterina, a differenza degli ovuli [15, 17].

Dopo il parto, l'utero della bovina è particolarmente esposto alla colonizzazione batterica, con rischio di proliferazione di specie patogene. Il sistema immunitario, quindi, può essere compromesso [21, 39]. Si suppone che l'immunosoppressione sistemica pre-parto porti a una minore efficienza dei meccanismi di difesa uterini, riducendo in particolare la capacità funzionale dei neutrofilo, con maggiore rischio di infiammazione dell'organo, soprattutto nelle vacche che ritengono le membrane fetali. In caso di metrite, l'O<sub>3</sub> può essere applicato come spray schiumogeno con un catetere per 8-10 secondi. La stessa procedura viene usata per il trattamento dell'endometrite, tuttavia è necessario che le vacche siano in fase follicolare, e quindi che la cervice sia aperta e il passaggio del catetere sia agevole. Dal momento che il periodo *post-partum* influisce notevolmente sulla fertilità delle vacche, il trattamento con ozono nei soggetti affetti da endometrite e metrite agisce favorevolmente sulla fertilità complessiva, migliorando le performances riproduttive [18], oltre che riducendo i costi di trattamento e l'utilizzo di antibiotici [16, 31, 32, 38].

In ippiatra, l'ozonoterapia è stata sperimentata con successo in un caso di laminite cronica di IV grado di Obel. La terapia includeva pareggio dello zoccolo seguita da somministrazione di ozono medicale per via intramuscolare, peritendinea ed intrarettale per 10 settimane due volte a settimana, senza utilizzo di nessun altro farmaco. Sei mesi dopo, l'animale aveva recuperato, arrivando ad una zoppia di grado II [12].

L'ozonoterapia potrebbe essere considerata una valida alternativa al tratta-

mento con FANS in caso di dolore lombare in cavalli da corsa. L'infiltrazione locale di 15 ml di miscela ossigeno-ozono, con concentrazione di ozono pari a 30 µg/ml nel muscolo interessato a

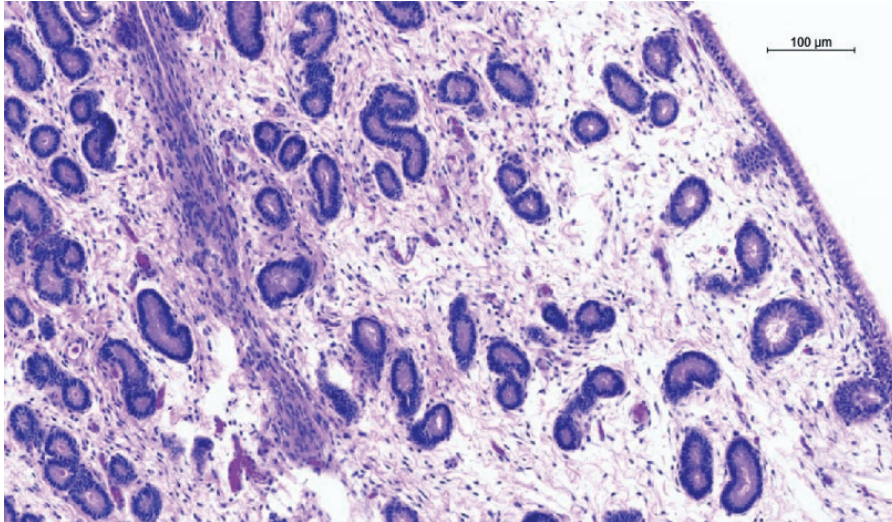


Foto 1. Endometrio equino normale, grado 0 (20x - ematossilina-eosina).

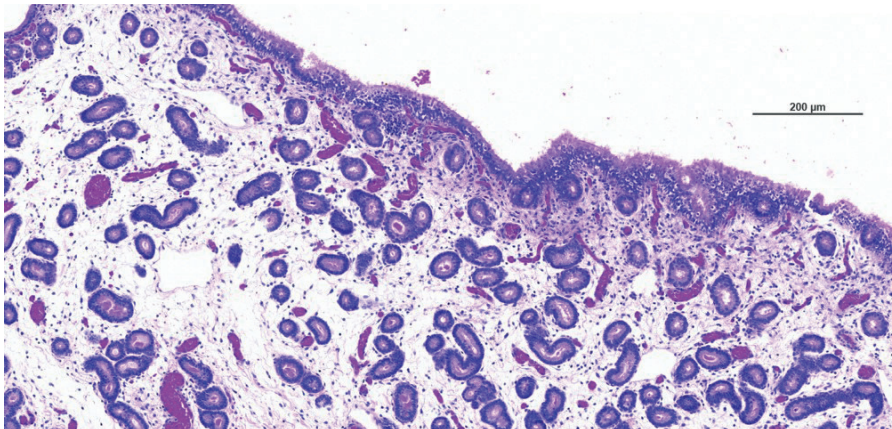


Foto 2. Endometrio equino: infiltrato infiammatorio sottomucoso mononucleato con aumento marcato della vascolarizzazione, grado 2 (10x - ematossilina-eosina).

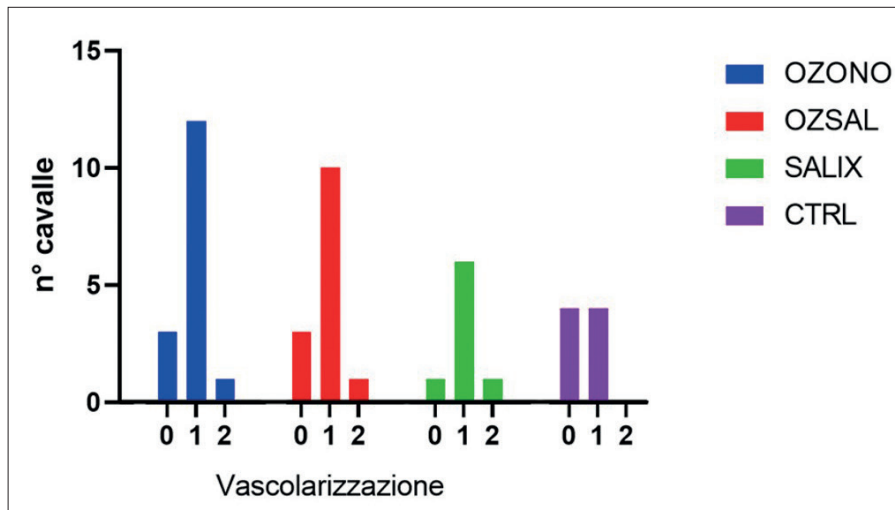


Figura 1. Vascolarizzazione endometriale osservata in relazione al trattamento eseguito.

livello interspinale e paravertebrale ne ha dimostrato l'efficacia nella gestione del dolore [45]. Un supplemento con un antiossidante come la vitamina C potrebbe giovare al paziente durante l'ozonoterapia, in modo che si mantenga l'equilibrio tra agenti ossidanti e antiossidanti [1].

Lo stress ossidativo di per sé può influire negativamente sulle performances sportive dei cavalli da corsa. L'autoemoterapia con O<sub>3</sub> si è dimostrata efficace nel contrastarlo [42].

L'ozonoterapia promette risultati interessanti anche sulla rigenerazione del nervo facciale, una tra le lesioni più comuni dei nervi cranici [35, 43].

L'olio ozonizzato è stato usato come rimedio oftalmico per trattare le affezioni più comuni a carico del globo oculare sia nel cavallo, sia nell'uomo. In particolare, è stata proposta una nuova formulazione a base di O<sub>3</sub> per trattare le congiuntiviti resistenti al trattamento con antibiotici locali (tobramicina) e FANS. Questa preparazione, somministrata 3-4 volte al giorno, ha mostrato effetti antinfiammatori, battericidi e di rigenerazione tissutale [41].

### EFFETTO DELL'OZONO SULL'ENDOMETRIO EQUINO: UNO STUDIO PRELIMINARE

L'infertilità e l'ipofertilità causano grandi problemi nell'allevamento equino. Spesso sono causate dall'endometrite, una tra le patologie più frequenti della cavalla, i cui meccanismi patogenetici e la risposta infiammatoria che ne consegue non sono ancora del tutto chiariti [27]. Negli ultimi anni si è posta l'attenzione sulla ricerca di soluzioni terapeutiche alternative, poiché la terapia tradizionale non è sempre efficace e, in alcuni casi, può determinare un peggioramento della condizione clinica di partenza. L'ozono rientra tra i trattamenti proposti dalla medicina alternativa, in virtù dei suoi notevoli effetti benefici, sia in medicina umana, sia in medicina veterinaria. Un'altra branca della medicina alternativa è la gemmoterapia, che sfrutta i principi attivi contenuti nei tessuti meristemati delle piante. Il gemmoderivato di *Salix caprea* ha una spiccata azione

antiossidante, antiinfiammatoria e rigenerativa.

Nel nostro studio, sono state incluse 47 fattrici con anamnesi di ipofertilità (mancata gravidanza dopo almeno 3 monte o Inseminazioni Artificiali eseguite correttamente, episodi di riassorbimento embrionale o aborto). Tutte le cavalle sono state sottoposte a visita ginecologica prima del trattamento (T0), e contestualmente sono stati eseguiti un esame microbiologico, citologico e istologico dell'utero. Le cavalle sono state divise in quattro gruppi random: OZONO (trattate con olio ozonizzato); OZSAL (trattate con una miscela di ozono e gemmoderivato di *Salix caprea*); SALIX (trattate con il solo gemmoderivato di *Salix caprea*); CONTROLLO (trattate con Ringer lattato). Tutte le cavalle sono state visitate ed esaminate a 24 ore (T1), una (T2), due (T3) e tre (T4) settimane dopo il trattamento. Ad ogni controllo è stata effettuata una visita ginecologica ed è stato prelevato un campione tramite cytobrush per l'esame citologico uterino. A T4 sono stati anche ripetuti il tampone uterino e la biopsia endometriale. Gli esami citologici hanno evidenziato come tutte le cavalle abbiano sviluppato un'inflammatione transitoria dopo il trattamento, risolta più rapidamente ed efficacemente nel gruppo trattato con il solo gemmoderivato. Gli esami istologici hanno evidenziato come i trattamenti non abbiano aggravato le caratteristiche dell'endometrio, anzi, in un soggetto caratterizzato da un quadro istologico di grado IIB si è osservato un miglioramento che ha permesso di riclassificarlo come IIA secondo Kenney [27]. Si sono inoltre evidenziati dei quadri sia di iperemia, sia di neovascolarizzazione, stimata tramite conta soggettiva dei vasi in doppio cieco a ingrandimento 10-40X al microscopio ottico, nella maggioranza delle cavalle dei gruppi trattati con ozono, singolarmente e in associazione con il gemmoderivato; in misura minore nei gruppi trattati con il solo gemmoderivato e nel gruppo di controllo (figura 1, foto 1 e 2). Quest'ultimo aspetto può aver influenzato positivamente l'attecchimento embrionale, dati i tassi di gravidanza ottenuti che hanno superato il 90% nelle cavalle dei gruppi OZONO e OZSAL (senza differenza statisticamente significativa),

rispetto a quelle degli altri due gruppi, che hanno mostrato un tasso di gravidanza significativamente inferiore. Appaiono quindi evidenti, per quanto si tratti di uno studio preliminare, le proprietà dell'ozono nel determinare un aumento della vascolarizzazione a livello endometriale, già osservata nella donna [32] e che potenzialmente favorisce l'impianto embrionale.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ballardini E. Oxygen-ozone therapy for spinal muscle disorders in the horse. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia*. 2005;4:70-73.
2. Bhateja S. The miraculous healing therapy – “Ozone therapy” in dentistry. *Indian Journal of Dentistry*. 2012;3:150-155.
3. Bocci V. A reasonable approach for the treatment of HIV infection in the early phase with ozonotherapy (autohaemotherapy). How 'inflammatory' cytokines may have a therapeutic role. *Mediators Inflamm*. 1994;3(5):315-321.
4. Bocci V. Autohaemotherapy after Treatment of Blood with Ozone. A Reappraisal. *J Int Med Res*. 1994;22(3):131-144.
5. Bocci V. Ozone: A mixed blessing. *Forsch Komplementarmed*. 1996;3:25-33.
6. Bocci VA. Scientific and medical aspects of ozone therapy. State of the art. *Arch Med Res*. 2006;37:425-435.
7. Bocci V, Zanardi I, Travagli V. Ozone acting on human blood yields a hormetic dose-response relationship. *J Transl Med*. 2011;9:66.
8. Bocci V, Zanardi I, Huijberts MS et coll. Diabetes and chronic oxidative stress. A perspective based on the possible usefulness of ozone therapy. *Diabetes Metab Syndr*. 2011;5:45-49.
9. Brigelius-Flohé R, Flohé L. Basic principles and emerging concepts in the redox control of transcription factors. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15:2335-2381.
10. Buyuklu M, Kandemir FM, Set T et coll. Beneficial Effects of Ozone Therapy on Oxidative Stress, Cardiac Functions and Clinical Findings in Patients with Heart Failure Reduced Ejection Fraction. *Cardiovasc Toxicol*.

- 2017;17:426-433.
11. Calderon I, Cohen M, Sagi-Dain et coll. The effect of ozonated sterile saline irrigation on the endometrium - A preliminary study. *J Obstet Gynaecol.* 2016;36:635-640.
  12. Coelho CS, Abreu-Bernadi W, Ginelli AM et coll. Use of ozone therapy in chronic laminitis in a horse. *Journal of Ozone Therapy.* 2015;1(1).
  13. Constantin T, Bîrcoiu IA. Preliminary study on ozone therapy in postpartum endometritis of dairy cows. *Agriculture and Agricultural Science Procedia.* 2016;10:384-389.
  14. Djuricic D, Valpotic H, Samardžija M. The intrauterine treatment of the retained foetal membrane in dairy goats by ozone: novel alternative to antibiotic therapy. *Reprod Domest Anim.* 2015;50:236-239.
  15. Djuricic D, Vince S, Ablondi M et coll. Effect of preventive intrauterine ozone application on reproductive efficiency in Holstein cows. *Reprod Domest Anim.* 2012;47:87-91.
  16. Djuricic D, Vince S, Ablondi M et coll. Intrauterine ozone treatment of retained fetal membrane in Simmental cows. *Anim Reprod Sci.* 2012;134:119-124.
  17. Djuricic D, Dobranic T, Vince S et coll. Shortening days open using intrauterine ozone therapy in Simmental cows. *Veterinarska Stanica.* 2011;42:149-152.
  18. Djuricic D, Lipar M, Samardžija M. Ozone treatment of metritis and endometritis in Holstein cows. *Veterinarski Arhiv.* 2014;84:103-110.
  19. Djuricic D, Valpotic H, Žura Žaja I et coll. Comparison of Intrauterine Antibiotics versus Ozone Medical Use in Sheep with Retained Placenta and Following Obstetric Assistance. *Reprod Domest Anim.* 2016;51:538-540.
  20. Elvis AM, Ekta JS. Ozone therapy: a clinical review. *J Nat Sci Biol Med.* 2011;2(1):66-70.
  21. Gilbert RO, Shin ST, Guard CL et coll. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology.* 2005;64:1879-1888.
  22. Ginanneschi F, Cervelli C, Milani P et coll. Ventral and dorsal root injury after oxygen-ozone therapy for lumbar disk herniation. *Surg Neurol* 2006;66(6):619-620.
  23. He C, Ma X. Distal fallopian tube recanalization using ozone treatment: A clinical study in two hundred tubal obstruction chinese patients. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(2):2958-2961.
  24. Hernández F, Menéndez S, Wong R. Decrease of blood cholesterol and stimulation of antioxidative response in cardiopathy patients treated with endovenous ozone therapy. *Free Radic Biol Med.* 1995;19:115-119.
  25. Iliakis E. Ozone treatment in low back pain. *Orthopaedics.* 1995;1:19.
  26. Inal M, Dokumacioglu A, Özcelik E et coll. The effects of ozone therapy and coenzyme Q combination on oxidative stress markers in healthy subjects. *Ir J Med Sci.* 2011;180:703-707.
  27. Leblanc MM. When to refer an infertile mare to a theriogenologist. *Theriogenology.* 2008;70:421-429.
  28. León Fernández OS, Ajamieh HH, Berlanga J et coll. Ozone oxidative preconditioning is mediated by A1 adenosine receptors in a rat model of liver ischemia/reperfusion. *Transpl Int.* 2008;21:39-48.
  29. Loncar B, Mravak Stipetic M, Matosevic D et coll. Ozone application in dentistry. *Arch Med Res.* 2009;40:136-137.
  30. Madej P, Plewka A, Madej JA et coll. Ozonotherapy in an Induced Septic Shock. I. Effect of Ozonotherapy on Rat Organs in Evaluation of Free Radical Reactions and Selected Enzymatic Systems. *Inflammation.* 2007;30:52.
  31. Marusi A, Allegri M, Mararsi G et coll. I lipoperossidi nella profilassi e terapia della metrite e nel miglioramento della fertilità nella bovina da latte, *Atti Soc. It. Buiatria, Bologna* 1999.
  32. Marusi A, Ubaldi A, Fusari A et coll. Haptoglobin response in dairy cow metritis treatment with lipohydroperoxides. *XXI World Buiiatrics Congress, Punta del Este Uruguay.* 2000:4-8.
  33. Mustafa MG. Biochemical basis of ozone toxicity. *Free Radic Biol Med.* 1990;9(3):245-65.
  34. Orakdogan M, Uslu S, Emon ST et coll. The Effect of Ozone Therapy on Experimental Vasospasm in the Rat Femoral Artery. *Turk Neurosurg.* 2016;26:860-865.
  35. Ozbay I, Ital I, Kucur C et coll. Effects of ozone therapy on facial nerve regeneration. *Braz J Otorhinolaryngol.*

2017;83:168-175.

36. Rubin M. The history of ozone. The Schönbein period, 1839-1868. *Bull. Hist. Chem.* 2001;26(1):40-56.

37. Saini R. Ozone therapy in dentistry: A strategic review. *J Nat Sci Biol Med.* 2011;2(2):151-153.

38. Scrollavezza P, Ablondi M, Pogliacomì B et coll. Ozone treatment in mastites, metrites and retention of fetal membranes in the cows, *Atti 2 Intern. Symp. Ozone Application, Havana, Cuba.* 1997.

39. Sheldon IM, Dobson H. Postpartum uterine health in cattle. *Anim Reprod Sci.* 2004;82:295-306.

40. Smith N, Wilson A, Gandhi J et coll. Ozone therapy: An overview of pharmacodynamics, current research, and clinical utility. *Med Gas Res.* 2017;7(3):212-219.

41. Spadea L, Tonti E, Spaterna A et coll. Use of Ozone-Based Eye Drops: A Series of Cases in Veterinary and Human Spontaneous Ocular Pathologies. *Case Rep Ophthalmol.* 2018;9(2):287-298.

42. Tsuzuki N, Endo Y, Kikkawa L et coll. Effects of ozonated autohemotherapy on the antioxidant capacity of Thoroughbred horses. *J Vet Med Sci.* 2016;77:1647-1650.

43. Tyler CM, Davis RE, Begg AP et coll. A survey of neurological diseases in horses. *Aust Vet J.* 1993;70:445-449.

44. VanCamp SD. Endometrial biopsy of the mare. A review and update. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1988;4(2):229-245.

45. Vigliani A, Boniperti E, Scudo E. Paravertebral O<sub>2</sub>-O<sub>3</sub> Treatment in Mechanical Lumbar Pain in Riding Horses. *Rivista Italiana di Ossigeno-Ozonoterapia* 2005;4(1).

46. Zobel R, Martinec R, Ivanovic D et coll. Intrauterine ozone administration for improving fertility rate in Simmental cattle. *Veterinarski arhiv.* 2014;84:1-8.

47. Zobel R, Tkalcic S, Stokovic I et coll. Efficacy of ozone as a novel treatment option for urovagina in dairy cows. *Reprod Domest Anim.* 2012;47:293-298.

## RIASSUNTO

L'uso dell'ozonoterapia si sta diffondendo sia in medicina umana sia in veterinaria, anche per contrastare l'antibiotico-resistenza sempre più dilagante.

All'ozono sono attribuiti numerosi effetti, tra i principali quello immunostimolante, analgesico, anti-ipossico, detossificante, antimicrobico e biosintetico. È in grado di stimolare il metabolismo di carboidrati, lipidi e proteine, oltre che di influenzare la crescita e la differenziazione cellulare, incrementando il potenziale rigenerativo di organi e tessuti.

Nella specie equina, una delle cause principali di infertilità è l'endometrite, i cui meccanismi patogenetici non sono ancora del tutto chiariti. La terapia tradizionale, a base di antibiotici, non è sempre efficace e, in alcuni casi, può determinare un peggioramento della condizione clinica di partenza. L'ozono (O<sub>3</sub>) rientra tra i trattamenti proposti dalla medicina alternativa, in virtù dei suoi notevoli effetti benefici. Un altro ambito della medicina alternativa è la gemmotherapia, che sfrutta i principi attivi contenuti nei tessuti meristemati delle piante. Il gemmoderivato di *Salix caprea* ha una spiccata azione antiossidante e antiinfiammatoria. In questo studio si è valutata l'efficacia, in cavalle affette da endometrite, di un trattamento a base di ozono, di gemmoderivato di *Salix caprea*, e di un'associazione di entrambi, a fronte di un gruppo di controllo trattato con Ringer Lattato. A livello istologico, si è potuto osservare un aumento della neovascolarizzazione nella maggioranza delle cavalle trattate con ozono, singolarmente e in associazione con il gemmoderivato, in misura minore nei gruppi trattati con il solo gemmoderivato e nel gruppo di controllo. Tale aumento della vascolarizzazione può aver influenzato positivamente l'attecchimento embrionale che trova riscontro nei dati di gravidanza ottenuti.

**PAROLE CHIAVE:** ozono, fatrice, endometrio, neovascolarizzazione.

## SUMMARY

Ozone therapy in veterinary medicine and their effect on equine endometrium: a preliminary study

Ozone therapy is becoming more widespread both in human medicine and in veterinary medicine, also to limit antibiotic resistance. Numerous effects are attributed to ozone, the main ones being immunostimulant, analgesic, anti-hypoxic, detoxifying, antimicrobial and biosynthetic. It can stimulate the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins, as well as to influence cell growth and differentiation, increasing the regenerative potential of organs and tissues.

One of the main causes of infertility in the mare is endometritis, often associated with bacterial aetiology. Antibiotic therapy, which is not always effective, can cause an aggravation of the clinical condition. Ozone (O<sub>3</sub>) is one of the treatments proposed by alternative medicine, by virtue of its significant beneficial effects. Another area of alternative medicine is gemmotherapy, which uses the active principles contained in the meristematic tissues of plants. The *Salix caprea* bud extract has a strong antioxidant and anti-inflammatory action. This study evaluated the efficacy, in mares suffering from endometritis, of a treatment based on ozone, *Salix caprea* bud extract, and a combination of both, compared to a control group treated with Ringer Lactate. The histological evaluation showed an increase in vascularity in most cases treated with ozone, individually and in association with the bud extract, to a lesser extent in the groups treated with the bud extract only and in the control group. This increase in vascularity may have positively influenced embryonic engraftment, which justifies the pregnancy data obtained.

**KEYWORDS:** ozone, mare, endometrium, neovasculature.