



PREMIOS
ICOVV



ILUSTRE COLEGIO
OFICIAL · DE
VETERINARIOS
DE · VALENCIA

Recopilación de los trabajos ganadores
de la edición 2020

ÍNDICE

	Categoría Vicente Dualde Pérez.....	pág. 4
	Primer premio.....	pág. 5
	Segundo premio.....	pág. 23
	Tercer premio.....	pág. 35
	Categoría Juan Morcillo Olalla.....	Pág. 52
	Primer premio.....	Pág. 53
	Segundo premio.....	Pág. 83
	Tercer premio.....	Pág. 111
	Categoría Fotografía Veterinaria.....	Pág. 134
	Primer premio.....	Pág. 135
	Segundo premio.....	Pág. 137
	Tercer premio.....	Pág. 139



PREMIOS
ICOVV

ILUSTRE COLEGIO
OFICIAL DE
VETERINARIOS
DE VALENCIA

CATEGORÍA VICENTE DUALDE PÉREZ

Clínica Veterinaria de pequeños animales, exóticos, equino y producción animal

1^{er} premio

PRIMER PREMIO

*Tratamiento de un osteocondrosarcoma multilobular parieto-temporo-occipital
recurrente mediante resección repetida*

Autores: Emma Idalgo Crespo (3056), Alba Ferré Mariné(2859), Carmen Airés Serrano (3057)
y Alejandro Luján Feliu-Pascual (1067)

Tratamiento de un osteocondrosarcoma multilobular parieto-temporo-occipital recurrente mediante resección repetida

RESUMEN

Se evaluó una perra Welsh Corgi hembra castrada de siete años de edad para la escisión quirúrgica de un osteocondrosarcoma multilobular (OML) craneal diagnosticado dos meses antes en su veterinario mediante resonancia magnética (RM), tomografía computarizada (TC) y biopsia. El tumor afectaba los huesos occipital, temporal y parte del parietal del lado izquierdo. La protuberancia occipital estaba invadida y su gran tamaño producía compresión extra-axial del cerebelo, tronco encefálico y hemisferio cerebral izquierdo con herniación cerebelar. El examen físico y neurológico en el momento de la admisión no demostraron anomalías.

Se realizó una craniectomía parieto-temporo-occipito izquierda en la que se retiró el tejido tumoral visible macroscópicamente. El seno transversal izquierdo había sido obliterado por el tumor, pero el seno sagital dorsal presentaba una vena subsidiaria intraósea patente que no permitió la resección con márgenes del límite derecho del tumor. A los 405 días de la primera intervención se observó recidiva en un TAC de control por lo que se reintervino ampliando la craniectomía previa y cubriendo el defecto con una prótesis de polimetilmetacrilato moldeada durante la cirugía.

Tras 244 días de la segunda intervención presentó su segunda recidiva, en el tentorio cerebeloso izquierdo por lo que se reintervino. Tras 1.111 días de la primera resección se volvió a reintervenir por recidiva tras un breve periodo de dos meses con convulsiones controladas con fenobarbital. En radiografías torácicas y TC pulmonar se observaba una masa bien definida en el hilio pulmonar izquierdo compatible con metástasis. Se eliminó el tejido tumoral adherido a la cortical occipital y se colocó una malla de titanio para cubrir el defecto. Tras el alta tres días después de la cirugía, presentó convulsiones de nuevo y decidieron la eutanasia.

Este caso pone de manifiesto que la resección repetida de OML puede prolongar el periodo de supervivencia.

Palabras clave: Osteocondrosarcoma multilobular, malla titanio, craniectomía, resección repetida, supervivencia.

INTRODUCCIÓN

El osteocondrosarcoma multilobular (OML) es un tumor óseo primario poco frecuente que puede surgir del hueso, tejido conectivo o cartílago,¹ con apariencia radiográfica característica de "palomita de maíz". Es más frecuente en perros de edad adulta-geriátricos y de raza media-grande y suele aparecer en la bóveda craneal, aunque se ha descrito en la órbita, la mandíbula y el hueso maxilar.¹⁻¹⁰ Es un tumor de crecimiento lento y localmente invasivo. La mayoría de los perros presentan una masa subcutánea firme e inmóvil y, dependiendo de su ubicación y extensión, puede causar una deformación obvia del hueso y/o déficits neurológicos.¹ Presenta potencial de metástasis, especialmente a los pulmones.⁹⁻¹¹

El cierre se realizó por capas, usando una sutura simple continua con monofilamento absorbible (gliconato) en aguja traumática (Monosyn® 3/0 Braun Surgical, Barcelona, España) para el tejido

1^{er} premio

Por su naturaleza, el tratamiento de elección es una escisión quirúrgica amplia. Sin embargo, su localización en la confluencia de importantes estructuras vasculares puede dificultar la resección con márgenes limpios, por lo que la recurrencia es frecuente.⁹⁻¹⁰

El objetivo de este caso es describir el resultado del tratamiento quirúrgico de un OML craneal recurrente en un perro mediante la resección repetida.

DESCRIPCIÓN DEL CASO CLÍNICO

Se evaluó una perra Welsh Corgi hembra castrada de siete años de edad para la escisión quirúrgica de un OML craneal diagnosticado dos meses antes en su veterinario local mediante resonancia magnética, tomografía computarizada (TC) y biopsia. El tumor afectaba los huesos occipital, temporal y parte del parietal del lado izquierdo. La protuberancia occipital estaba invadida y el seno transversal izquierdo estaba obliterado por el tumor. La masa se expandía rostralmente al interior de la cavidad craneal comprimiendo y desplazando el lóbulo occipital del hemisferio izquierdo, cerebelo y tronco encefálico (**Imagen 1**) y desplazando el tercio caudal de la hoz cerebral y el lóbulo occipital derecho. El vermis cerebelar se encontraba herniado a través del agujero magno. Caudalmente la masa desplazaba los músculos cervicoescutular, parietoescutular, parietoauricular y occipital además de los planos cutáneos. El sistema ventricular estaba ligeramente dilatado. Antes de las pruebas de imagen había presentado una convulsión y un episodio transitorio de pérdida de equilibrio por lo que se inició tratamiento con prednisona 1 mg/kg cada 24 horas (Dacortin® 30 mg Merck, S.L., Barcelona, España). El examen físico solo demostró un abultamiento subcutáneo de consistencia dura en la zona occipital izquierda mientras que el examen neurológico en el momento de nuestra evaluación no demostró anomalías. En las analíticas sanguíneas se encontraron alteraciones compatibles con tratamiento previo con glucocorticoides (**Tabla 1**). Se determinó su grupo sanguíneo (DEA 1.1+) y se realizaron radiografías torácicas que no mostraron metástasis macroscópicas. Se repitió la TC bajo anestesia general en nuestro centro para comprobar el crecimiento del tumor (**Imagen 2**) usando un equipo helicoidal de 16 cortes (Brivo CT385 General Electric Healthcare, Madrid, España). Para la realización de la TC se realizó una inducción con fentanilo 3 µg/Kg IV (Fentanest® 0,05 mg/ml Kern Pharma, S.L, Barcelona, España) y propofol a dosis-efecto IV (Propofol Lipuro Braun, Barcelona, España). El mantenimiento anestésico se realizó con isoflurano en oxígeno mediante flujo de oxígeno de 0,9 L/min con una concentración inspirada de isoflurano (Isoflurin Fatro, Barcelona, España) de 1- 1,5%. El contraste iodado utilizado fue iohexol (Omnipaque 300, General Electric Healthcare, Madrid, España) a 400 mg/kg IV. Las imágenes de TC confirmaron la presencia de una masa extra-axial, de tamaño similar a la observada anteriormente. Al día siguiente se procedió a preparar al paciente para el tratamiento quirúrgico. Para ello, se premedicó con metadona (Metasedin® 10 mg/ml Kern Esteve, Barcelona, España) a 0,3 mg/kg IM. La inducción se llevó a cabo con propofol a 3 mg/kg IV, lidocaína (Lidocaina 2% Braun, Barcelona, España) a 2 mg/kg IV y mizadolam 0,2 mg/kg IV (Midazolam 15 mg/ml Normon, Madrid, España). Tres horas antes de la cirugía, se administró maropitant 1 mg/kg SC (Cerenia® 10 mg/ml Zoetis Madrid, España). Intraquirúrgicamente se administró una dosis de dexametasona a 0,05 mg/kg IV (Caliercortin 4 mg/ml Laboratorios Calier, Barcelona, España), cefazolina 20 mg/kg (Cefazolina 1 g Normon, Madrid, España) que se fue repitiendo durante la cirugía cada 90 minutos y un bolo de manitol a 0,5 g/kg IV en infusión lenta durante 20 minutos.

Para el mantenimiento anestésico se usó una infusión continua de propofol a 0,4 mg/kg/min IV, una de fentanilo a 5 µg/kg/min IV y una de lidocaína a 25 µg/kg/min IV. Para la intervención quirúrgica se preparó de forma aséptica al perro. Se rasuró la región frontal hasta el párpado superior,

1^{er} premio

desde el arco zigomático ventralmente incluyendo ambos pabellones auriculares y caudalmente hasta la segunda vértebra cervical. La zona se desinfectó con povidona yodada al 1% (Braunosan® H Plus Braun, Rubí, España). En la mesa quirúrgica, se posicionó en decúbito esternal con la cabeza sobre un saco de arena fijada a la mesa con la articulación occipito-atlantoidea en flexión forzada asegurándose de no comprimir las venas yugulares, y una angulación de 15º con respecto al plano sagital (**Imagen 3**). Se realizó una incisión en piel con bisturí en media luna desde el seno frontal hasta la apófisis espinosa de C2 usando electrocauterio bipolar para controlar el sangrado. El tejido subcutáneo se diseccionó y los músculos temporal, occipital, cleidocefálico y esplenio se separaron por su línea media y desperiostizaron de la bóveda craneal para exponer el tumor. Se realizó una craniectomía parieto-tempo-occipital izquierda con motor neumático utilizando irrigación continua con suero salino fisiológico (NaCl 0,9% Braun, Barcelona, España) durante la que se retiró todo el tejido tumoral visible macroscópicamente (**Imagen 4**). El seno transversal izquierdo había sido obliterado por el tejido tumoral, pero el seno sagital dorsal con una vena intraósea subsidiaria patente no permitió la resección con márgenes del límite derecho del tumor debido al sangrado profuso. El defecto óseo fue cubierto con un hemostático de colágeno (Lyostyp® Braun, Rubí, España) (**Imagen 5**). El cierre se realizó por capas sobreponiendo la musculatura temporal y occipital al defecto óseo mediante una sutura simple continua con monofilamento absorbible polidioxanona (Monoplus® 2/0 Braun Surgical, Barcelona, España) para el tejido muscular y subcutáneo, y una sutura intradérmica continua con monofilamento absorbible gliconato (Monosyn® 2/0 Braun Surgical, Barcelona España) para la piel.

Se realizó una TC posquirúrgica en la que se apreciaba la extirpación macroscópica del tumor sin evidencia de compresión encefálica (**Imagen 6**).

Tras la cirugía, se despertó algo desorientada, por lo que se administró un segundo bolo de manitol a 0,5 g/kg IV en infusión lenta durante 20 minutos. En el examen neurológico postquirúrgico 24 horas después mostraba una marcha ligeramente atáxica con hipermetría y temblores de intención que fueron disminuyendo durante su ingreso.

Permaneció hospitalizada con cefazolina a 20 mg/kg IV cada 8h, dexametasona 0,05 mg/kg IV cada 24 horas y pantoprazol (Pantoprazol Normon, Madrid, España) a 1 mg/kg IV 24 horas. Durante las 24 horas tras la cirugía se mantuvo con una infusión continua de fentanilo 5 µg/kg/min IV y lidocaína a 25 µg/kg/min IV que se fue reduciendo de forma paulatina para sustituirlo primero por metadona a 0,3 mg/kg SC cada 6 horas y finalmente por tramadol 3 mg/kg PO cada 8 horas (Adolonta 50 mg Grünenthal Pharma S.A. Madrid, España) durante los dos días siguientes. Tres días después de la cirugía, la perra fue dada de alta sin anormalidades en el examen neurológico. Como tratamiento ambulatorio se recetó prednisona 0,5 mg/kg (Prednisona 10 mg Alonga Famar Health Care, Madrid, España), cefalexina 20 mg/kg (Cephacare 250 mg EcuPhar, Barcelona, España), omeprazol 1 mg/kg (Omeprazol 20 mg Cinfa, Navarra, España) y tramadol 3 mg/kg durante 7 días. Posteriormente, se fueron realizando revisiones periódicas donde se observó una evolución favorable, hasta volver a su ejercicio habitual.

Siete meses y medio después de la cirugía, se realizó una TC de control. Los exámenes físico y neurológico se consideraron normales. En las imágenes de la TC se observó recidiva del OML en el hueso parietal derecho a nivel del borde medial de la cirugía previa, en íntimo contacto con el seno sagital dorsal (**Imagen 7**). Sin embargo, se decidió posponer la cirugía hasta que obliterara la vena subsidiaria que impidió la resección con bordes en la primera cirugía para disminuir el riesgo de

1^{er} premio

sangrado. Seis meses más tarde, 12 meses y medio tras la escisión inicial del tumor, el examen físico mostró una masa subcutánea de consistencia dura a nivel occipital y el examen neurológico continuaba siendo normal. En los resultados de hemograma y una bioquímica completa no se observaron resultados fuera de los rangos de referencia y las radiografías de tórax fueron normales. Se llevó a cabo la TC de cráneo con contraste IV donde se observó un aumento de tamaño de la recidiva aún mayor que la observada en el último TAC de revisión seis meses antes (**Imagen 8**). El seno transversal derecho parecía estar ya obliterado por el crecimiento del tumor, por lo que se recomendó la escisión quirúrgica. Quince días más tarde, se admitió a la perra para escisión quirúrgica de la recidiva. Antes de la intervención se le administró una dosis de maropitant a 1mg/kg SC e intraquirúrgicamente un bolo de manitol a 0,5g/kg IV. Se amplió la craniectomía medialmente hasta el lado derecho durante la que se retiró todo el tejido tumoral visible macroscópicamente, aunque se sospechó que hubieran podido quedar restos adheridos al tentorio del cerebelo que no fue posible retirar por sangrado del seno recto. Debido a la ampliación de la craniectomía fue necesaria la protección del encéfalo por lo que se cubrió el defecto óseo resultante con un implante de polimetilmetacrilato PMMA que se moldeó para adaptarlo al defecto, y se ancló al cráneo rostralmente utilizando cerclaje quirúrgico de 0.6 mm (**Imagen 9**). El cierre se realizó por planos como en la cirugía anterior. En la TC posquirúrgica que confirmó la extirpación completa macroscópica de la masa (**Imagen 10**) y la perra permaneció ingresada con cefazolina a 20mg/kg IV cada 8 horas, carprofeno a 2 mg/kg IV cada 12 horas (Rimadyl® 50 mg/ml Zoetis, Madrid, España) y pantoprazol a 1 mg/kg IV cada 24 horas. A las 24 horas post-cirugía se fueron reduciendo las infusiones continuas de fentanilo 5 µg/kg/min IV y lidocaína a 25 µg/kg/min IV hasta que el parche de fentanilo comenzó a hacer efecto. Veinticuatro horas después de la cirugía presentaba un examen neurológico normal y a los cuatro días tras la intervención fue dada de alta con un tratamiento ambulatorio consistente en carprofeno (Rycarfa 20 mg KRKA, Novo mesto, Eslovenia) a 2 mg/kg cada 12 horas durante 5 días), cefalexina a 20 mg/kg cada 12 horas durante 5 días y omeprazol a 1 mg/kg cada 24 horas durante 5 días. Se realizaron controles presenciales durante las semanas siguientes al alta que confirmaron una evolución favorable del animal y continuó haciendo su vida normal sin signos neurológicos.

Tras ocho meses de la segunda cirugía (21 meses desde la primera intervención) la perra presentó una pequeña masa circular subcutánea de consistencia dura en la parte dorsal del cuello. En el examen neurológico se observó una ataxia ligera y leve retraso propioceptivo en los miembros del lado izquierdo. Se llevó a cabo un hemograma y una bioquímica completa con resultados dentro de los de referencia del laboratorio y unas radiografías de tórax que fueron normales. A continuación, se realizó una TC craneal con contraste IV bajo anestesia general donde se observó recidiva del tumor creciendo desde el borde izquierdo del hueso occipital por debajo de la prótesis y provocando compresión del cerebelo en ese punto. Además, existía un crecimiento tumoral subcutáneo independiente de aspecto similar al del cráneo en la parte dorsal del cuello a la altura del axis (**Imagen 11**). El análisis del LCR obtenido de la zona lumbar fue normal. Se recomendó la reintervención quirúrgica para la escisión del tumor y, mientras tanto, se recetó hidróxido de aluminio en suspensión oral 2 ml cada 12 horas en ayunas durante una semana (Vetgastril, OPKO Health Spain S.L.U., Barcelona, España) y prednisona 0,5 mg/kg cada 12 horas hasta la cirugía. A las tres semanas, se citó para la realización del tratamiento quirúrgico. Durante la inducción anestésica, sufrió una reacción eritematosa por lo que se administró un bolo de dexametasona (0,1 mg/kg IV). A continuación, se preparó asépticamente como en las cirugías previas y, durante la intervención, se aumentó la resección de los bordes del lado izquierdo de la craniectomía occipito-temporal para retirar todo el tejido tumoral visible macroscópicamente, retirando también el crecimiento tumoral aislado del cuello. Posteriormente, se cubrió el defecto óseo resultante con el mismo molde de polimetilmetacrilato usado en la cirugía an-

1^{er} premio

terior. Al finalizar la cirugía, se realizó una TC posquirúrgica que confirmó la extirpación macroscópica completa de la masa (**Imagen 12**) y la perra permaneció ingresada en nuestro centro con cefazolina a 20mg/kg IV cada 8 horas, carprofeno a 2 mg/kg IV cada 12 horas, pantoprazol a 1 mg/kg IV cada 24 horas y maropitant a 1 mg/kg IV cada 24 horas. A las 24 horas post-cirugía se comenzó a reducir la infusión de fentanilo 5 µg/kg/min IV y lidocaína a 25 µg/kg/min IV de forma paulatina. A los cinco días de la cirugía, presentaba un examen neurológico normal por lo que se le dio el alta con un tratamiento ambulatorio con cimicoxib a 2 mg/kg oral (Cimalgex 30 mg, Vétoquinol S.A., Lure, Francia) cada 24 horas durante 7 días, cefalexina 20 mg/kg cada 12 horas durante 7 días y tramadol 2 mg/kg cada 8 horas durante 3 días.

Catorce meses después de haber realizado la tercera cirugía, presentó dos crisis convulsivas generalizadas tónico-clónicas por lo que se inició tratamiento con fenobarbital 2,22 mg/kg (Luminaletas 15 mg, Kern Pharma SL, Barcelona, España) oral cada 12 horas y se realizaron niveles de fenobarbital en sangre dos semanas y media más tarde que se encontraban dentro de rango terapéutico 24,58 µg/ml (15-40 µg/ml). Un mes y medio después volvió a presentar más convulsiones por lo que se aumentó la dosis del fenobarbital a 2,77 mg/kg oral cada 12 horas y, desde entonces no volvió a presentar ninguna convulsión adicional. Tras 16 meses desde la tercera cirugía, se admitió para realizar una TC de cráneo con contraste IV y la escisión del tumor nuevamente. El examen físico y neurológico fue normal. Se realizó un hemograma y una bioquímica que no mostraron hallazgos reseñables y unas radiografías de tórax donde se observó una masa bien delimitada de opacidad hueso en el campo pulmonar izquierdo cerca del hilio compatible con metástasis (**Imagen 13**). A pesar de su presencia, los propietarios decidieron continuar con la cirugía. Posteriormente, se llevó a cabo un TAC de cráneo y tórax bajo anestesia general que confirmó la presencia de una masa extra-axial hiperatenuante bilobulada a ambos lados de la hoz cerebral entre los lóbulos occipitales, compatible con una recidiva del osteocondrosarcoma multilobular (**Imagen 14**). Al día siguiente, se procedió a preparar al paciente para el tratamiento quirúrgico bajo anestesia general y se colocó de manera aséptica como se describió anteriormente. Se incidió la piel con bisturí y se diseccionó el tejido subcutáneo y muscular para encontrarnos con el defecto óseo cubierto con la prótesis de polimetilmetacrilato que se retiró. Se reseccionó el tumor a través de la craniectomía realizada en las cirugías anteriores, retirando todo el tejido tumoral visible macroscópicamente y eliminando la hoz cerebral en su tercio más caudal (**Imagen 15**). En esta ocasión, el tumor se encontraba íntimamente adherido a la corteza cerebral lo que resultó en daño iatrogénico del tejido encefálico durante la escisión. Tras finalizar, se cubrió el defecto óseo resultante colocando una lámina de colágeno hemostático sobre el tejido cerebral. Para proteger el encéfalo se utilizó esta vez una malla de titanio (Neuro Plating System, Aesculap, Tuttlingen, Alemania) (**Imagen 16**) anclada a los bordes de la craniectomía con cuatro tornillos 1,5 mm x 3 mm. Posteriormente, se realizó un cierre por planos como en las cirugías previas. Tras finalizar la cirugía se procedió a la realización de una TC que mostró que la resección quirúrgica macroscópica había sido completa y la muestra reseccionada fue enviada para su análisis histopatológico (**Imagen 17**).

La perra permaneció hospitalizada con cefazolina a 20 mg/kg IV cada 8 horas, pantoprazol a 1 mg/kg IV cada 24 horas, maropitant a 1 mg/kg IV cada 24 horas, dexametasona a 0,05 mg/kg IV cada 24 horas y fenobarbital a 2,7 mg/kg IV cada 12 horas. Tras la administración de la cefazolina presentó una reacción eritematosa, por lo que se retiró ese antibiótico y se inició amoxicilina-ac. clavulánico (Amoxicilina-Ac. clavulánico Normon, Madrid, España) a 20 mg/kg IV cada 8 horas. Durante las primeras 24 horas presentó dos convulsiones, y neurológicamente se había deteriorado con un estado mental de obnubilación, ladeo de cabeza severo hacia el lado izquierdo con pérdida de equilibrio hacia el mismo lado, tetraparesia no ambulatoria, ausencia de respuesta de amenaza y presencia de

1^{er} premio

nistagmo horizontal en ambos ojos. La evolución durante su hospitalización fue favorable presentando una clara mejoría en el estado mental, el lado de cabeza y en la tetraparesia no ambulatoria. Tras más de 24 horas sin presentar ninguna convulsión, se le dio el alta siete días tras la realización de la cirugía con un examen neurológico en el que presentaba leve ladeo de cabeza hacia el lado izquierdo, tetraparesia no ambulatoria y ausencia de la respuesta de amenaza en ambos ojos. Como tratamiento ambulatorio se recetó amoxicilina-clavulánico 20 mg/kg (Amoxicilina- ac. clavulánico 500 mg Normon, Madrid, España) cada 12 horas durante una semana, prednisona 0,5 mg/kg cada 12 horas durante 7 días y fenobarbital 2,77 mg/kg cada 12 horas. Con respecto a la masa torácica, recomendamos realizar controles para valorar su evolución advirtiéndole que, si se comportaba de igual manera que la masa intracraneal, tardaría en mostrar signos asociados.

Los resultados de la histopatología enviada mostraron la proliferación de una población neoplásica bien delimitada, pero con invasión de los tejidos adyacentes (duramadre). Se trataba de una neoplasia multilobulada compuesta de numerosas islas circulares u ovals a irregulares, de tejido cartilaginoso u osteocartilaginoso bien diferenciado, rodeadas de células fusiformes que forman tabiques fibrovasculares gruesos. Las islas de cartílago contenían condrocitos neoplásicos en el centro, dentro de lagunas espaciadas irregularmente en una matriz cartilaginosa basófila, generalmente rodeados de células fusiformes. Inmediatamente alrededor de estas islas de cartílago había células fusiformes (fibroblastos), con cantidades moderadas de citoplasma eosinofílico pálido y un núcleo ovalado, mezclado con tejido conectivo fibroso moderadamente denso y abundante matriz eosinofila. El pleomorfismo, anisocitosis y aniscariosis eran poco marcados con un índice mitótico bajo (0-1/40x). En algunas zonas se observaban la pérdida de la arquitectura lobular, áreas mal definidas de tejido mesenquimatoso con abundantes fibras de colágeno que llegan a fusionarse con los nódulos. Además, se observó áreas de necrosis centrales en ambos nódulos enviados sin observar focos de hemorragia y escaso infiltrado inflamatorio. Todo esto se volvió a confirmar el diagnóstico de osteocondrosarcoma multilobular que mostraba signos de malignidad (pérdida de arquitectura, invasión de tejidos adyacentes, necrosis y sobrecrecimiento de un elemento mesenquimatoso). Aunque en casa continuó mejorando muy lentamente, la perra presentó dos convulsiones a los tres días del alta, 37 meses (1118 días) desde el diagnóstico los propietarios decidieron la eutanasia humanitaria que se llevó a cabo en su veterinario habitual sin posibilidad de necropsia.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El osteocondrosarcoma multilobular (OML) es un tumor óseo poco frecuente que se origina generalmente en los huesos membranosos o planos del cráneo, mandíbula o maxila, y raramente de otras localizaciones.^{1,2} Suele afectar a perros adultos de raza mediana o grande y no se ha observado predisposición racial ni sexual.^{1,2}

Los signos neurológicos se producen por compresión de las diferentes estructuras encefálicas, por lo que varían en función de su localización. En nuestro caso el perro presentaba la protuberancia occipital afectada y debido a su gran tamaño producía compresión extra-axial del cerebelo, tronco encefálico y hemisferio cerebral izquierdo con herniación transtentorial rostral. Sin embargo, no se hallaron alteraciones en el examen neurológico, probablemente debido a su crecimiento lento y a la capacidad de compensación intracraneal del sistema nervioso central.¹⁶

Para llegar a un diagnóstico, las pruebas de imagen juegan un papel importante. En radiografía aparece como una masa nodular o punteada con opacidades mineralizadas, dando una apariencia de "palomita de maíz" y de manera frecuente aparece lisis del hueso subyacente.

1^{er} premio

En la TC se observa una masa extra-axial, hiperatenuante, bien delimitada que afecta al hueso, tejido conectivo o cartílago provocando compresión de otras estructuras y puede existir afectación del tejido blando de alrededor. Cuando involucran la región occipital, son finamente granulares, no homogéneas punteadas que usualmente invaden el calvario.¹² En nuestro caso, además provocaba desplazamiento de la línea media y herniación transtentorial secundaria a la compresión causada.¹² El OML en RM se observa como una masa extra-axial, bien definida, heterogénea en secuencias ponderadas en T1 y T2 que capta contraste tras su administración.¹ La RM es útil para delinear tumores del cráneo y determinar fácilmente el grado de afectación neurovascular e invasión de tejidos blandos.¹² A pesar de su aspecto característico, el diagnóstico definitivo, sólo puede alcanzarse mediante el análisis macro y microscópico de las muestras obtenidas durante la biopsia o necropsia. En términos generales, el tumor es una masa nodular firme, arenosa, de color blanco-grisáceo a amarillo con ocasionales áreas de necrosis.¹⁰ Histológicamente, aparece como una masa multilobular, con los lobulillos delimitados por tabiques fibrovasculares. Existe una apariencia trilaminar característica de los nódulos, que consiste en un área central que puede calcificarse u osificarse y una zona periférica de tejido fibroso. Aunque los márgenes de hueso pueden ser invadidos por el tumor, el tejido blando circundante a menudo está comprimido en lugar de infiltrado por la masa.^{10,11} En nuestro caso, ya se había realizado una biopsia anterior a la primera cirugía que confirmaba la naturaleza del tumor, y se observaron las características habituales tanto en RM como en TC antes de la cirugía, por lo que ambas nos ayudaron en la planificación quirúrgica.

La tasa de recurrencia descrita tras la resección quirúrgica de los OML se comprende entre el 47% al 58% con un tiempo mediano de recurrencia de 420- 797 días y una mediana de supervivencia general de 630-797 días.^{9,10} Estos datos incluyen OML en cualquier localización, incluso fuera del cráneo por lo que es probable que la estadística sea más desalentadora en casos como el nuestro por la dificultad de conseguir márgenes quirúrgicos adecuados en localizaciones donde el daño a estructuras vitales puede tener consecuencias fatales.¹² Se ha descrito que en los OML mandibulares la supervivencia es de 1.497 días frente a 522 días en los OML no mandibulares. Esta diferencia puede ser debida a la posibilidad de procedimientos agresivos como la mandibulectomía para reseccionar de forma más completa el tumor.^{1,10}

Para los tumores orbitarios o de la bóveda craneal, incluso con una escisión quirúrgica agresiva, la recurrencia local es común independientemente del grado de resección, aunque con márgenes histológicos completos, la tasa de recurrencia es menor (42% frente a 77%).¹ En el caso descrito, se realizaron cuatro cirugías con resección macroscópica completa pero no fue posible obtener márgenes limpios. Tras la primera cirugía, el tiempo transcurrido hasta la recidiva fueron 225 días, sin presentar signos clínicos. Tras la segunda cirugía comenzó a mostrar signos a los 270 días y tras la tercera cirugía comenzó con convulsiones a los 420 días. En cuanto al tiempo de supervivencia desde el diagnóstico inicial fueron 1.118 días (37 meses), lo que compara muy favorablemente con la literatura veterinaria anterior, que como máximo ha descrito 730 días realizando la escisión quirúrgica además de radioterapia.¹

Se ha descrito la resección craneal occipito-temporal masiva para el tratamiento de un OML de características similares a nuestro caso en dos perros, pero en ninguno de los dos fue reintervenido a pesar de que se observó recurrencia del tumor a los 180 y 450 días.¹²

La escisión de masas de cráneo localizadas caudalmente que afectan las regiones occipitotemporales son especialmente complejas. En estos casos, la principal preocupación es la localización del

1^{er} premio

tumor en relación con los senos venosos sagital, confluyente y transverso. Estas son estructuras vasculares importantes que drenan la circulación venosa de la zona dorsal del cerebro y cerebelo que, si se interrumpe de forma repentina, puede provocar edema cerebral y complicaciones neurológicas severas.¹¹

La tasa metastásica documentada para el osteocondrosarcoma multilobular canino es variable y se ha asociado con el grado tumoral con un 30%, 60% y 78% para tumores de grado I, II y III, respectivamente.⁹ La escisión tumoral local con márgenes histológicamente completos ofrece unos buenos resultados para el control a largo plazo, especialmente con lesiones de bajo grado pudiendo permanecer asintomáticos con enfermedad pulmonar metastásica durante más de un año.¹⁵

En nuestro caso, la metástasis pulmonar se detectó durante la realización de las radiografías de tórax en el prequirúrgico realizado antes de la cuarta intervención, 1111 días tras el diagnóstico inicial. Las radiografías de tórax realizadas antes de las intervenciones anteriores no presentaban imágenes compatibles con metástasis.

Hasta el momento no se ha demostrado la eficacia de terapias adyuvantes como la quimioterapia o radioterapia,^{9,10,13} ya que los tiempos de supervivencia desde la fecha de la cirugía en los tres casos descritos fueron 387, 422 y 730 días, y desde el inicio de la radioterapia fueron 358, 677 y 397 días, respectivamente.¹ A pesar de que se ha realizado reintervenciones para el tratamiento de OML recidivantes,^{8-10,13} no ha sido propuesto como tratamiento a largo plazo. En nuestro caso, la perra hacía una vida activa y presentaba un examen neurológico sin anomalías hasta la última intervención. Tras las tres primeras intervenciones la recuperación fue muy rápida presentando a los tres días, a las 24 horas y a los cinco días, respectivamente, el examen neurológico completamente normal. Tras la cuarta cirugía, el deterioro neurológico del paciente se justificó debido a las adherencias del tumor con la corteza cerebral y su inflamación secundaria.

Durante la segunda y tercera intervención se colocó una prótesis de polimetilmetacrilato para cubrir el defecto óseo y proteger el encéfalo de traumatismos externos. Sin embargo, en la última intervención se colocó una malla de titanio para evitar la contaminación de reimplantaciones sucesivas de la misma prótesis y por ofrecer un mejor resultado estético.

El caso descrito expone que la posibilidad de la resección repetida es una buena opción como tratamiento para OML recurrentes incluso en esta localización, y pone de manifiesto la necesidad de un estudio prospectivo para la evaluación de su eficacia en un grupo mayor de perros, además de ampliar los estudios utilizando terapias adyuvantes como el uso de quimioterapia o radioterapia.

1^{er} premio

MATERIAL COMPLEMENTARIO

Tabla 1. Resultados de analítica sanguínea. VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media), CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media), GPT (glutamato-piruvato transaminasa), GGT (gamma glutamil transpeptidasa).

Parámetros	Valor	Unidades	Referencias
RECuento Y PARÁMETROS HEMÁTICOS			
Leucocitos	12,60	K/ μ L	5,05-16,76
Eritrocitos	6,57	K/ μ L	5,65-8,87
Plaquetas	314	K/ μ L	148-484
Hematocrito	45,7	%	37,3-61,7
Hemoglobina	19,7	g/dl	13,1-20,5
VCM	69,6	fL	61,6-73,5
HCM	30	pg	21,2-25,9
CHCM	43,1	g/dL	32-37,9
FÓRMULA LEUCOCITARIA			
Neutrófilos	10,04	K/ μ L	2,95-11,64
Eosinófilos	0,21	K/ μ L	0,06-1,23
Basófilos	0,01	K/ μ L	0,00-0,10
Linfocitos	1,45	K/ μ L	1,05-5,10
Monocitos	0,89	K/ μ L	0,16-1,12
BIOQUÍMICA			
Glucosa	105	mg/dl	75-128
BUN	38,9	mg/dl	9,2-29,2
Creatinina	0,6	mg/dl	0,4-1,4
Calcio	10,70	mg/dl	9,3-12,10
Proteínas Totales	6,8	g/dl	5,00-7,2
Albúmina	3,7	g/dl	2,6-4,00
GPT	427	U/l	17-78
Fosfatasa Alcalina	525	U/l	13-83
GGT	63	U/l	5,00-14
Bilirrubina total	0,2	mg/dl	0,10-0,50
Colesterol	229	mg/dl	111-312
Sodio	149	mmol/l	141-152
Potasio	4,3	mmol/l	3,8-5,00
Cloro	104	mmol/l	102-117

1^{er} premio

Imagen 1. Resonancia magnética secuencia T2 ponderada sagital (A) y secuencia T1 ponderada dorsal tras contraste (B) en las que se observa una masa en la región occipital izquierda de señal heterogénea con focos hiperintensos en T2 que capta contraste tras su administración.

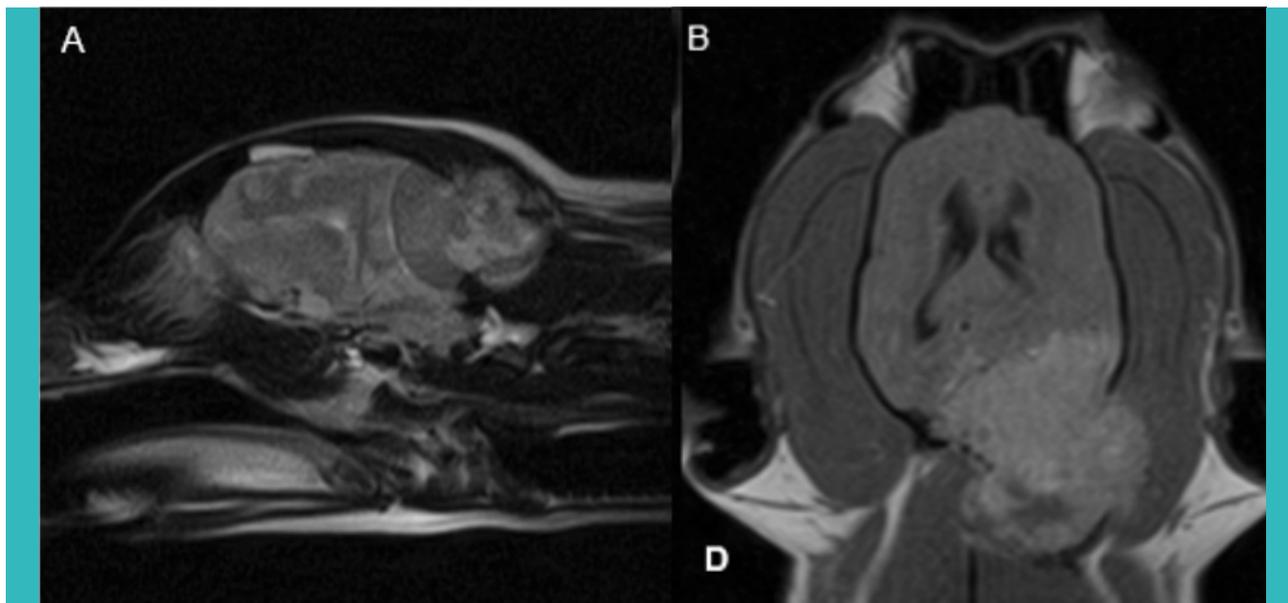
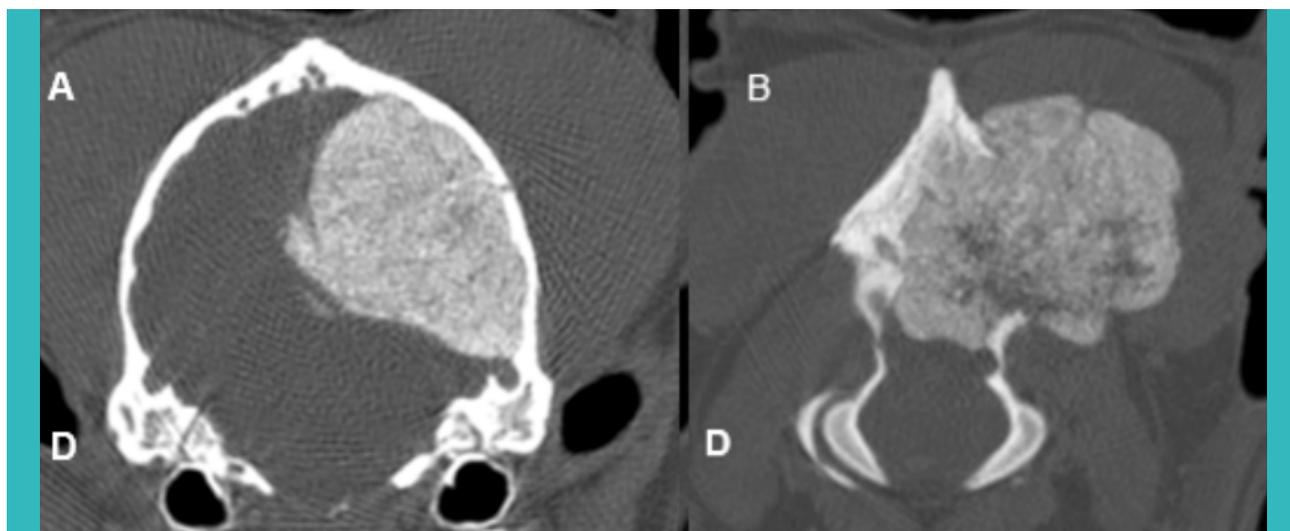


Imagen 2. Tomografía computarizada cortes transversos (A y B) en ventana de hueso en la que se observa una masa hiperatenuante a nivel occipito-temporal izquierdo provocando una compresión extra-axial del cerebelo, tronco encefálico y hemisferio cerebral izquierdos.

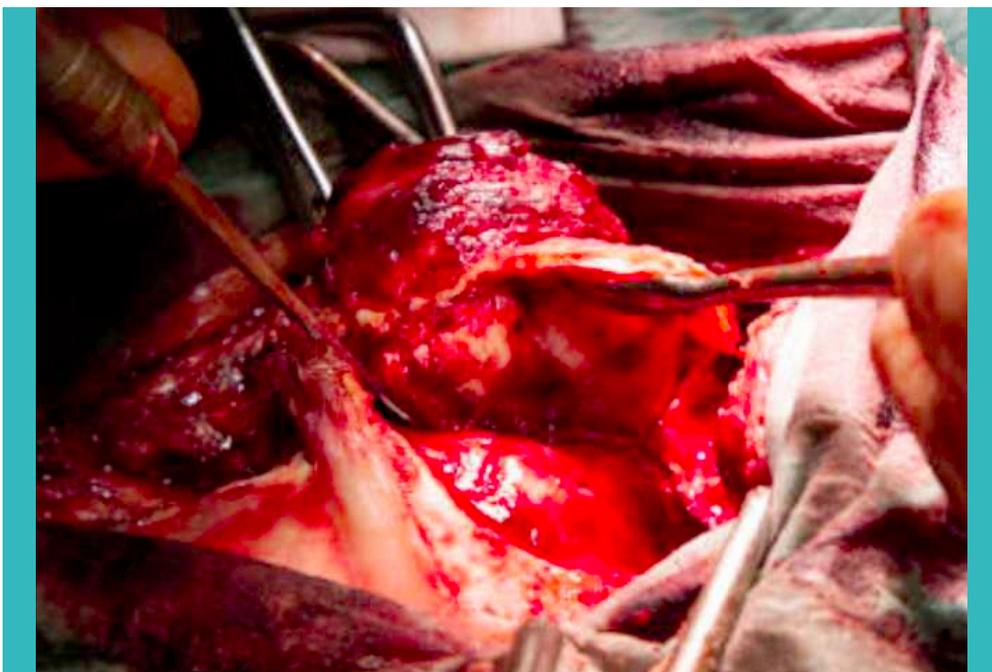


1^{er} premio

Imagen 3. Posicionamiento en decúbito esternal para la realización de la cirugía visión caudal. Cuello flexionado aproximadamente 90° con respecto al plano horizontal y 15° con respecto al sagital.



Imagen 4. Fotografía intraquirúrgica en el momento de elevar el tumor y separarlo del tejido encefálico. Primera cirugía. En primer plano se observa la cresta occipital y en segundo plano el tumor que engloba el hueso cortical occipital.



1^{er} premio

Imagen 5. Fotografía intraquirúrgica en el momento de cubrir el defecto óseo con un hemostático de colágeno. Primera cirugía.

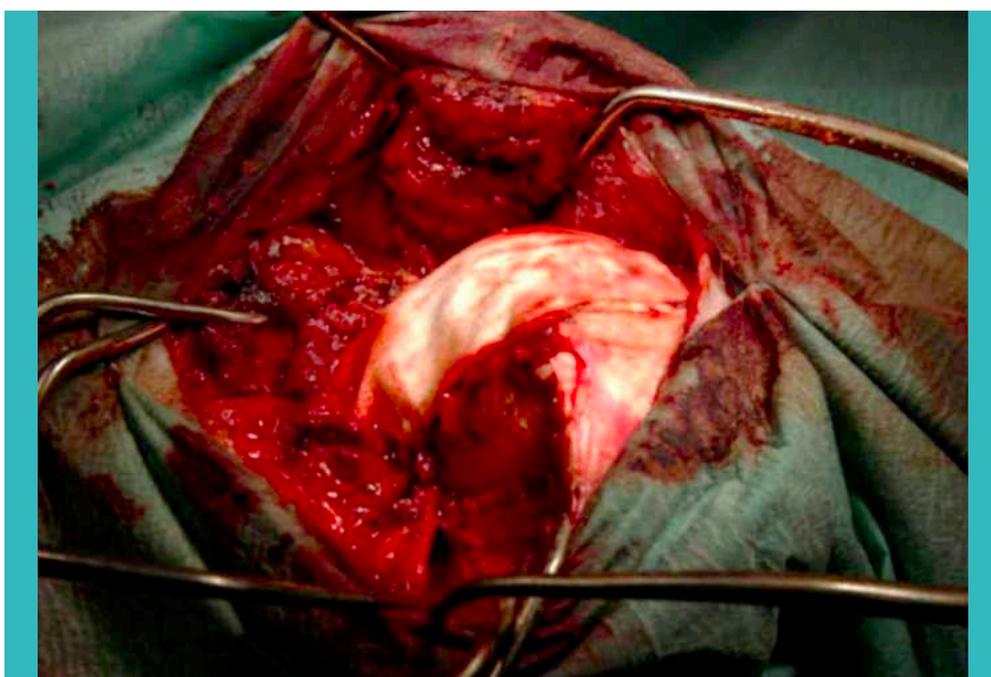
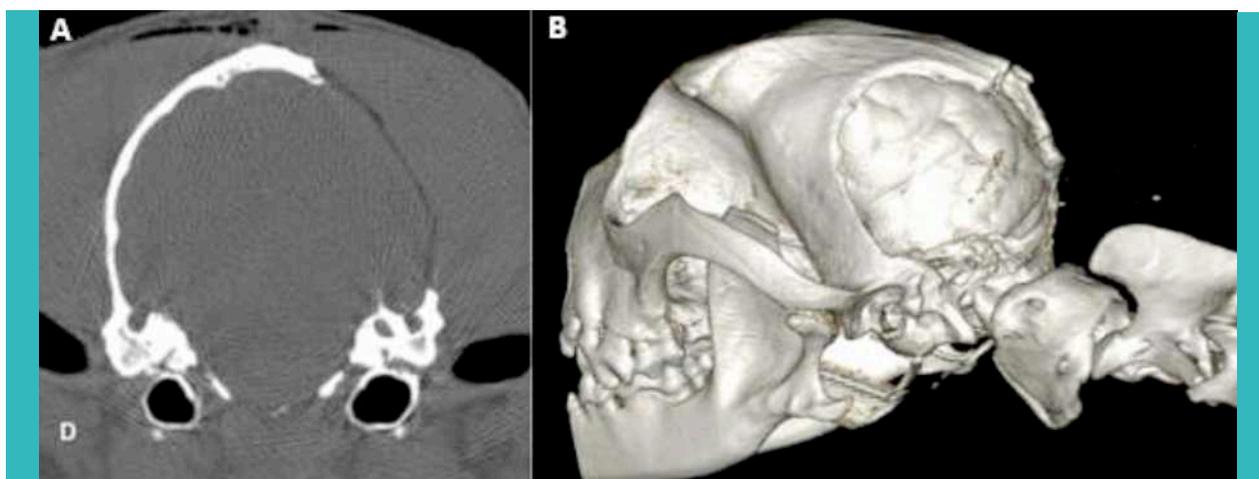


Imagen 6. Tomografía computarizada corte transverso en ventana de hueso (A) y reconstrucción 3D tras realizar la primera intervención en la que se observa la craniectomía realizada.



1^{er} premio

Imagen 7. Tomografía computarizada corte transverso (A) y reconstrucción sagital (B) en ventana de hueso tras la administración de contraste 7.5 meses después de la cirugía en la que se observa una recidiva del tumor en el hueso parietal a nivel del borde medial de la cirugía previa, en contacto íntimo con el seno sagital dorsal.

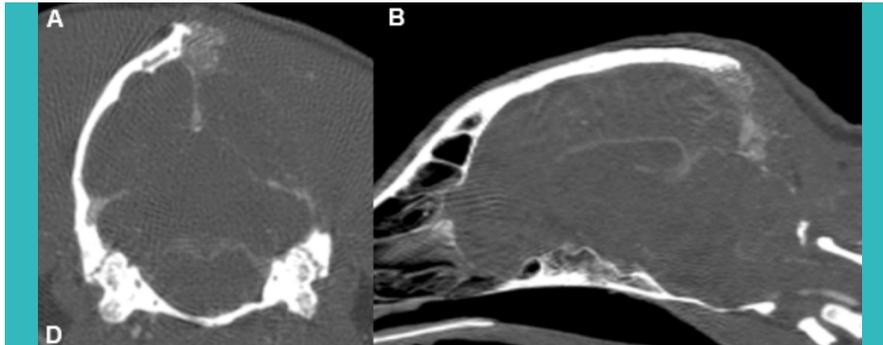


Imagen 8. Tomografía computarizada corte transverso (A) y reconstrucción sagital (B) en ventana de hueso en la que se observa una recidiva aún mayor que la observada en el último TAC de revisión seis meses antes. El seno transverso parecía estar ya obliterado por el crecimiento del tumor.

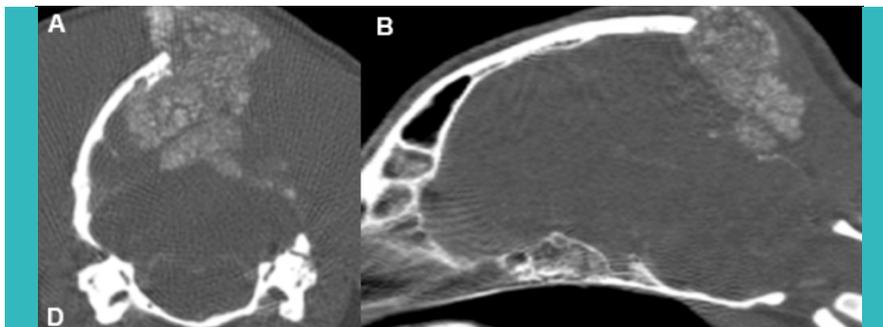


Imagen 9. Fotografía intraquirúrgica del implante de polimetilmetacrilato moldeado una vez anclado al hueso cortical mediante dos cerclajes.

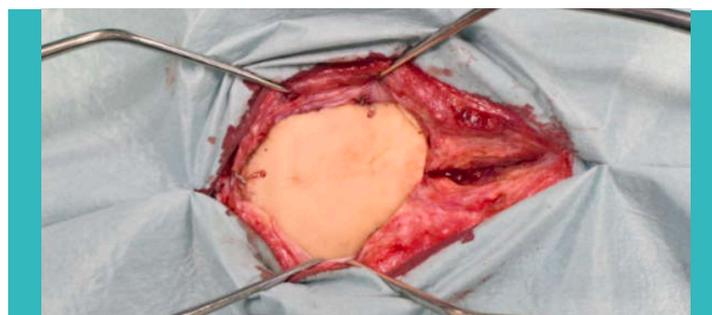


Imagen 10. Tomografía computarizada corte transverso (A) y reconstrucción sagital (B) en ventana de hueso tras la realización de la segunda intervención que confirmó la extirpación macroscópica completa de la masa.

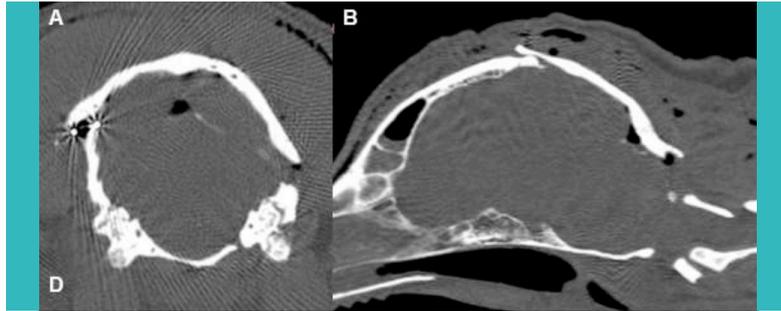


Imagen 11. Tomografía computarizada corte transverso (A) y reconstrucción parasagital (B) en ventana de hueso ocho meses después de la reintervención anterior donde se observa una tercera recidiva habiendo crecido desde el borde izquierdo del hueso occipital por debajo de la prótesis de polimetacrilato provocando en ese punto compresión del encéfalo. Además, se observa un crecimiento subcutáneo independiente a la altura del axis.

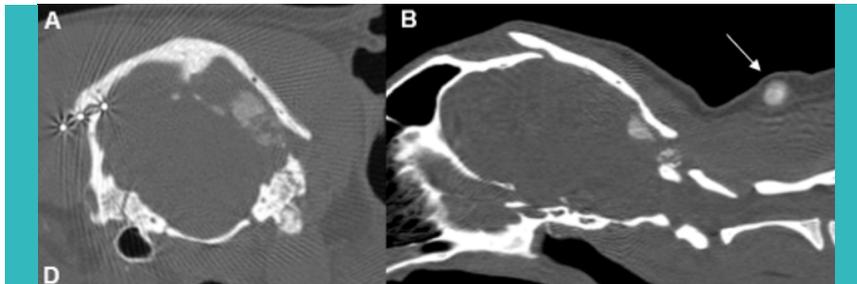


Imagen 12. Tomografía computarizada corte transverso (A) y reconstrucción sagital (B) en ventana hueso tras la realización de la tercera intervención que confirmó la extirpación completa macroscópica de la masa intracraneal y subcutánea.

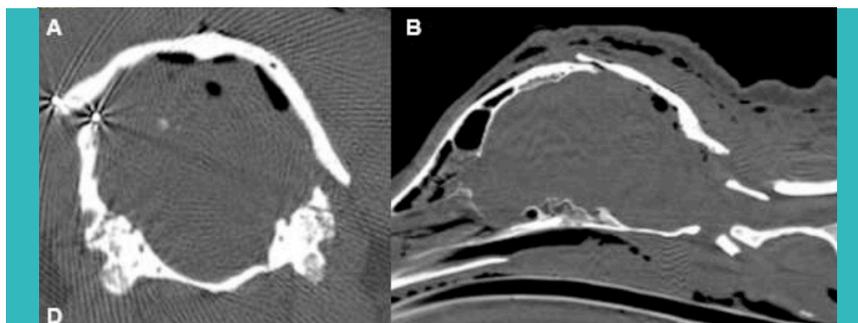


Imagen 13. Radiografías latero-lateral (A) y ventrodorsal (B) de tórax antes de la cuarta intervención donde se observa una masa bien definida de opacidad hueso en el campo pulmonar izquierdo compatible con metástasis de osteocondrosarcoma multilobular.

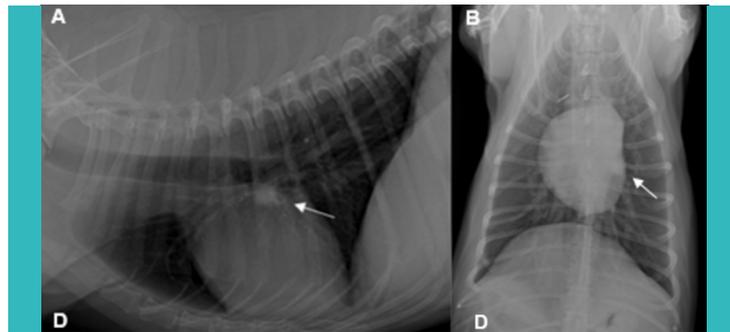


Imagen 14. Tomografía computarizada corte transversal (A) y reconstrucción sagital (B) en ventana de hueso en la que se observa una masa extra-axial hiperatenuante bilobulada en la línea media entre los lóbulos occipitales compatible con una recidiva del osteocondrosarcoma multilobular.

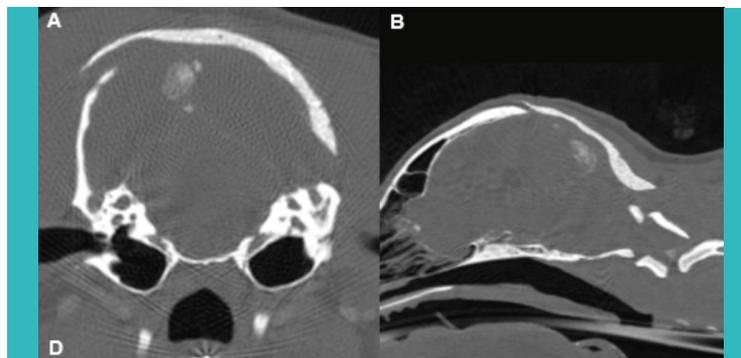


Imagen 15. Fotografía intraquirúrgica durante la cuarta intervención donde se identifica el tejido tumoral bajo el tejido fibroso que ha sustituido el colágeno de la cirugía anterior.



1^{er} premio

Imagen 16. Fotografía intraquirúrgica de la malla de titanio utilizada para la protección del encéfalo tras la cuarta cirugía que se ha curvado para permitir la expansión del encéfalo.

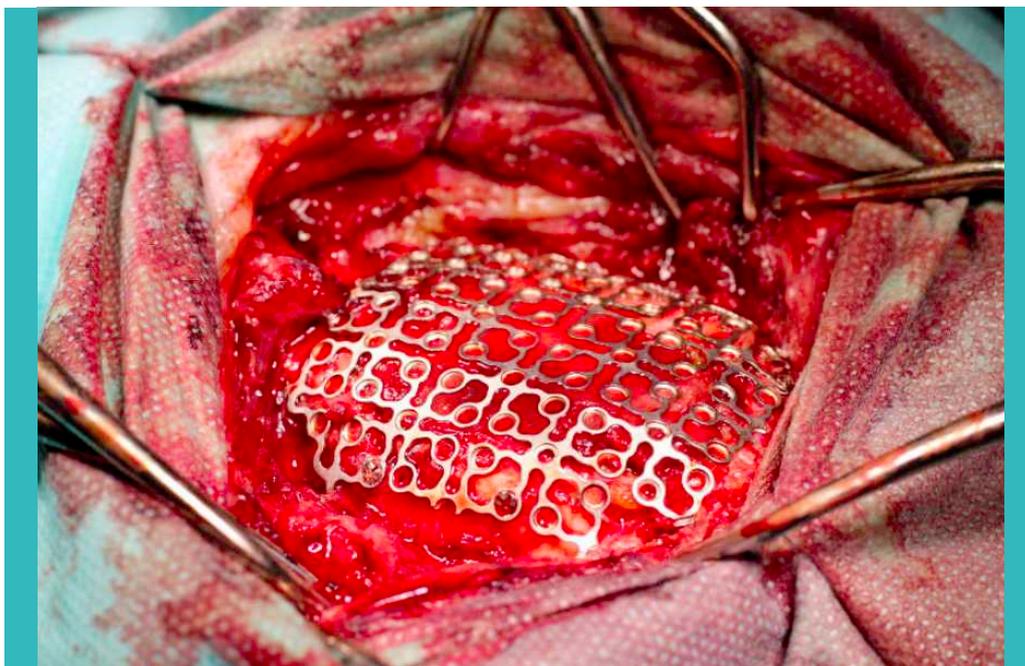


Imagen 17. Tomografía Computarizada reconstrucción 3D en ventana de hueso tras realizar la cuarta cirugía en la que se aprecia el posicionamiento de la malla de titanio.



2º premio

SEGUNDO PREMIO

Reconociendo y entendiendo la obstrucción biliar extrahepática felina

Autora: Catherine Giraldo Pino (2937)

2º premio

Reconociendo y entendiendo la obstrucción biliar extrahepática felina

PALABRAS CLAVE:

- Hepatobiliar
- Cirugía biliar
- Obstrucción biliar extrahepática
- Vesícula
- Triaditis

RESUMEN

La obstrucción biliar extrahepática (OBEH) es un síndrome poco frecuente asociado a varias causas subyacentes¹, se podrían dividir en causas intraluminales y extraluminales, sin embargo, algunas enfermedades producen OBEH por una combinación de estos mecanismos, por lo cual es más práctico dividir las causas en comunes y menos comunes². Estudios han demostrado que la inflamación de intestino delgado, páncreas, tracto biliar o una combinación de estas (triaditis) es la causa más común de OBEH en gatos, la segunda causa más común es la neoplasia del páncreas o del tracto biliar^{2,3}.

La aproximación terapéutica debe ser multimodal, en algunos casos requiere la estabilización inicial del paciente dependiendo de la gravedad de los síntomas presentados, manejo médico, quirúrgico y cuidados postquirúrgicos los cuales son fundamentales para aumentar la tasa de éxito^{3,2}.

Si está indicado el tratamiento quirúrgico, hay varias técnicas descritas de derivación biliar en perros y gatos, algunas más invasivas, requieren más tiempo anestésico y mayor destreza quirúrgica^{4,5}. Aunque las indicaciones para la intervención quirúrgica en este proceso no están claramente definidas se sugiere que la detección y descompresión biliar temprana aumenta las probabilidades de éxito en el tratamiento^{1,4}.

INTRODUCCIÓN

La obstrucción biliar extrahepática es poco común en los gatos, el bloqueo del drenaje biliar trae consecuencias fisiológicas progresivas hasta llegar a producir la muerte si no se actúa con rapidez, las causas de esta obstrucción son variadas y se pueden clasificar como extraluminal compresivas o intraluminal obstructiva², aunque la mayoría de las enfermedades causan obstrucción por una combinación de estas; en un estudio postmortem realizado en 22 gatos, se confirmó la OBEH debido a neoplasia en 6 de estos (adenocarcinoma pancreático o biliar), en los otros 15 se encontró evidencia de al menos una de las siguientes enfermedades inflamatorias: pancreatitis, colangiohepatitis, colelitiasis y colecistitis¹. Las conclusiones de este estudio resumen lo que se ha estudiado en esta especie hasta el momento, encontrando que la causa principal de obstrucción biliar extrahepática en gatos se debe a inflamación del intestino, páncreas, tracto biliar o una combinación de estas (triaditis) y las neoplasias del páncreas o tracto biliar son la segunda causa más frecuente. Recientemente se describió una tercera causa: la disfunción del esfínter de Oddi debido a una inflamación duodenal adyacente o una neoplasia, se considera que esta causa se infravalora por la dificultad en su diagnóstico^{1,2,3}.

Las enfermedades del tracto biliar son la causa más común de enfermedad felina en Estados Unidos, y son la segunda causa más frecuente en Europa a diferencia de los perros donde la enfermedad del parénquima hepático es la causa más común.

2º premio

La anatomía biliar extrahepática de los felinos es más similar a los humanos que a los perros. Esto explica la diferencia en la presentación clínica de la enfermedad en las dos especies. En perros el conducto biliar común entra en el duodeno a través de la papila duodenal mayor adyacente al conducto pancreático, el conducto pancreático accesorio es el conducto pancreático más largo y entra en la papila duodenal menor, siendo este el que drena la mayor cantidad de secreción pancreática. En el gato el conducto biliar común y el conducto pancreático se unen antes de entrar en el duodeno a través de la papila duodenal mayor (ver figura 1), esta puede ser la explicación más racional para la coexistencia de patología pancreática y hepatobiliar en esta especie⁵.

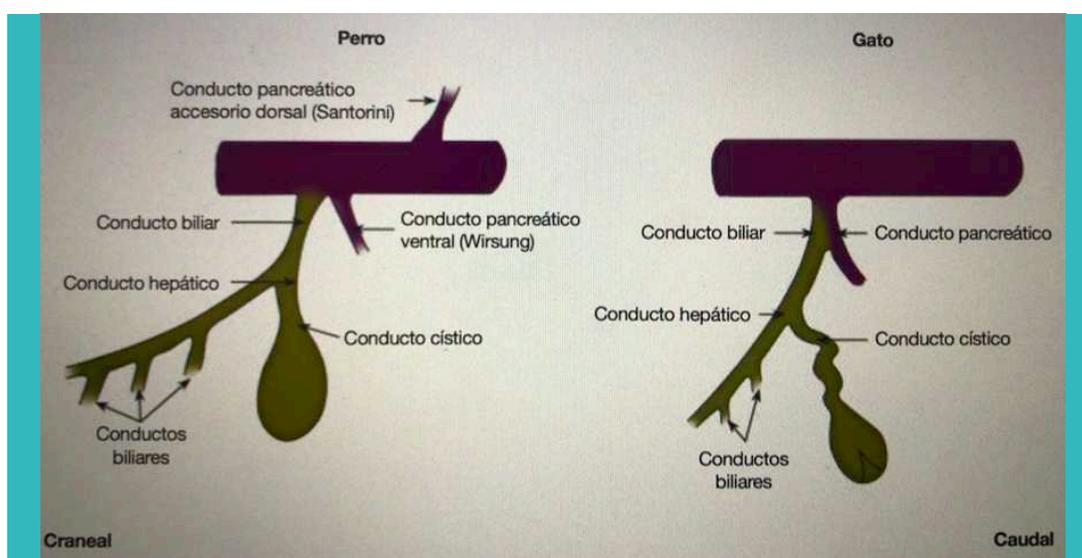


Figura 1. Anatomía comparada, conducto biliar y pancreático entre perro y gato.

Fuente: Suer, I (2014) Manejo de la triaditis felina 1. Argos, 162:72-74.

La anatomía biliar extrahepática de los felinos es más similar a los humanos que a los perros. Esto explica la diferencia en la presentación clínica de la enfermedad en las dos especies. En perros el conducto biliar común entra en el duodeno a través de la papila duodenal mayor adyacente al conducto pancreático, el conducto pancreático accesorio es el conducto pancreático más largo y entra en la papila duodenal menor, siendo este el que drena la mayor cantidad de secreción pancreática. En el gato el conducto biliar común y el conducto pancreático se unen antes de entrar en el duodeno a través de la papila duodenal mayor (ver figura 1), esta puede ser la explicación más racional para la coexistencia de patología pancreática y hepatobiliar en esta especie⁵.

Las causas que pueden producir este síndrome se pueden dividir en:

- Causas comunes: inflamación del páncreas, duodeno, conducto biliar o una combinación de estas.
- Menos comunes: estenosis del conducto biliar después de inflamación, cirugía o trauma. Hernia diafrágica con compresión de la vesícula biliar o ducto biliar común. Colelitiasis (principalmente de colesterol y sales de calcio secundario a colangitis. Ocasionalmente de bilirrubina, asociado a una

2º premio

hemolisis debido a deficiencia de piruvato kinasa en gatos de raza Somalis). Quistes congénitos o adquiridos que comprimen el árbol biliar. Parásitos hepáticos^{1,2,4,6}.

La sintomatología asociada a la OBEH no es específica y puede variar desde letargia, anorexia, vómito, dolor abdominal, palpación de una masa a nivel craneal que puede ser compatible con una vesícula biliar muy distendida o con una neoplasia. Los signos no siempre son constantes. La ictericia es evidente si hay una concentración de bilirrubina sérica superior a 1.5-2.0 mg/dL. Si se produce una ruptura del tracto biliar el paciente puede mostrar signos de shock hipovolémico⁵.

Los hallazgos clínicos y laboratoriales no permiten discernir entre OBEH y otra patología colestática. Analíticamente podemos encontrar disminución en la albumina, incremento en la fosfatasa alcalina (FA), alanina-aminotransferasa (ALT), gamma-glutamilttransferasa (GGT), colesterol, bilirrubina y leucocitosis; es importante realizar pruebas de coagulación, aunque no suelen alterarse hasta 10-14 días post-obstrucción. Si la obstrucción es crónica se evidencia un desorden hemostático mixto con trombocitopenia; en algunos casos se puede desarrollar coagulación intravascular diseminada (CID). En un estudio donde se analizaron perfiles de coagulación y tromboelastografía en perros obstruidos, se determinó que aunque los perfiles de coagulación se encontraban dentro de rango, los pacientes presentaban cierto grado de hipercoagulabilidad según los resultados de la tromboelastografía. Se necesitan investigaciones al respecto en gatos^{4,5}.

La presencia de heces acólicas indica una obstrucción del conducto biliar completa; en algunas ocasiones se encuentran huevos de trematodos.

Si se presenta efusión abdominal la manera más fácil de determinar si es una peritonitis biliar es comparando los niveles de bilirrubina sérica con los niveles de bilirrubina en el líquido abdominal obtenido por medio de abdominocentesis. En la peritonitis biliar la cantidad de efusión suele ser abundante debido al efecto hiperosmolar que ejerce la bilis^{1,2,4,5}.

La ecografía es la herramienta más útil que permite diferenciar entre OBEH y otra patología del tracto biliar, a veces se puede tener un diagnóstico definitivo. Aunque no se observa siempre, se puede apreciar dilatación de la vesícula biliar, del tracto biliar intra y/o extrahepático; en algunas ocasiones se aprecia el tracto biliar distendido y tortuoso^{2,6}. Debemos tener precaución si se desea realizar punción de la vesícula biliar guiada ecográficamente, ya que hay más probabilidad de que se presente fuga debido al aumento de la presión. En caso de ser necesaria, es mejor realizarla durante la cirugía. En algunos casos es necesario realizar laparotomía exploratoria para determinar la patencia del conducto biliar².

La obstrucción del flujo biliar trae diversas consecuencias fisiológicas entre las cuales cabe destacar:

- Disminución de la recirculación de sales biliares, las cuales ayudan a la absorción intestinal de lípidos y de vitaminas liposolubles (A, D, E, K), como ya sabemos la vitamina K es un componente primordial para la coagulación y su deficiencia trae consigo problemas hemostáticos. En un estudio reciente estas alteraciones en la coagulación se hicieron evidentes al haber aumento en el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPA) y tiempo de protrombina (TP) en gatos⁶.

- No hay conjugación de ácidos biliares, por lo que hay mayor concentración sanguínea de estos productos sin conjuguar. El incremento sérico depende si la obstrucción es parcial o total. Estos ácidos

2º premio

biliares sin conjugar son citotóxicos, producen inflamación, aumento de la permeabilidad y necrosis intestinal haciendo mas probable que se produzca una endotoxemia. En un estudio se demostró que el sistema retículo endotelial hepático y la funcionalidad de las células de kupffer también se ven afectados; estas células aumentaban la capacidad fagocítica sin embargo su capacidad de destruir los microorganismos se vio disminuida, por lo cual los microorganismos podían vivir dentro de estas y luego eran transportados a linfonodos y otros órganos⁷.

Por todas las consecuencias fisiológicas, es primordial el diagnostico temprano, determinar si la obstrucción es parcial o completa, identificar la causa primaria y establecer el tratamiento adecuado. En la actualidad aún se encuentran en estudio muchos factores asociados con esta patología. Nos debemos apoyar en el avance tecnológico, principalmente el empleo de técnicas de imagen para el diagnóstico.

El tratamiento de elección de la OBEH depende de la causa y si la obstrucción es completa o parcial^{1,2,3}. La descompresión temprana alivia los signos clínicos^{1,4,5}, sin embargo, en casos que requieran técnicas de derivación del flujo biliar hay un aumento significativo de la mortalidad y morbilidad⁴.

Lo primero que debemos realizar es la estabilización inicial del paciente, en algunos casos es necesario la estabilización hemodinámica ya que se encuentran sistémicamente comprometidos. Los cálculos de fluidoterapia se deben estimar dependiendo del porcentaje de deshidratación, parámetros hemodinámicos (frecuencia cardiaca, calidad del pulso, tiempo de relleno capilar), temperatura de las extremidades y si es posible presión arterial y presión venosa central. El déficit se realizará con un fluido isotónico (ej. Ringer Lactato®, Plasmalyte®) y su velocidad de adecuará al compromiso hemodinámico presentado. La necesidad del uso de coloides se puede valorar teniendo en cuenta los niveles de albumina, proteínas totales e incluso si es factible, la medición de la presión oncótica directamente.

En casos de obstrucciones parciales el pronóstico es bueno cuando se emplea tratamiento medico, la cirugía no es necesaria en todos los casos. Si las heces no son acólicas y hay evidencia de algún grado de flujo biliar, se puede emplear un colerético (acido ursodesoxicólico 15 mg/kg/24 horas) y un antioxidante (ej. S-Adenosilmetionina 20mg/kg o 200-400 mg al día con el estomago vacío) para proteger al hígado de los efectos tóxicos de la bilis. Al mismo tiempo la causa subyacente debe ser identificada y tratada adecuadamente. Si a pesar del tratamiento adecuado el gato no mejora, empeora la sintomatología y se desarrollan signos de obstrucción completa, se recomienda la cirugía².

Aparte del tratamiento específico para los daños ocasionados por la OBEH, debemos tener en cuenta la causa subyacente, como dijimos anteriormente las enfermedades inflamatorias cumplen un papel importante en este síndrome. Por lo cual se deben realizar analíticas específicas para detectar el órgano que este afectado de base e instaurar el tratamiento adecuado (ej. Pancreatitis, enfermedad intestinal inflamatoria).

La triaditis (inflamación concurrente del páncreas, hígado e intestino delgado) ha sido reportada en el 50-56% de gatos con pancreatitis y en el 32-50% de gatos con colangitis /enfermedad hepática, el diagnostico definitivo se basa en los resultados histopatológicos³. Es importante recordar que existen comorbilidades en la especie felina: lipidosis hepática, diabetes mellitus, deficiencia de vitamina B12, linfoma intestinal etc. En gatos con vómito persistente, dolor abdominal, ictericia, anorexia, hipovolemia, shock, sepsis, hipotermia o pirexia, el objetivo principal es brindar cuidado de soporte mientras se determina la causa mas probable de ocasionar la sintomatología y dar el tratamiento adecuado³.

2º premio

La proporción de gatos con pancreatitis que desarrollan OBEH es incierta, pero se cree que es poca, sin embargo, cuando se produce esta patología la morbilidad y mortalidad son altas. En un estudio donde se colocó un stent en el colédoco debido a una OBEH secundaria a pancreatitis en 7 gatos, 2 de estos presentaron reobstrucción durante la primera semana, en otro paciente el stent seguía en su sitio 6 meses después de la intervención, esto estaba asociado a repetidos episodios de colangitis ascendente lo cual se manifestaba como pirexia, vómitos, diarrea y elevación de enzimas hepáticas; a este paciente se le retiró el stent endoscópicamente⁹.

Aunque es difícil decidir si un paciente debe ser sometido a cirugía biliar o no, algunos autores han indicado que el empeoramiento de la hiperbilirrubinemia y la distensión progresiva del conducto biliar durante el transcurso de 7-10 días son factores que indican la necesidad de tratamiento quirúrgico⁵.

Si se decide el tratamiento quirúrgico, un factor para tener en cuenta es el empleo de antibióticos. La bilis es estéril, sin embargo, en algunos casos de OBEH se han obtenido cultivos positivos en el 30-50% de los gatos. Las bacterias aisladas con mayor frecuencia son: *E. Coli.*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Clostridium spp.*, y *Bacteroides spp.* Por ello es importante la recolección de muestras para cultivo en todos los casos de cirugía biliar. Aunque se recomienda usar el antibiótico según los resultados del cultivo y antibiograma, es de suma importancia comenzar el uso de antibioterapia lo más pronto posible; por ello se recomienda el uso de antibióticos de amplio espectro con buena acción contra bacterias anaerobias y Gram negativas, preferiblemente que sean excretados por la bilis. Se tendrán en cuenta las cefalosporinas de segunda generación como cefoxitina (15-30 mg/kg/cada 6-8 horas/intravenoso) aunque esta carece de efectos contra Enterococos, para suplir esta carencia podemos emplear ampicilina (22mg/kg/cada 6-8 horas/intravenoso)⁵.

A la hora de enfrentarnos a una obstrucción de las vías biliares extrahepáticas debemos tener claro si la patología subyacente es permanente o temporal, ya que cambia nuestra manera de afrontar el problema. En casos de patologías subyacentes reversibles hay descritas técnicas percutáneas menos invasivas; en caso de patologías irreversibles hay descritas técnicas quirúrgicas más invasivas.

Las técnicas percutáneas podrían ser eficaces en bajar los niveles de bilirrubina evitando las secuelas secundarias, aunque algunos autores mencionan que no se tienen en cuenta las alteraciones fisiológicas que se producen al prescindir de las funciones normales de los ácidos biliares en el organismo⁴.

Hay descritas dos técnicas: punción percutánea y colocación de tubo de colecistotomía:

- El uso de drenaje temporal realizando punciones percutáneas para vaciar el contenido de la vesícula biliar no ha sido aceptado completamente por la comunidad veterinaria, el colectivo que lo usa argumenta que de esta manera se permite la recuperación y normalización antes de realizar un procedimiento decisivo bajando la mortalidad sustancialmente, el drenaje biliar también permite reducir el estasis y bajar la presión del conducto permitiendo a la vesícula recuperar su funcionalidad de contracción, incluso han descrito que si la patología es secundaria a un proceso reversible esta técnica puede ser empleada como tratamiento definitivo evitando la cirugía invasiva y los largos periodos anestésicos^{6,8}. Se requieren más estudios para valorar la efectividad de esta técnica.

- También se ha descrito la colocación de tubos de colecistostomía, el cual drena la bilis a través de la cavidad corporal a un sistema de recolección cerrado. Aparte de emplearse cuando afrontamos pato-

2º premio

logías reversibles también se puede usar en aquellos que están sistémicamente comprometidos y no son candidatos para una anestesia prolongada.

Este método es poco invasivo, el tubo se puede dejar durante semanas o meses sin riesgo de fuga y también se puede emplear para realizar colangiografía de contraste para determinar el sitio de la obstrucción biliar y evaluar su resolución, estos catéteres también se usan para realizar lavados de la vesícula evitando la deshidratación de su contenido. Se recomienda la colocación vía laparoscópica transperitoneal debido a las altas tasas de éxito, bajo tiempo anestésico, mínimo trauma tisular, bajo riesgo de fuga y por poder tener visualización de la vesícula durante el procedimiento. Si la inserción del catéter falla en el primer intento por medio de la laparoscopia se puede reinsertar el catéter por el sitio inicial de la punción⁵. La principal complicación reportada fue la obstrucción prematura (12 horas en un gato) y fuga intraperitoneal biliar debida al desplazamiento del catéter. También se puede realizar la colocación del tubo por medio de cirugía convencional; después de valorar la integridad de la vesícula biliar y que no presente alteraciones en su pared se coloca un catéter Foley en el ápex de la vesícula a través de una pequeña incisión, se vacía toda la bilis y el catéter luego es pasado a través de la pared corporal derecha caudal al arco costal en una ubicación donde tengamos mínima tensión con la vesícula biliar. El tubo es asegurado en la pared abdominal con una sutura en sandalia romana y conectado a un sistema de recolección cerrado. Si se ha puesto al mismo tiempo un tubo de alimentación, es posible introducir la bilis de nuevo al tracto gastrointestinal para mantener las funciones biliares a nivel intestinal.

Los principales factores que se deben tener en cuenta al decidir si se emplea la técnica percutánea son dos: la cronicidad de la patología y la afección a nivel sistémico del paciente incluyendo estado de coagulación y niveles de creatinina séricos ya que han mostrado estar estrechamente relacionados con la mortalidad.

Si se puede realizar la cateterización del conducto biliar común, pero se tienen hallazgos laboratoriales y de imagen compatibles con OBEH, se confirma una obstrucción funcional; en este caso podemos pensar en el uso del stent biliar. Esta técnica se recomienda en casos de OBEH secundaria a procesos reversibles (ej. Pancreatitis, colangiohepatitis), trauma del conducto biliar donde se repara el defecto primario del conducto y se coloca el stent como soporte mientras se produce una cicatrización adecuada o como tratamiento paliativo en neoplasias.

Hay dos técnicas descritas para la colocación del Stent, por medio de celiotomía (técnica abierta) o por medio de endoscopia⁵:

- Técnica abierta: se debe realizar una evaluación minuciosa de todo el tracto biliar extrahepático, se realiza una duodenotomía antimesentérica a la altura de la desembocadura de la papila duodenal mayor, se cateteriza el conducto biliar para asegurarnos de su patencia; en felinos se debe tener precaución de no acceder por error al conducto pancreático. Se debe escoger el catéter de diámetro mas grande que no llene completamente el lumen del conducto biliar común, el catéter debe sobresalir 2-4 cm en el duodeno para suturarlo a la mucosa de este. Se han descrito diferentes tipos de catéter usados para este fin, si se utiliza el stent para humanos no es necesario realizar suturas de fijación ya que ha sido diseñado especialmente para evitar la migración. Según los estudios realizados hasta la fecha se obtienen resultados mas satisfactorios en perros que en gatos. Tal como mencionamos anteriormente en un estudio donde se evaluaron 7 gatos, 2 presentaron reobstrucción a la semana de la ciru-

2º premio

gía. Se sugiere que el pequeño diámetro de los stent que se pueden usar en esta especie los hace más predispuestos a la obstrucción. Si el stent aún permanece en el sitio a los 2-4 meses de su colocación y se ha resuelto la causa subyacente de la OBEH se debe retirar vía endoscópica para evitar posible colangiohepatitis ascendente^{2,5}.

- Técnica endoscópica: requiere equipamiento especial y experiencia. Primero se realiza una endoscopia gastrointestinal superior, se dilata el píloro y se accede al duodeno, si es necesario se realiza una esfinterotomía para canular la papila duodenal mayor, una guía es avanzada para canular el conducto biliar común, por medio de fluoroscopia confirmamos que la posición sea adecuada. Por último se realiza una colangiografía retrograda de contraste para ubicar el sitio de la obstrucción y medir la longitud adecuada del stent.

Las complicaciones asociadas a esta técnica incluyen obstrucción del stent, migración, colangiohepatitis ascendente, inflamación severa asociada al material del stent⁵.

En términos generales si la patencia del conducto biliar no se puede demostrar de manera normograda (a través de una incisión de colecistotomía) o retrograda (a través de una incisión antimesentérica en el duodeno atravesando la papila duodenal mayor), se debe realizar una colecistoenterostomía (ver más adelante). Ya que el conducto biliar tiene un diámetro en el lumen de 2-4 mm en gatos, no se recomienda la coledocoduodenostomía, excepto en casos complejos en donde no es posible el paso de la bilis a través de la papila duodenal mayor y no se puede realizar una colecistoenterostomía (ej. En casos de obstrucción biliar extrahepática acompañada de necrosis de la vesícula).⁵

Las condiciones más frecuentes que conllevan a realizar cirugía biliar son: mucocelos de vesícula biliar, traumatismo, colecistitis, obstrucciones biliares extrahepáticas; los objetivos principales de la cirugía son: obtener un diagnóstico definitivo, establecer un sistema biliar patente, minimizar complicaciones. A pesar de las precauciones que se tomen, hay un número de complicaciones que pueden ocurrir durante la cirugía, las más frecuentes son:

- Hemorragia quirúrgica: se puede producir por fallo en la ligadura de arteria cística, daño en el parénquima hepático durante la disección vesical en la colecistectomía. Para minimizar este riesgo se debe realizar la cirugía de manera cautelosa, se pueden emplear electrobisturías. La hemorragia proveniente del parénquima hepático suele ser autolimitante, pero puede empeorar en pacientes con deficiencia de vitamina K^{4,5,6}.

- Peritonitis biliar postquirúrgica: es la respuesta inflamatoria del peritoneo a la presencia de bilis, se puede producir postquirúrgicamente por dehiscencia de una incisión de colecistotomía, fallo en las ligaduras del conducto cístico, conductos biliares o conductos hepáticos, dehiscencia de sutura en el conducto biliar. También se puede producir por fallo al reconocer y tratar enfermedades en la vesícula biliar. Durante la colecistoenterostomía es posible dañar la arteria cística o rotar el conducto cístico lo que conlleva a necrosis y rotura de la vesícula biliar o conducto cístico respectivamente. Si la concentración de bilirrubina en el líquido abdominal es mayor que el doble de la concentración sanguínea es diagnóstico para peritonitis biliar. Signos clínicos incluyen vómitos, diarrea, anorexia, pérdida de peso, ictericia, distensión abdominal, fiebre y dolor abdominal. Las sales biliares son tóxicas para los tejidos y produce cambios en la permeabilidad y necrosis tisular que promueve el crecimiento bacteriano, las fuentes de estas bacterias anaerobias se cree que son del hígado, intestino y diseminación sanguínea.

2º premio

Los ácidos biliares sin conjugar son citotóxicos e inducen a inflamación tisular y alteran la permeabilidad vascular del peritoneo, luego se produce la trasudación de fluidos y la migración transmural de microorganismos entéricos en la cavidad peritoneal. Aunque en teoría todos los ácidos biliares que provienen del tracto biliar son conjugados, la migración bacteriana o el pH bajo en los conductos biliares produce desconjugación de ácidos biliares. El objetivo de la reintervención es la identificación y reparación de la fuente de la fuga, mantener el árbol biliar patente, y realizar un lavado abdominal copioso. El cultivo del líquido abdominal y de la bilis es necesario para orientar el antibiótico a usar, mientras esta el resultado se usará un antibiótico de amplio espectro^{4,5,6}.

- Obstrucción postquirúrgica del conducto biliar: puede ser por errores quirúrgicos (ligadura del conducto, error en identificar el lugar de la obstrucción), pancreatitis postquirúrgica. Si la obstrucción perdura en el tiempo suele ser debida a estenosis en el sitio de la cirugía (ej. coledocotomía, coledocostomía) o secundario a pancreatitis. En raras ocasiones puede ser por recidiva de la colelitiasis^{4,5,6}.

Aunque se han descrito estudios de contraste oral, intravenoso y colangiografía; no son muy empleados en animales. Desafortunadamente hay variables que bajan la concentración hepática del contraste produciendo pobre opacificación del sistema biliar extrahepático, entre las más reconocidas están: altas concentraciones de bilirrubina sérica, hipoalbuminemia, ictericia, enfermedad hepatocelular, pancreatitis, peritonitis, obstrucción biliar, colecistitis, o administración concurrente de sulfonamidas y salicilatos⁵.

La escintigrafía hepatobiliar en animales con enfermedad hepática y biliar, es una herramienta para diferenciar la OBEH postquirúrgica de daño o enfermedad hepatocelular. La mayoría de radioderivados que se emplean son derivados de ^{99m}Tc ácido iminodiacético (mebrofenina). Después de la inyección intravenosa, estos compuestos son excretados a través del sistema biliar luego pasan al duodeno por medio de la papila duodenal mayor. Si los intestinos no se pueden visualizar dentro de 3 horas de la inyección del agente es probable que estemos ante una OBEH. La principal desventaja de esta técnica es que no da información segura del sitio exacto de la obstrucción, el paciente debe permanecer en un área especial durante 24 horas por el efecto radioactivo y el procedimiento es más largo que la realización de una ecografía.

Si nos planteamos realizar cirugía, hay diferentes técnicas quirúrgicas que se han descrito para paliar los efectos de la obstrucción biliar extrahepática irreversible:

- La colecistectomía está indicada en mucocelos biliares, colelitiasis (para prevenir recurrencia), neoplasias o trauma de la vesícula biliar; es fundamental comprobar la patencia del conducto biliar. También se debe realizar en casos de peritonitis biliar donde la fuga provenga de la vesícula biliar; la sutura vesical está contraindicada si presenta necrosis por el alto riesgo de dehiscencia⁵, si el procedimiento se realiza debido a un mucocelo, se recomienda un lavado abundante del conducto biliar común para retirar toda la secreción y evitar posibles obstrucciones postquirúrgicas.

Normalmente la vesícula se disecciona de la fosa hepática antes de realizar la ligadura. En pacientes con inflamación vesical, necrosis o ruptura las adherencias al hígado u omento pueden ser muy vasculares, se debe diseccionar hasta la unión del conducto cístico con el conducto biliar común, se hace doble ligadura del conducto cístico y su arteria con sutura no absorbible, se inspecciona por posibles fugas y se envía la vesícula para histopatología y cultivo, la bilis para cultivo.

2º premio

Aunque esta técnica también se puede realizar por medio de endoscopia, debido a las limitaciones que tiene este método para poder realizar la cateterización del conducto biliar, se debe realizar solamente cuando estamos seguros de que no hay una obstrucción del mismo^{4,5}.

También hay descritas técnicas quirúrgicas de desviación de flujo biliar, donde las mas comunes son la colecistoduodenostomía y la colecistoyeyunostomía, debido al pequeño diámetro del conducto biliar común en perros y gatos no es recomendable realizar la coledocoduodenostomía. Fisiológicamente la colecistoduodenostomía es la técnica de elección siempre y cuando la vesícula se pueda movilizar adyacente al duodeno proximal sin demasiada tensión, si esto es anatómicamente imposible se puede realizar la anastomosis al yeyuno proximal el cual es mas móvil. La vesícula se disecciona de la fosa hepática, teniendo precaución de no girar el conducto cístico o dañar la arteria cística, si hay sangrado del parénquima hepático se pueden usar agentes hemostáticos en el área afectada (ej. celulosa), si se realiza la anastomosis en el duodeno, se puede cortar el ligamento duodenocólico para tener mayor movilidad duodenal. Se hace una incisión en el eje largo de la vesícula y se drena la bilis, si se ha hecho una duodenotomía para cateterizar el conducto biliar se usa esta misma incisión para realizar la anastomosis entre la vesícula biliar y el duodeno; de otra manera, realizamos una duodenotomía antimesentérica paralela a la desembocadura de la papila duodenal mayor (ver figura 2).

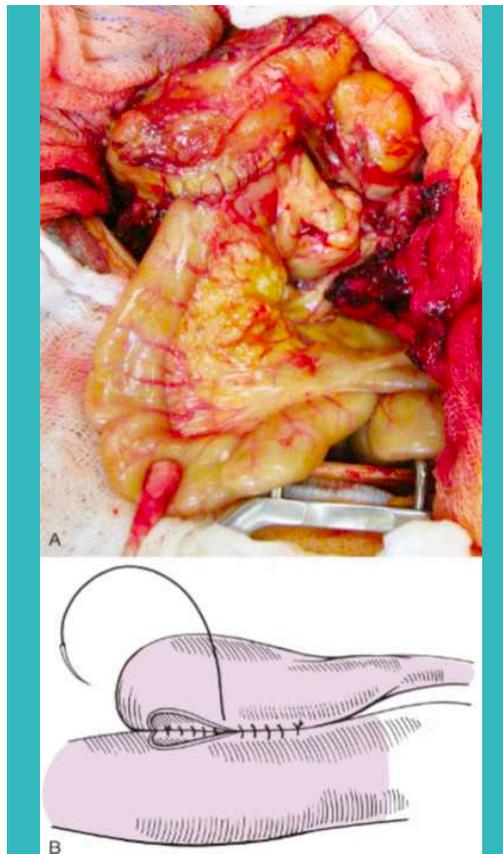


Figura 2. Colecistoduodenostomía en un gato.

Los bordes de la vesícula y el duodeno se aproximan con un patrón simple interrumpido en cada lado de la incisión
(Imagen de Fossum TW, editor: Small animal surgery, ed 3, St Louis, 2007, Mosby/Elsevier.)

2º premio

Si se va a realizar una colecistoyeyunostomía, se alinea un asa de yeyuno proximal al lumen de la vesícula y se realiza una incisión de longitud similar. Para la anastomosis se realiza un patrón simple continuo en cada lado con sutura reabsorbible monofilamento 3-0/4-0, adicionalmente se pueden colocar puntos de pexia entre la vesícula y el duodeno. Algunos autores recomiendan cierre en dos capas, aunque esto tiende a producir un cierre del lumen en el futuro. Los estomas con < 2.5 cm tienen predisposición a obstrucción por formación de estenosis, produciendo retención de contenido intestinal en la vesícula y subsecuente colangiohepatitis ascendente. También se ha descrito con éxito el uso de grapadoras quirúrgicas. Se prevé que el estoma final sea el 50% de la incisión inicial por eso se recomiendan incisiones grandes. Algunos autores dejan un drenaje abdominal como ayuda diagnóstica para detección temprana de dehiscencia; este se retira 3-5 días después o cuando se considere oportuno^{4,5}.

Dentro de las complicaciones más frecuentes en las técnicas de desviación del flujo biliar esta la dehiscencia de la incisión, estenosis del estoma, colangiohepatitis ascendente, alteraciones de la digestión y de la fisiología intestinal.

El significado fisiológico para preferir la desviación al duodeno es que la presencia de bilis en este desarrolla un mecanismo hormonal que inhibe la secreción ácida gástrica, si este mecanismo se pierde hay tendencia a desarrollar una secreción ácida gástrica muy elevada lo cual produce ulceración. Se recomienda el uso de inhibidores de la bomba de protones de manera postquirúrgica^{4,5}.

Los propietarios deben vigilar si aparece fiebre, vómito, inapetencia y avisar al veterinario⁵.

El retraso en aplicar el tratamiento adecuado a demostrado que afecta el pronóstico en humanos, antiguamente en estos con colelitiasis, se recurría a la cirugía en última instancia cuando el paciente experimentaba mucho dolor. La morbilidad y mortalidad en estos casos ascendía al 30%; debido a esto la tendencia actual es realizar la cirugía tan pronto como es posible antes de que el paciente se encuentre sistémicamente comprometido. En animales se puede extrapolar esta experiencia, ya que cuando se usa la cirugía como último recurso se ha visto una alta tasa de mortalidad.

CONCLUSIONES

La OBEH felina es multifactorial y tiene muchas presentaciones, es necesario un examen físico completo acompañado de pruebas analíticas y de imagen para poder tener una aproximación adecuada al paciente. Es fundamental tratar de determinar la causa primaria asociada a esta obstrucción y luego determinar si la obstrucción es parcial o completa. Después de obtener esta información ya tendremos las bases necesarias para afrontar esta patología y tendremos datos sobre el pronóstico que será de valor a la hora de explicar al propietario a lo que nos enfrentamos. En casos de obstrucciones parciales contamos con técnicas poco invasivas para tratar de controlar los efectos adversos que se desarrollan mientras se trata de solventar la patología primaria (punciones percutáneas, tubos de colecistostomía, stent biliares) a pesar de que ciertos autores están en contra de algunas de estas técnicas, a otros profesionales les ha servido de ayuda a la hora de enfrentar los casos. Se necesitan más estudios al respecto para tener una perspectiva más clara sobre el uso apropiado de estas.

En caso de obstrucciones totales que no se puedan desobstruir quirúrgicamente, está indicado el uso de técnicas de derivación biliar: las colecistoenterostomías, donde debemos tener clara que la primera opción debe ser la colecistoduodenostomía debido a las consecuencias fisiológicas positivas que trae

2º premio

consigo la presencia de la bilis en el lumen duodenal; en caso de no ser posible tenemos la opción de realizar la colecistoyeyunostomía teniendo claro sus limitaciones y efectos adversos. Entre las complicaciones perioperatorias.

encontramos hipotensión, baja respuesta vasopresora, baja contractibilidad cardiaca, fallo renal agudo, coagulopatías, las cuales están descritas en la literatura y nos advierten de los cuidados que debemos tener para minimizarlas, ya que están asociadas con la alta mortalidad y morbilidad descritas hasta el momento^{1,2,3,4}.

Igualmente es importante tener en consideración los cuidados postquirúrgicos, ya que dependiendo de la cronicidad de la patología unos felinos pueden estar mas comprometidos que otros a nivel sistémico, llegando a presentar incluso fallo multiorgánico; por lo cual necesitan un abordaje multidisciplinar mas completo e incluso algunos requerirán cuidados intensivos para poder tener un resultado final exitoso.

BIBLIOGRAFÍA

1. Mayhew PD, Holt DE, Mclear RC, Washabau RJ: Pathogenesis and outcome of extrahepatic biliary obstruction in cats. *J Small Anim Pract.* 2002 Jun;43(6):247-53.
2. Penny J. Watson: hepatobiliary and exocrine pancreatic disorders. En Couto, *Small Animal Internal Medicine*, Elsevier. 2014; 543 - 550.
3. K.W. Simpson Pancreatitis and triaditis in cats: causes and treatment. *Journal of Small Animal Practice* (2015) 56, 40-49.
4. Stephen J. Mehler Complications of the Extrahepatic Biliary Surgery in Companion Animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2011 Sep;41(5):949-67.
5. Philipp D. Mayhew Chick Weisse: liver and biliary system. En Karen M. Tobias, Spenser A. Johnston. *Veterinary Surgery small Animal.* 2018. Elsevier; 1829- 1833; 1842-1846.
6. Christina M. Lehner. Jonathan F. McNulty: Management of Extrahepatic Biliary Obstruction: A Role for Temporary Percutaneous Biliary Drainage.
7. White JS, Hoper M, Parks RW, et al. Patterns of bacterial translocation in experimental biliary obstruction. *J Surg Res* 2005;132: 80-84.
8. Kawarada Y, Higashiguchi T, Yokoi H, et al. Preoperative biliary drainage in obstructive jaundice. *Hepatogastroenterology* 1995;42: 300-307.
9. P. D. MAYHEW, C. W. WEISSE. Treatment of pancreatitis-associated extrahepatic biliary tract obstruction by choledochal stenting in seven cats. *Journal of Small Animal Practice* 2008;49: 133-138.

3^{er} premio

TERCER PREMIO

Fijación ventral y descompresión quirúrgica de una malformación occipito-atlanto-axial compleja mediante una placa a medida en un gato

Autores: Carmen Airés Serrano (3057), Alba Ferré Mariné(2859), Emma Idalgo Crespo (3056) y Alejandro Luján Feliu-Pascual (1067)

Fijación ventral y descompresión quirúrgica de una malformación occipito-atlanto-axial compleja mediante una placa a medida en un gato

RESUMEN

Se evaluó una gata Maine Coon hembra castrada de 4 meses de edad al presentar un cuadro progresivo de tetraparesia desde que la adquirieron dos semanas antes. En unas radiografías previas a la visita se detectó un proceso de osteoartrosis severa en la articulación coxo-femoral izquierda con remodelación de la cabeza y cuello femoral compatible con malformación congénita o trauma previo. El examen neurológico reveló tetraparesia no ambulatoria con reflejos miotácticos espinales y examen de los pares craneales normales por lo que se localizó la lesión neurológica en los segmentos medulares C1-C5. Se consideraron como principales diagnósticos diferenciales malformación congénita cervical o meningomielitis inmunomediada/infecciosa. Los resultados del análisis del líquido cefalorraquídeo estaban dentro de los valores de referencia. Durante la realización de un mieloTC se constató la presencia de una malformación congénita del hueso occipital, atlas y axis con mielopatía compresiva secundaria. Se propuso la resolución quirúrgica mediante estabilización de la articulación occipito-atlanto-axial y descompresión de la médula espinal. La estabilización se llevó a cabo con una placa de fijación fabricada a medida en base a una impresión 3D de la malformación, y seis tornillos corticales colocados ventralmente en el hueso occipital, atlas y axis, y la descompresión mediante una laminectomía dorsal del atlas.

Tres semanas después de la cirugía, la gata era capaz de ambular sin ayuda y 10 meses después, está haciendo vida normal tras realizar la exéresis de la cabeza y del cuello femoral a los 5 meses de la cirugía cervical.

Este caso demuestra los buenos resultados de la corrección quirúrgica de una malformación OAA compleja mediante una placa fabricada a medida en un gato.

Palabras clave: Mielopatía, malformación occipito-atlanto-axial, impresión 3D, fijación vertebral.

INTRODUCCIÓN

Las malformaciones occipito-atlanto-axiales (OAA) son poco frecuentes en perros e incluso menos frecuentes en gatos.¹ Las características morfológicas de estas malformaciones incluyen: fusión atlanto-occipital, hipoplasia del atlas y apófisis odontoide, malformación del axis y modificación de la articulación atlanto-axial con estrechamiento del canal vertebral de hasta un 50%.² Su causa podría atribuirse a la exposición a sustancias teratogénicas durante la gestación aunque este punto no está completamente demostrado.³ La mayoría de los perros afectados desarrollan signos clínicos durante el primer año de vida.² La compresión medular secundaria a la malformación da como resultado signos neurológicos que van desde ataxia y tetraparesia ambulatoria hasta la tetraplejía.³ La mayoría de las malformaciones OAA son detectables durante un estudio radiográfico simple, pero la mielografía, la tomografía computarizada y la resonancia magnética proporcionan información sobre el grado de compresión de la médula espinal.¹

Además de en perros, este tipo de malformaciones han sido documentadas en un ternero,⁴ dos gatos,^{5,6} un cordero,⁷ una cabra,⁸ un conejo⁹ y dos hurones domésticos¹⁰; siendo más frecuente en caballos de

3^{er} premio

raza árabe en los que se ha estudiado ampliamente en términos de aspectos clínicos, radiológicos y morfológicos.¹¹ En los potros, se ha descrito tres presentaciones: muerte durante el parto, tetraparesia-tetraplejia al nacer o ataxia progresiva cuyos signos clínicos se producen como resultado de una mielopatía cervical compresiva, de forma similar a los perros.¹²

Se ha descrito la estabilización quirúrgica de la articulación OAA mediante agujas de Kirschers, tornillos y placas de bloqueo en tres perros.^{13,14}

En dos de estos casos, la razón de la estabilización quirúrgica fue la propia malformación y consecuente compresión medular. En el primer caso descrito, la estabilización se realizó mediante múltiples implantes embebidos en polimetilmetacrilato, además de injerto óseo. Tras el fallo de estos implantes, se utilizaron dos placas de compresión. Tras fallar nuevamente estos implantes, los propietarios optaron por el sacrificio humanitario.¹⁴ El segundo caso reportado, fue estabilizado mediante agujas de Kirscher transarticulares e injerto óseo, además de dos cerclajes desde el hueso occipital hasta el atlas, presentando un examen neurológico normal 15 semanas después de la intervención.¹⁴ En el tercer y último caso reportado, la estabilización quirúrgica fue debida a un deterioro neurológico agudo por subluxación atlanto-axial secundaria tras un traumatismo. En este caso, la estabilización se llevó a cabo mediante dos tornillos transarticulares y el perro únicamente mostraba dificultad a la extensión del cuello a los 26 meses.¹³

El tratamiento quirúrgico de una malformación OAA y subluxación atlantoaxial también se ha documentado en un gato mediante la colocación de agujas transarticulares ventrales, odontectomía y artrodesis de la articulación atlantoaxial. El gato recuperó la normalidad neurológica 18 meses después de la cirugía.⁵

El objetivo de este caso clínico es describir la estabilización, fijación y descompresión quirúrgica de una malformación occipito-atlanto-axial compleja con una placa fabricada a medida basada en una impresión 3D de la malformación y sus buenos resultados en una gata en crecimiento.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Se evaluó una gata de raza Maine Coon hembra castrada de 4 meses de edad por un cuadro progresivo de tetraparesia presente desde que los propietarios la adquirieron dos semanas antes. En unas radiografías previas se detectó un proceso de osteoartrosis severo en la articulación coxo-femoral izquierda con remodelación de la cabeza y cuello femoral debido a una malformación congénita o trauma previo (**Imagen 1**) durante la investigación de una cojera de apoyo en ese miembro. Sin embargo, el desarrollo de debilidad de los miembros torácicos precipitó su evaluación neurológica. El examen físico general no reveló ninguna anomalía a excepción de dolor a la manipulación de la cadera izquierda. Durante el examen neurológico se puso de manifiesto un estado mental normal, tetraparesia no ambulatoria con reflejos miotácticos espinales normales por lo que la lesión se localizó en los segmentos medulares C1-C5. Los diagnósticos diferenciales incluyeron malformación congénita como subluxación atlanto-axial o malformación occipito-atlanto-axial, mielitis inmunomediada o infecciosa (peritonitis infecciosa felina, toxoplasmosis, leucemia felina) o enfermedad hereditaria degenerativa, por lo que se propuso realizar analíticas sanguíneas completas, radiografías de tórax, obtención y análisis de líquido cefalorraquídeo (LCR) y mielografía seguido de tomografía computarizada (mieloTC) bajo anestesia general. Los resultados del hemograma y bioquímica se encontraban dentro de los rangos de referencia del laboratorio (**Tabla 1**), y en las radiografías de tórax no se observaron anomalías. Para

3^{er} premio

la anestesia general se premedicó con buprenorfina (Bupredine 0,3 mg/ml Fatro, Barcelona, España) a 20 µg/Kg IV, y para la inducción se utilizó propofol (Propofol Lipuro® Braun, Barcelona, España) a 7 mg/kg dosis-efecto IV. El mantenimiento anestésico se realizó con isofluorano en oxígeno mediante flujo de oxígeno de 0,8 L/min con una concentración inspirada de isofluorano de 1,2% (Isoflurin 1000 mg/g Fatro, Barcelona, España). Se realizaron radiografías de la columna cervical donde se observó un aplanamiento de los cóndilos occipitales, y sobrecrecimiento óseo de la articulación atlanto-axial (**Imagen 2**). Se realizó extracción y análisis del LCR de la zona lumbar que presentó una reacción Pandy negativa y un recuento celular normal. A continuación, se inyectó el contraste iodado iohexol (OmnipaqueTM 300 mg/ml, General Electrics Healthcare, Madrid, España) a 0,3 ml/kg subaracnoideo a nivel lumbar y se completó el estudio con un mieloTC usando un equipo helicoidal de 16 cortes (Brivo CT385 General Electrics Healthcare, Madrid, España). Las imágenes se obtuvieron con un espesor de corte de 0,625 mm, un pitch helicoidal de 1, un intervalo de producción de imágenes de 0,625 mm, 120 kV y un intervalo automático entre 80-200 mAs. En las imágenes de TC (**Imagen 3**) se observó agenesia del cóndilo occipital izquierdo, engrosamiento del arco ventral del atlas, artrosis e hipertrofia de la articulación atlanto-occipital, y ausencia de fusión de la apófisis odontoides al cuerpo vertebral que en conjunto producía una compresión medular severa a ese nivel (**Imagen 4**). En vista de estos hallazgos, se emitió un diagnóstico de malformación congénita occipito-atlanto-axial con mielopatía compresiva secundaria. Se propuso la resolución quirúrgica pese a los riesgos de fallo de los implantes asociados al estar en una etapa de crecimiento y al tamaño de la gata. Hasta entonces, se realizó un vendaje/collarín (Imagen 5) para inmovilizar la zona cervical evitando en medida de lo posible la ventroflexión y no se consideró necesario administrar tratamiento médico. Se usó una reconstrucción impresa en 3D del cráneo caudal, atlas y axis de la gata (**Imagen 6**) para fabricar una placa de fijación hecha a medida (Imagen 7) (Beta Implants, Pontevedra, España).

Un mes después de la realización del mieloTC lumbar, en el examen neurológico no se apreciaron cambios respecto a la primera visita y se procedió a la fijación quirúrgica de la malformación occipito-atlanto-axial. Para ello, la gata fue premedicada con metadona (Metasedin® 10 mg/ml Esteve, Barcelona, España) a 0,2 mg/kg IV y dexmedetomidina (Dexmopet® 0,5 mg/ml Fatro, Barcelona, España) a 0,5 mg/kg IV. La inducción se llevó a cabo con alfaxalona (Alfaxan® 10 mg/ml Dechra Veterinary Products S.L.U., Barcelona, España) a 1 mg/kg IV y para el mantenimiento anestésico se usó isofluorano en oxígeno mediante flujo de oxígeno de 0,6 L/min con una concentración inspirada de 1,2%. Durante la cirugía se administró una infusión continua de fentanilo (Fentanest® Kern Pharma, Barcelona, España) a 5 µg/kg/h IV y ketamina (Ketamidor® 100mg/ml Richter Pharma, Italia) a 10 µg/kg/h IV. Para la intervención quirúrgica se preparó la gata de forma aséptica. Se rasuró la región ventral de la cabeza y cuello, rostralmente desde el mentón hasta el esternón, y lateralmente hasta las ramas mandibulares y la articulación escapulohumeral a ambos lados. La zona se desinfectó con clorhexidina digluconato al 1% (DispoPET® CV Médica SL, Sarriá, España). En la mesa quirúrgica, se posicionó en decúbito dorsal con el cuello en extensión, sobre un saco de arena. Durante el abordaje quirúrgico, se incidió la piel con bisturí en su línea media desde la zona craneal a la laringe hasta el cuarto cuerpo vertebral aproximadamente, y el tejido subcutáneo se diseccionó de forma roma para separar la piel y la fascia superficial de los músculos esternohioideos. La laringe, tráquea, esófago, tronco vagosimpático, arteria carótida y vena yugular internas izquierdas se desplazaron hacia el lado izquierdo, accediendo entre los músculos esternohioideo y esternocéfálico izquierdos para exponer los músculos largos del cuello. Tras desperiostizar la musculatura ventral de hueso basioccipital, el atlas y el axis, se localizó la cápsula articular retirándola mediante bisturí para acceder al interior de la articulación. La cápsula articular atlanto-axial se encontraba engrosada por lo que, a pesar de intentar la tracción para reducir la com-

3^{er} premio

presión, no se produjo movimiento de las vértebras. Una vez identificados los cóndilos laterales del hueso occipital, las alas del atlas y el cuerpo del axis, se procedió a la estabilización ventral de dichas estructuras mediante la colocación de la placa a medida fijada (**Imagen 8**) con seis tornillos corticales: dos de 2,5 mm x 16 mm en el axis, otros dos tornillos de 2,5 mm x 16mm en el atlas y dos de 2,5 mm x 12mm en los cóndilos del hueso occipital.

Se realizó el cierre por capas usando una sutura simple continua con multifilamento entrelazada absorbible poliglactina (Vicryl® 2/0 Ethicon J&J, Barcelona, España) para el tejido subcutáneo y una sutura intradérmica continua con monofilamento absorbible gliconato (Monosyn® 2/0 BBraun Surgical, Barcelona España) para la piel.

Se realizó una TC (**Imagen 9**) postquirúrgica donde se observó que el tornillo occipital derecho había invadido la cavidad craneal por lo que se reintervino para recolocararlo en un ángulo adecuado. Tras la segunda TC, se observó una colocación adecuada pero debido a la falta de descompresión al no conseguir tracción, se planeó la descompresión para el día siguiente. La recuperación anestésica ocurrió sin complicaciones a pesar de la colocación subóptima en primera instancia del tornillo occipital.

La gata permaneció hospitalizada recibiendo cefazolina (Cefazolina Normon, Madrid, España) a 20 mg/kg IV TID, dexametasona (Caliercortin 4 mg/ml Calier, Barcelona, España) a 0,05 mg/Kg IV SID, gabapentina (Gabapentina 100 mg, Kerm Pharma) a 15 mg/kg PO TID y pantoprazol (Pantoprazol Normon, Madrid, España) a 1 mg/Kg IV SID, además de una infusión continua intravenosa de fentanilo a 5 µg/kg/h y ketamina a 4 µg/kg/h.

Al día siguiente, se intervino quirúrgicamente practicándole una laminectomía dorsal del atlas con el fin de descomprimir la médula a ese nivel. Fue premedicada con dexmedetomidina a 0,5 mg/kg IV. La inducción se llevó a cabo con alfaxalona a 1 mg/kg IV y para el mantenimiento anestésico se usó isofluorano en oxígeno mediante flujo de oxígeno de 0,6 L/min con una concentración inspirada de isofluorano de 1,2%. Durante la cirugía se continuó con la administración de una infusión continua de fentanilo a 5 µg/kg/h IV y ketamina a 10 µg/kg/h IV. Se preparó a la paciente de forma aséptica, similar a la cirugía del día anterior, para lo que se rasuró la región dorsal de la cabeza y cuello desde los senos frontales hasta la apófisis espinosa de T1. Se desinfectó la piel de forma similar a la cirugía anterior y se posicionó en decúbito esternal alineándose cabeza, cuello y columna vertebral para minimizar cualquier rotación. Se realizó una incisión con bisturí desde la protuberancia occipital hasta final del axis, sobre la línea media de la piel y la fascia superficial dejando al descubierto el rafe medio de los músculos dorsales del cuello. El músculo braquicefálico, esplenio, semiespinal de la cabeza, y los músculos rectos dorsales se retrajeron en su línea media, para exponer el arco dorsal del atlas con ayuda de un elevador de periostio y pinzas bipolares para minimizar el sangrado. Tras ello, se realizó el fresado del arco del atlas mediante un motor neumático hasta exponer el canal vertebral y la médula espinal envuelta en la duramadre (**Imagen 10**). Una vez obtenida la descompresión dorsal deseada, se cubrió el defecto con esponja hemostática (Spongostan Film® Ferrosan Medical Decives, Soeborg, Dinamarca).

Se realizó el cierre por capas usando una sutura simple continua con monofilamento absorbible gliconato para el tejido subcutáneo y una sutura intradérmica con monofilamento absorbible gliconato para la piel.

Se obtuvo una buena exposición medular y una buena descompresión confirmado mediante TC postquirúrgica (**Imagen 11**) y radiografías donde se observó la correcta colocación de la placa (**Imagen 12**).

3^{er} premio

Se colocó un vendaje cervical similar al de la primera visita y se mantuvo a la gata hospitalizada con tratamiento post-operatorio que incluyó la misma pauta que tras la primera intervención, cefazolina a 20 mg/kg IV TID, dexametasona a 0,05 mg/Kg IV SID, gabapentina a 15 mg/kg PO TID y pantoprazol a 1 mg/Kg IV SID, además de una infusión continua intravenosa de fentanilo a 5 µg/kg/h y ketamina a 4 µg/kg/h que se fue reduciendo de forma progresiva durante las primeras 72 horas para pasar a metadona a 0,2 mg/kg IV TID y carprofeno (Rimadyl® 50 mg/ml Zoetis, Madrid, España).

A las 24 horas después de la cirugía, la gata estaba consciente y comiendo con apetito, aunque continuaba con tetraparesia no ambulatoria. Cuatro días después de la intervención, comenzó con dificultad para expandir el tórax además de obnubilación, miosis bilateral y opistótonos, por lo que se realizó una gasometría venosa donde los valores del CO₂ estaban en 71 mmHg (34-38) y HCO₃ de 28,5 mmol/L (22-24), reiniciándose el tratamiento con dexametasona a 0,05 mg/Kg y se administró 3 bolos de manitol (Manitol 20% Braun, Rubí, España) a 0,5 g/Kg IV en 20 minutos lo que condujo a una clara mejoría clínica y a la reducción del valor de pCO₂ venoso a 41 mmHg en menos de 12 horas. Se realizaron radiografías de tórax y, aunque no se observó un patrón broncoalveolar compatible con neumonía por aspiración, de forma preventiva se inició tratamiento con amoxicilina-ac. clavulánico (Amoxicilina-clavulánico Normon®, Madrid, España) a 20 mg/kg IV TID. A las 24 horas, volvió a sufrir un episodio similar que respondió a la administración de un único bolo de manitol a 0,5 g/kg IV. Desde ese momento se mantuvo estable y comiendo con normalidad hasta el día del alta, una semana después de la intervención.

La gata recibió el alta hospitalaria con prednisona a 0,5 mg/kg (Prednisona Cinfa® 2,5 mg, Navarra, España) cada 12 horas durante una semana, amoxicilina-clavulánico a 20 mg/kg (Synulox® 50 mg comprimidos, Pfizer, Madrid, España) cada 12 horas durante una semana y omeprazol a 1 mg/kg (Omeprazol Normon® 10mg capsulas, Madrid, España) cada 12 horas durante 7 días.

Se realizaron controles rutinarios a las dos semanas, cinco semanas, tres meses, cinco meses y diez meses después de la cirugía. En el momento de la primera revisión, a los 17 días de la primera intervención, presentaba estado mental alerta y tetraparesia ambulatoria, habiendo recuperado la ambulación independiente dos días antes de la revisión. El resto de examen neurológico era normal y no había vuelto a sufrir ningún episodio similar al ocurrido durante su hospitalización desde el alta, por lo que se retiraron las medicaciones y se recomendó realizar fisioterapia y ejercicios para acelerar la recuperación.

En la revisión de control a los 3 meses de la cirugía, tras realizar radiografías de control (**Imagen 13**), se observó desplazamiento del tornillo implantado en el cóndilo occipital derecho sin que esto ocasionase empeoramiento neurológico ni dolor.

Cinco meses después de la cirugía, fue admitida para la realización de una escisión artroplástica de la cabeza y cuello femoral izquierda que se desarrolló sin complicaciones siendo dada de alta ese mismo día (**Imagen 14**). Diez meses después de la cirugía de la malformación occipito-atlanto-axial, la gata se mantiene estable sin haberse observado más complicaciones asociadas a la cirugía y realizando un nivel de ejercicio sin restricciones.

DISCUSIÓN

Las malformaciones occipitoatlantoaxiales (OAA) son poco frecuentes. Se han documentado en perros,^{1-3,13,14} caballos,^{11,12} hurones¹⁰ y animales de abasto,^{4,7-9} además de personas,¹ pero la información disponible en gatos se limita a dos casos.^{5,6}

3^{er} premio

En un perro, se sospechó que el desarrollo embriológico anormal condujo a un desplazamiento de la unión craneocervical en un segmento vertebral, de modo que la articulación atlanto-axial se asemejaba a la atlanto-occipital. En este tipo de malformaciones se puede observar fusión atlantooccipital, asimetría en los cóndilos del hueso occipital con procesos transversales más pequeños o engrosados, y un cuerpo del atlas acortado.^{2,3} El axis, a su vez, puede rotarse o fusionarse con el atlas; puede tener procesos transversales anormalmente grandes y el diente hipoplásico, aplásico o desviado.³ También se ha reportado el desplazamiento del axis hacia el agujero occipital en un perro con malformación OAA, al igual que la fragmentación del atlas y el axis dependiendo de sus centros de osificación. Además, puede observarse ensanchamiento o estrechamiento del agujero magno.² Se supone de una etiología congénita para estas malformaciones,¹ al igual que sospechamos en nuestra gata, aunque otras publicaciones sugieren una exposición a agentes teratógenos.³

Estas malformaciones pueden dar lugar a un grado variable de compresión medular y del tronco del encéfalo, ya sea por segmentos vertebrales malformados o por inestabilidad/subluxación. En un estudio con cinco perros se ha observado un estrechamiento del canal vertebral de hasta un 50% con este trastorno.²

La mayoría de los carnívoros domésticos con malformaciones OAA desarrollan signos clínicos durante el primer año de vida; aunque se han observado casos hasta de 5 años de edad en perro¹³ y de 3 años en gato⁵, con presentación aguda de signos neurológicos asociados a un traumatismo. No parece existir predilección racial en perros, pudiendo afectar tanto a razas grandes como pequeñas (incluyendo San Bernardo, Cavalier King Charles Spaniel, Pastor Alemán, Jack Russell terrier, Bulldog francés y Terranova).^{2,3} En caballos, sin embargo, se ha observado una mayor prevalencia en la raza árabe, por lo que se sospecha de un componente hereditario en esta especie.¹¹

En cuanto al conjunto de signos neurológicos; en nuestro caso se identificó el hallazgo principal de tetraparesia no ambulatoria progresiva involucrando los tractos descendentes de las neuronas motoras superiores y las vías propioceptivas generales ascendentes, pero sin afectación de los reflejos miotácnicos espinales, por lo que se localizó la lesión en los segmentos medulares C1-C5. Debido a su carácter progresivo y la edad de la gata, los diagnósticos diferenciales incluyeron enfermedades inflamatorias, neoplasias, así como anomalías congénitas cursando con inestabilidad.

El diagnóstico ante la sospecha de malformaciones vertebrales cervicales puede llevarse a cabo en muchos casos mediante radiografías simples, pero para confirmar el diagnóstico de malformaciones múltiples y complejas, la extensión de las lesiones y el grado de compresión medular secundario existente, se hace necesaria mielografía o imagen avanzada. Por su mejor definición de estructuras óseas, la TC es la modalidad óptima para el examen del hueso occipital, atlas y axis en personas y animales, siendo más sensible que la radiografía y pudiendo ayudar a la planificación quirúrgica. Si la TC se acompaña con una mielografía, es más fácil demostrar la compresión de la médula espinal como ocurrió en nuestro caso.

El conjunto de la evaluación clínica, las analíticas sanguíneas, la imagen avanzada y el análisis del LCR excluyeron procesos inflamatorios, neoplasias y la posibilidad de una fractura previa/antigua. La agenesia del cóndilo occipital izquierdo, junto con una conformación anormal de la articulación atlanto-axial, apuntaban al diagnóstico de una malformación occipito-atlanto-axial con compresión medular secundaria como la causa de los signos neurológicos de nuestra gata.

3^{er} premio

El tratamiento de las malformaciones OAA puede ser conservador o quirúrgico. El conservador consiste en la realización de reposo, la inmovilización de la zona cervical mediante un vendaje/collarín y la utilización de fármacos antiinflamatorios y analgésicos que puede obtener buenos resultados.⁶

Se ha reportado un caso de una gata común europea diagnosticada con una malformación occipitoatlantoaxial congénita a los 7 meses de edad y tratada de forma conservadora como se menciona anteriormente, presentando un examen neurológico normal un año después del diagnóstico.⁶ El tratamiento quirúrgico debe ser individualizado y dependerá del tipo de malformación que presente cada animal.

En los casos anteriormente reportados en perros, la malformación implicaba una subluxación atlantoaxial secundaria, por lo que se optó por la resolución quirúrgica de la subluxación.^{5,13,14} En uno de los perros, la estabilización quirúrgica se realizó mediante múltiples implantes embebidos en polimetilmetacrilato, además de la colocación de injerto óseo en el espacio articular para promover la fusión. Tras el fallo de estos implantes, se utilizaron dos placas de compresión en la superficie ventral de las vértebras.¹⁴ En el otro perro, se utilizaron agujas de Kirscher transarticulares, injerto óseo y dos cerclajes desde la cresta occipital hasta el arco del atlas.¹⁴ En el último caso reportado, la estabilización se llevó a cabo mediante dos tornillos transarticulares además de injerto óseo.¹³ Esta técnica ventral tiene como ventajas la alineación anatómica de la base del cráneo, atlas y axis y la posibilidad de realizar artrodesis de la articulación si se considera oportuno, aunque es técnicamente complicada y la posición y ángulo de colocación de los implantes son críticos para evitar daño iatrogénico a la médula espinal y tronco encefálico.

El único gato sometido a estabilización quirúrgica, reportado hasta el momento, se debió al deterioro neurológico agudo por subluxación atlanto-axial tras un traumatismo.⁵ Para la estabilización se utilizaron agujas de Kirscher transarticulares ventrales y se realizó artrodesis de la articulación, además de odontectomía. En nuestro caso, no se observó subluxación; sin embargo, la apófisis odontoides y la articulación atlanto-occipital producían un estrechamiento del canal vertebral por sobrecrecimiento óseo. El objetivo inicial de la cirugía fue la reducción de la compresión mediante tracción y estabilización quirúrgica pero la fibrosis y remodelación ósea de la articulación atlanto-axial impidió la reducción y por lo tanto la descompresión. Por ello, fue necesaria una segunda intervención para descomprimir la médula espinal dorsalmente.

El uso de modelos en 3D de partes corporales se ha introducido recientemente en medicina veterinaria para facilitar la visualización de estructuras complejas. Mediante estas técnicas, es más fácil comprender la relación de unas estructuras con respecto a las adyacentes.¹⁵ En nuestra gata, optamos por este tipo de tecnología ya que permitía entender esta compleja malformación a la vez que calcular los ángulos y longitudes de los implantes necesarios para un correcto posicionamiento.

El pronóstico de los pacientes con malformaciones congénitas parece ser bueno si el animal sobrevive el periodo postoperatorio.^{5,13,14} El éxito del resultado se fundamenta en la resolución de los signos neurológicos o, al menos en casos leves, la interrupción de la progresión neurológica. En ocasiones, como se ha mencionado anteriormente, es posible una recidiva de signos neurológicos debido a un fallo en los implantes, algo que, hasta la fecha, no ha ocurrido en nuestra gata a pesar del movimiento de uno de los tornillos occipitales.

3^{er} premio

Como se trata de malformaciones que se producen durante el desarrollo y posterior calcificación de los centros de osificación, es probable que muchos animales no sean maduros esqueléticamente en el momento de la evaluación inicial de los signos. En animales muy jóvenes, si los signos neurológicos lo permiten, sería recomendable esperar a que se alcance la madurez esquelética completa para disminuir la posibilidad de fallo de los implantes por una calcificación insuficiente. Nuestra gata no presentaba la madurez del esqueleto adulta en el momento de la intervención; pero la severidad de los signos justificaba la intervención temprana. Diez meses después de la cirugía, y con el crecimiento óseo ya finalizado, no ha presentado deterioro neurológico. Los resultados de nuestro tratamiento quirúrgico frente a una malformación compleja de tal calibre han sido exitosos, y nuestra gata está neurológicamente normal y con una calidad de vida excelente.

La gata descrita en este caso clínico fue diagnosticada con una malformación occipito-atlanto-axial con mielopatía compresiva severa causada por agenesia del cóndilo occipital derecho, acortamiento del cuerpo vertebral del axis con artrosis en la articulación atlanto-axial provocando compresión medular, por lo que fue tratada quirúrgicamente mediante la utilización de una placa fabricada a medida con ayuda de un modelo 3D siendo el primer caso documentado que utiliza este tipo de tecnología.

La descripción de este caso evidencia los buenos resultados quirúrgicos, a medio y largo plazo, de un animal con una malformación cervical compleja tratada de forma quirúrgica con la colocación de una placa fabricada a medida.

MATERIAL COMPLEMENTARIO

Imagen 1. Radiografía ventro-dorsal de cadera donde se observa severa osteoartrosis con remodelación de la cabeza y cuello femoral izquierda debido a una malformación congénita o trauma previo.



3^{er} premio

Tabla 1. Resultados de analítica sanguínea. VCM (volumen corpuscular medio), HCM (hemoglobina corpuscular media), CHCM (concentración de hemoglobina corpuscular media), GPT (glutamato-piruvato transaminasa, BUN (nitrógeno ureico en sangre).

Parámetros	Valor	Unidades	Referencias
RECUESTO Y PARÁMETROS HEMÁTICOS			
Leucocitos	7,4	K/ μ L	5,5-19,05
Eritrocitos	8,32	T/L	5,5-10,0
Plaquetas	387	K/ μ L	300-700
Hematocrito	42,9	%	30,0-45,0
Hemoglobina	13,8	g/dl	8,0-15,0
VCM	51,6	fL	39,0-55,0
HCM	14,9	pg	12,5-17,5
CHCM	32,2	g/dL	30,0-36,0
FÓRMULA LEUCOCITARIA			
Neutrófilos	3,1	K/ μ L	2,5-12,5
Eosinófilos	0,3	K/ μ L	<1,5
Basófilos	0,00	K/ μ L	<2
Linfocitos	3,8	K/ μ L	1,5-7,0
Monocitos	0,1	K/ μ L	<0,9
BIOQUÍMICA			
Glucosa	92	mg/dl	70-160
BUN	54	mg/dl	20-60
Creatinina	0,77	mg/dl	0,5-1,60
Proteínas Totales	7,7	g/dl	5,2-7,6
Albúmina	3,5	g/dl	2,6-4,5
GPT	43	U/l	<75
Fosfatasa Alcalina	11	U/l	<400
Sodio	158	mEq/l	140-155
Potasio	4,5	mEq/l	3,7-5,5
Cloro	116	mEq/l	115-130
Calcio	9,7	mg/dl	8,7-12,1
Fósforo	6,9	mg/dl	5,0-10,0
Colesterol	168	mg/dl	60-280

3^{er} premio

Imagen 2. Radiografía latero-lateral derecha de cuello donde se observa sobrecrecimiento óseo a nivel ventral y dorsal del cuerpo del atlas invadiendo el canal vertebral y signos de artrosis en la articulación atlanto-axial.



Imagen 3. Reconstrucción sagital del mielotc en ventana de tejido hueso en la que se observa un desplazamiento dorsal del cuerpo del axis, engrosamiento del arco ventral del atlas y falta de fusión de la apófisis odontoides que en conjunto produce una compresión medular severa a nivel del atlas.



3^{er} premio

Imagen 4. Reconstrucción en 3D donde se observa agenesia del cóndilo occipital izquierdo, hipoplasia del derecho, engrosamiento del arco ventral del atlas y artrosis e hipertrofia de la articulación atlanto-axial.



Imagen 5. Fotografía de la gata tras la colocación de un vendaje cervical para inmovilizar la articulación hasta el día de la cirugía.



3^{er} premio

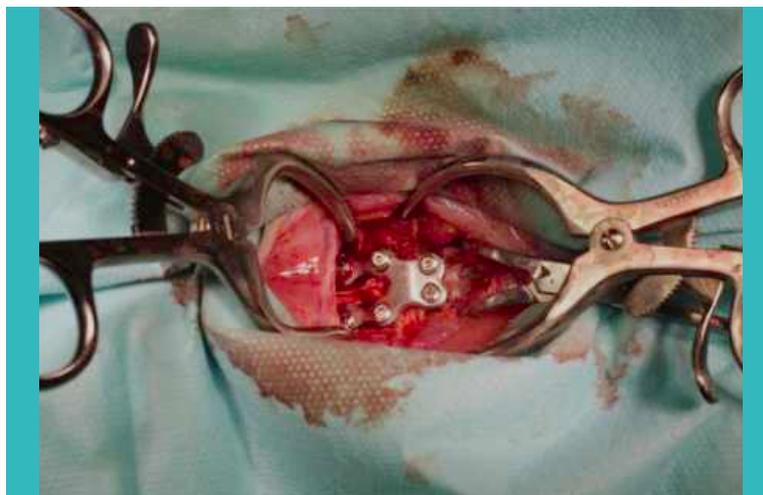
Imagen 6. Reconstrucción impresa en 3D del craneo caudal, atlas y axis de la gata (Beta Implants, Pontevedra, España).



Imagen 7. Placa de fijación hecha a medida en base a la impresión 3D (BetaImplants, Pontevedra, España).



Imagen 8. Imagen intraquirúrgica de la primera cirugía donde se observa la placa siendo fijada al hueso occipital, atlas y axis mediante tornillos a través de los agujeros previamente creados.



3^{er} premio

Imagen 9. Reconstrucción sagital del TAC tras la primera cirugía en ventana de hueso en la que se sigue observando estrechamiento del canal vertebral a nivel del atlas.

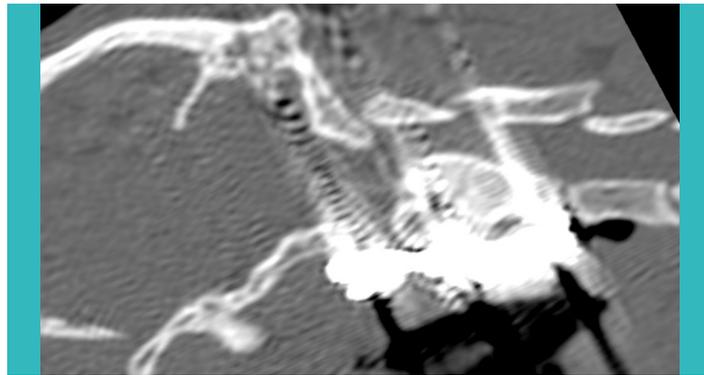


Imagen 10. Imagen intraquirúrgica de la segunda cirugía donde se observa un abordaje dorsal para laminectomía dorsal a nivel de C1.

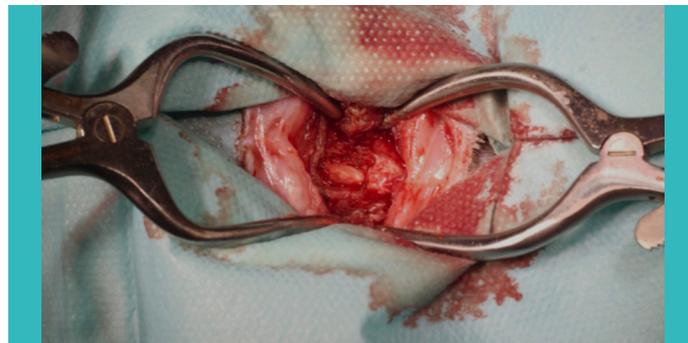
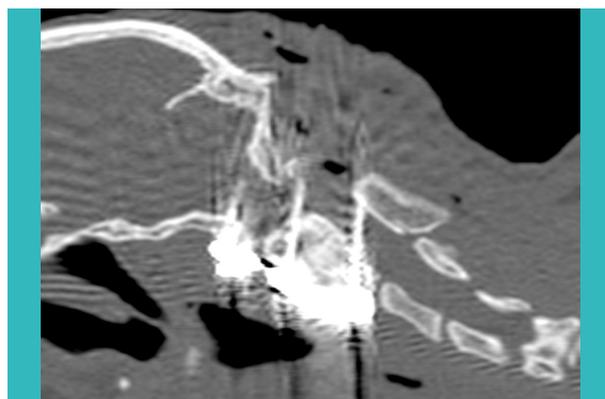


Imagen 11. Reconstrucción sagital del TAC tras la segunda cirugía en ventana de hueso en la que se observa la laminectomía realizada para descomprimir la médula a nivel del atlas.



3^{er} premio

Imagen 12. Radiografía latero-lateral de la columna cervical craneal y cráneo inmediatamente después de la segunda intervención donde se observa una colocación óptima de la placa y los tornillos.

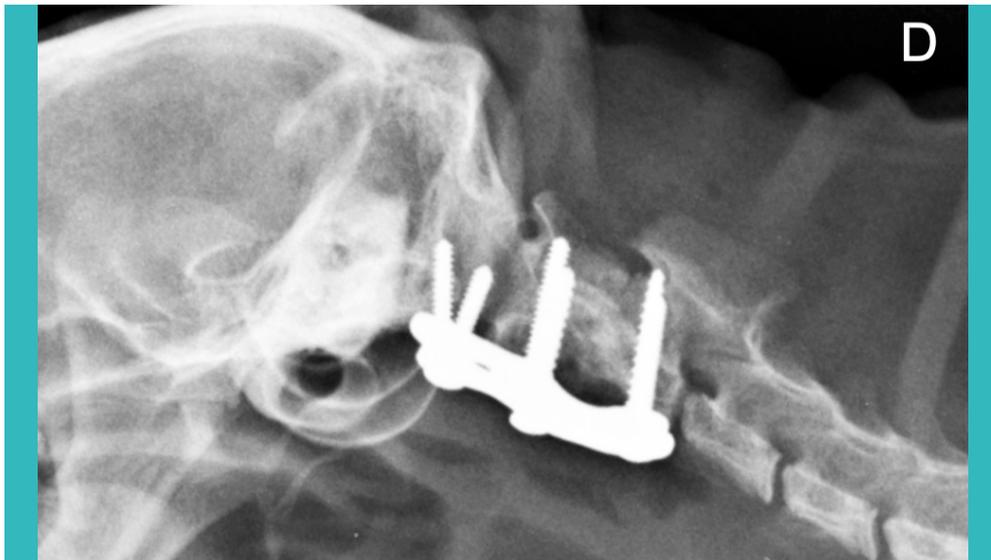
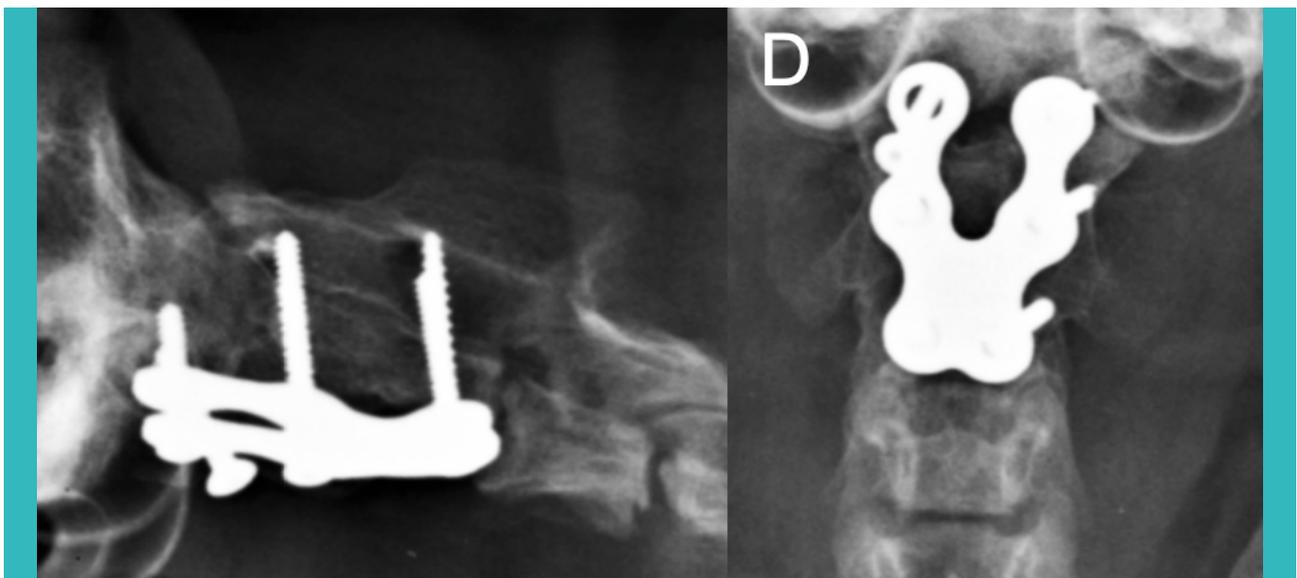


Imagen 13. Radiografías latero-lateral y ventro-dorsal de la articulación occipito-atlanto-axial de revisión donde se observa movilización del tornillo implantado en el hueso occipital derecho.



3^{er} premio

Imagen 14. Radiografía ventro-dorsal de revisión realizada en el momento de la exéresis de la cabeza y cuello femoral izquierdo.





PREMIOS
ICOVV

ILUSTRE COLEGIO
OFICIAL DE
VETERINARIOS
DE VALENCIA

CATEGORÍA JUAN MORCILLO OLALLA

Historia de la Veterinaria y Salud Pública y Seguridad alimentaria

1^{er} premio

PRIMER PREMIO

*Dieta Mediterránea: efecto protector del hidroxitirosol en la prevención
y tratamiento del cáncer de mama.*

Autores: Inmaculada Pons Rocher (998) y María Luz Pons Rocher (1049)

1^{er} premio

Dieta Mediterránea: efecto protector del hidroxitirosol en la prevención y tratamiento del cáncer de mama

RESUMEN

El olivo, *Olea europaea* L., pertenece a la familia botánica Oleaceae, localizándose esencialmente en la cuenca del mediterráneo. Es una fuente importante de compuestos bioactivos como los polifenoles, presentes en las aceitunas, el aceite y en las hojas del olivo. Oleuropeína es el éster del ácido elenólico y el hidroxitirosol o 3,4-dihydroxyphenyl ethanol. Oleuropeína e hidroxitirosol tienen un papel significativo en la reducción de las enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer. Hidroxitirosol se obtiene por hidrólisis de la oleuropeína, es un antioxidante natural más potente que las vitaminas C y E. Debido a su acción antioxidante es capaz de prevenir el daño en el ADN de las células ejerciendo una acción quimiopreventiva contra ciertos tipos de cáncer como el de mama, colorrectal, pulmón, sangre, endometrio y próstata. Además de su acción quimiopreventiva, hidroxitirosol se encuentra en estudio como resultado de su capacidad de inhibir la proliferación celular y promover la apoptosis en diferentes líneas celulares, por diferentes mecanismos y de distintos orígenes. Los resultados de los estudios realizados muestran que el hidroxitirosol puede inhibir la proliferación celular, el crecimiento celular, la migración, invasión y angiogénesis y demuestran puede ejercer su acción anticancerígena en los tres estadios del cáncer: iniciación, promoción y metástasis. Este trabajo consiste en una revisión bibliográfica de los estudios realizados para evaluar los efectos del hidroxitirosol en la prevención y tratamiento del cáncer de mama y sus posibles mecanismos de acción en cultivos celulares, estudios in vivo y en humanos.

Palabras clave: dieta mediterránea, cáncer, aceite de oliva, compuestos fenólicos, hidroxitirosol.

INTRODUCCIÓN

DIETA MEDITERRÁNEA Y SALUD

La elevada prevalencia e incidencia de las enfermedades crónicas no transmisibles como las enfermedades cardiovasculares, la obesidad, la diabetes y el cáncer constituyen graves problemas de salud pública del siglo XXI. El aumento de estas enfermedades se debe principalmente a cuatro factores de riesgo relacionados con el estilo de vida: el consumo de tabaco, la inactividad física, el consumo nocivo de alcohol y los malos hábitos alimentarios⁽¹⁾. Los hábitos alimentarios pueden actuar como un factor de riesgo o de protección frente al desarrollo de estas enfermedades⁽²⁾, ya que existe una relación inversa entre el consumo de frutas, verduras, nueces, aceite de oliva, legumbres y cereales integrales y la incidencia de enfermedades crónicas.

El patrón de alimentación mediterráneo se relaciona con bajas tasas de enfermedades crónicas y una alta esperanza de vida en las poblaciones que las consumen. Es considerado un modelo nutricional excelente y cada vez es mayor el interés del mundo científico en el estudio de su papel preventivo y como tratamiento en diversas patologías asociadas a inflamación crónica⁽³⁾.

El patrón dietético mediterráneo varía según la zona geográfica, aunque posee rasgos comunes. Los beneficios de la Dieta Mediterránea sobre la salud pueden ser debidos a diferentes factores:

1^{er} premio

- Es una dieta variada y equilibrada con un aporte adecuado de macro y micronutrientes.
- Predomina el consumo de alimentos frescos: frutas, verduras y hortalizas o mínimamente procesados, que conservan su riqueza en micronutrientes (vitaminas y minerales) y compuestos bioactivos como los polifenoles.
- Consumo moderado de alimentos de origen animal, el pescado es la principal fuente de proteína animal y bajo consumo de carnes (principalmente carnes blancas). Esto reduce el consumo de las grasas saturadas (menos del 10 % de la energía total) ^(4,5) en favor de las grasas insaturadas. Las grasas saturadas se relacionan con un aumento del colesterol sanguíneo y la aparición de enfermedades cardiovasculares.
- Adecuado aporte de ácidos grasos esenciales poliinsaturados omega6/omega3. Los ácidos grasos omega3 se encuentran en altas concentraciones en los pescados azules y en menor proporción en semillas y aceites vegetales como el lino, soja y nueces.
- Alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados, como el ácido oleico. La fuente más importante es el aceite de oliva como principal grasa culinaria y es ampliamente utilizado para el aliño de ensaladas, por lo que contribuye al efecto beneficioso de la dieta Mediterránea.
- Elevado contenido en carbohidratos complejos provenientes del consumo abundante de cereales integrales y legumbres, en detrimento de los azúcares simples. Los carbohidratos complejos retrasan la absorción de la glucosa y producen una menor elevación de la glucemia.
- Los vegetales: frutas, verduras, legumbres y granos integrales suponen un aporte importante de fibra dietética, micronutrientes y compuestos fitoquímicos como flavonoides, antiocianinas y polifenoles. Los vegetales son fuente de compuestos antioxidantes (polifenoles, tocoferoles, carotenoides y vitamina C). Estudios epidemiológicos realizados han indicado que un alto consumo de frutas y hortalizas está relacionado con una reducción en el riesgo de varias enfermedades crónicas, como son las enfermedades coronarias y algunos tipos de cáncer ⁽⁶⁾. Varios autores han sugerido que los compuestos antioxidantes podrían ser, al menos en parte, responsables de las bajas incidencias de enfermedad cardiovascular en los países de la cuenca mediterránea ^(7,8).
- La fibra dietética posee múltiples efectos beneficiosos en la salud: Aumento del volumen del bolo fecal y la reducción del tiempo del tránsito intestinal, que contribuye a la reducción plasmática del colesterol LDL, disminuye la absorción de la glucosa, por lo que disminuye la glucemia postprandial ⁽⁹⁾, reduce los riesgos para el desarrollo de algunos tipos de cáncer ⁽¹⁰⁾, contribuye a la pérdida de peso ⁽¹¹⁾, ejerce un efecto inmunomodulador ⁽¹²⁾ y beneficios en los procesos inflamatorios ⁽¹³⁾ asociados con afecciones patológicas crónicas.
- Consumo moderado de alcohol en forma de vino durante las comidas, con acción vasodilatadora.

Estudios que demuestran los beneficios de la Dieta Mediterránea

El primer estudio que estableció los efectos beneficiosos del patrón dietético mediterráneo fué el estudio de los siete países en la década de los 50 ⁽¹⁴⁾. Los diferentes modelos dietéticos se asociaron con claras diferencias en las tasas de mortalidad por enfermedad cardiovascular, que puso de manifiesto el posible efecto protector de la dieta Mediterránea frente a la enfermedad.

1^{er} premio

Posteriormente, el estudio PREDIMED es el mayor estudio realizado sobre Dieta Mediterránea, que se llevó a cabo en España. Es un ensayo clínico nutricional y aleatorio para la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares. Los resultados del estudio mostraron que seguir un patrón de alimentación mediterráneo es efectivo para la prevención de la ECV. Además, se ha demostrado que aquellos individuos que se adherían a la intervención con una dieta mediterránea tenían una menor incidencia de otras enfermedades, como la DM2, el síndrome metabólico, enfermedad arterial periférica, fibrilación auricular, hipertensión arterial, deterioro cognitivo y cáncer de mama⁽¹⁵⁾.

La dieta Mediterránea puede proteger de la enfermedad cardiovascular a través de mecanismos entre los que cabe destacar: Mejora de la capacidad antioxidante⁽¹⁶⁾, mejora del perfil lipídico y en la presión arterial, aumento en la sensibilidad a la insulina y mejora de la función endotelial⁽¹⁷⁾.

Pérdida de los hábitos mediterráneos en la actualidad

Pese a los múltiples beneficios reconocidos de la dieta Mediterránea en la salud, la globalización y el estilo de vida actual han contribuido al progresivo abandono de esta dieta y a la introducción de factores negativos como el aumento de la ingesta total de energía debido al incremento del consumo de las grasas, principalmente de origen animal, disminución del porcentaje de carbohidratos complejos, el mantenimiento del consumo de proteínas, aumento del consumo de carnes rojas y procesadas, salsas, picantes, uso de conservantes, reducción en el consumo de frutas y verduras, elevado consumo de bebidas azucaradas y alimentos ricos en sal. Todo ello, da lugar a que cada vez existan menos diferencias en el patrón de consumo de alimentos entre los países mediterráneos y los del norte de Europa.

Estos cambios en el comportamiento alimentario, junto a la falta de ejercicio físico, se han relacionado con un aumento del sobrepeso y la obesidad en la población y un mayor riesgo de padecer enfermedades crónicas como las ECV, algunos tipos de cáncer, la DM 2, la caries dental, la osteoporosis y algunos trastornos del sistema inmunitario⁽¹⁸⁾.

Basándose en el patrón dietético mediterráneo se ha diseñado la Pirámide Mediterránea como un modelo a seguir. En la base de la pirámide se incluyen consejos ligados al estilo de vida mediterráneo como la práctica de actividad física diaria, la forma de cocinado y de consumo de los alimentos, el consumo de agua y el descanso adecuado. A continuación, se sitúan los alimentos que deben sustentar la dieta y en los estratos superiores aquellos que se deben consumir con moderación. También incluye el número de raciones y la frecuencia de consumo de los diferentes grupos de alimentos que conforman este patrón dietético. La Pirámide Mediterránea sitúa al aceite de oliva como un alimento básico que se debe incluir diariamente en cada una de las comidas principales al mismo nivel que las frutas, verduras y cereales, aunque no se concreta la cantidad diaria de consumo adecuada.

1^{er} premio

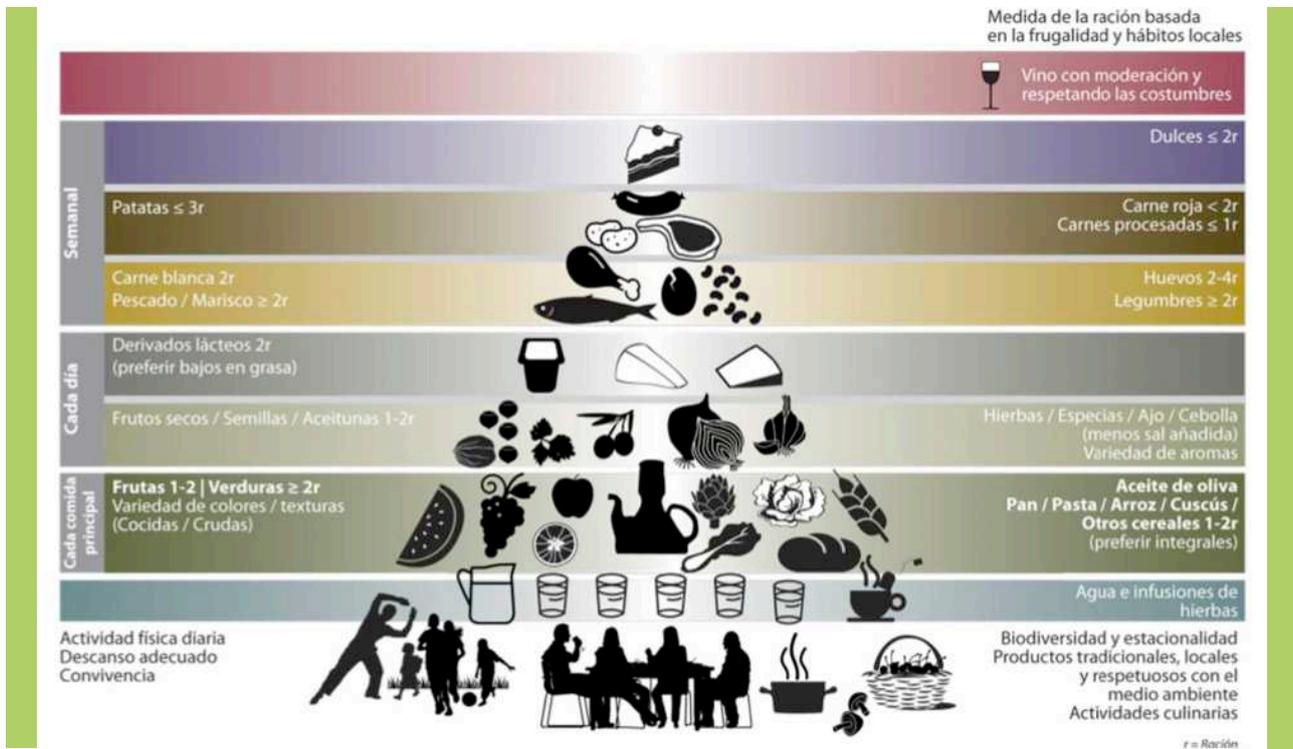


Figura 1. Pirámide alimentaria de la Fundación Dieta Mediterránea. 2010.

Fuente: adaptado de Fundación dieta mediterránea (<https://dietamediterranea.com>).

CÁNCER

El cáncer es actualmente la segunda causa de muerte en el mundo; en 2015 ocasionó 8,8 millones de defunciones ⁽¹⁹⁾.

La neoplasia se caracteriza por una proliferación excesiva, alterada e incontrolada de las células, dando como resultado la formación de una masa tumoral procedente de los tejidos originales. Puede ser benigna o maligna, siendo esta última la que se conoce como cáncer. El proceso canceroso pasa por una serie de fases: iniciación, promoción, y progresión (10). Se caracteriza por un rápido crecimiento, invasión y destrucción de los tejidos adyacentes y una diseminación por todo el organismo (metástasis), que es la responsable en la mayoría de los casos de la muerte del individuo afectado ⁽²⁰⁾.

Estrés oxidativo

Las especies reactivas de oxígeno (EROs) representan un importante factor en la carcinogénesis y pueden jugar un papel en los tres estadios del cáncer. Son metabolitos parcialmente reducidos derivados del oxígeno muy inestables capaces de reaccionar con la mayoría de las biomoléculas. Se generan en el organismo a partir de fuentes endógenas y exógenas. Cuando la concentración de EROs supera la capacidad antioxidante de los mecanismos de defensa se desarrolla el estrés oxidativo. A concentraciones elevadas las EROs pueden dañar todas las moléculas de importancia biológica: proteínas, aminoácidos libres, carbohidratos, lípidos y ADN. También, pueden alterar la actividad de las células a nivel de funciones de membrana, del metabolismo o de la expresión génica ⁽²¹⁾.

1^{er} premio

Muchas de las enfermedades crónicas se asocian con un estado inflamatorio inducido y potenciado por el estrés oxidativo. Dentro de ellas se encuentra el cáncer por daño en el ADN, en el que las EROs tienen un papel determinante, provocando mutaciones e inestabilidad genética, ambas implicadas en la carcinogénesis ⁽²²⁾. Son capaces de promover el crecimiento y supervivencia de las células tumorales ⁽²³⁾. Existe una correlación directa entre la inflamación crónica y el cáncer apoyada por estudios epidemiológicos y experimentales realizados en animales y humanos ⁽²⁴⁾. Además, la inflamación crónica afecta a todos los estadios del cáncer, favoreciendo la mutación genética inicial o el mecanismo epigenético que conduce a la iniciación, también promueve la progresión del tumor y la metástasis ⁽²⁵⁾.

Existen numerosos factores metabólicos y genéticos responsables de la aparición del cáncer. Los hábitos alimentarios constituyen uno de los principales factores ambientales que contribuyen a la aparición de esta enfermedad ⁽¹⁰⁾. Dado que el incremento en la incidencia del cáncer está muy relacionado con patrones nutricionales inadecuados, modificar la dieta hacia patrones más saludables podría repercutir positivamente en su prevención. Además, los trastornos nutricionales no sólo se relacionan con el origen del cáncer, también repercuten negativamente en su evolución y pronóstico, ya que conducen a inmunodeficiencias, infecciones, interfieren con los tratamientos terapéuticos y son causa de mortalidad en los pacientes con cáncer.

Cáncer de Mama

El cáncer de mama es el tipo más común de cáncer en mujeres en el mundo y la segunda causa más importante de cáncer en general, con dos millones de nuevos casos diagnosticados en 2018 ⁽²⁶⁾. Su incidencia está aumentando ⁽²⁷⁾, constituyendo un problema de salud pública, ya que podría representar a casi 1 de cada 4 casos de cáncer en mujeres ⁽²⁶⁾.

Dieta y Cáncer

Numerosos estudios tanto experimentales como epidemiológicos han puesto de manifiesto que el cambio en el estilo de vida y los hábitos alimenticios podrían reducir hasta 1/3 la incidencia de cáncer ⁽²⁸⁾. Entre ellos, el balance de lípidos en la dieta se asocia con un mayor riesgo de padecer determinados tipos de cáncer ⁽³⁰⁾. Ciertos estudios sugieren que no es la cantidad sino la calidad de la grasa lo realmente importante en el desarrollo de la enfermedad ⁽²⁹⁾. Además, compuestos bioactivos como los polifenoles, han demostrado tener efectos beneficiosos en la reducción del riesgo de padecer enfermedades crónicas, incluidos los cánceres relacionados con la obesidad ⁽³⁰⁾.

Dieta Mediterránea y Cáncer

Los países Mediterráneos tienen menores tasas de mortalidad por enfermedad cardiovascular y cáncer en comparación con los países del norte de Europa y otros países occidentales y se atribuye, al menos en parte, a la dieta Mediterránea ⁽³¹⁾.

Algunos de los factores dietéticos que pueden ser responsables de esta protección son el alto consumo de frutas, verduras y cereales integrales, la baja ingesta de carnes rojas, carbohidratos refinados y grasas saturadas junto con el elevado consumo de aceite de oliva ⁽³²⁾. También, estudios ecológicos han demostrado la relación existente entre el consumo elevado de pescado per cápita y un descenso en la incidencia del cáncer ⁽³³⁾. Cuanto mayor es la adherencia a la DMed se asocia a una menor incidencia y mortalidad por cáncer ⁽³⁴⁾. Esto se debe principalmente a una menor incidencia de cáncer de colon, endometrio, mama y próstata. Se ha planteado que la DMed podría prevenir el

1^{er} premio

25% de los casos de cáncer colorrectal, 10 a 15% de cáncer prostático y endometrial y 15 a 20% de cáncer mamario ⁽³⁵⁾.

Entre los factores protectores responsables de esta menor incidencia se encuentra tanto el tipo de grasa consumida como la alta ingesta de polifenoles:

- Fuente de grasa:

La ingesta media de grasa en los países Mediterráneos es en algunos casos muy superior. Esto se debe fundamentalmente al elevado consumo de aceite de oliva, en el que predomina el ácido graso monoinsaturado oleico de la serie n-9, a diferencia de la grasa poliinsaturada de la serie n-6, mayoritaria en los países del norte de Europa y Estados Unidos ⁽³⁶⁾. Hay que destacar la importancia de una ingesta de ácidos grasos en las proporciones adecuadas. Para que haya protección frente al desarrollo del cáncer se necesita una ingesta de ácidos grasos poliinsaturados de la serie n-3 y n-6 en una proporción n-3: n-6 de 1:1 ó 1: 2 (37). Todos los expertos están de acuerdo en la necesidad de rebajar el cociente n-6/ n-3, incluso hay autores que indican que además de disminuirlo, es necesario aumentar el cociente n-9 / (n-3 + n-6) (36). El consumo abundante de aceite de oliva puede contribuir, entre otros, a aumentar este cociente gracias a su alto contenido en ácido oleico.

- Elevado consumo de polifenoles:

Los polifenoles son una gran y compleja familia de fitoquímicos generalizados en alimentos de origen vegetal, como frutas, verduras, té, café, vino, aceitunas, aceite, cereales integrales y cacao ⁽³⁸⁾.

Los estudios in vitro e in vivo han sugerido poseen propiedades beneficiosas ⁽³⁹⁾. Entre ellos se encuentran los estudios prospectivos realizados recientemente en una cohorte mediterránea para evaluar el efecto protector de los polifenoles sobre el riesgo de cáncer de mama:

Se realizó un seguimiento durante un periodo de media 10,3 años que incluyó un total de 10.713 mujeres españolas de mediana edad. El estudio no encontró una asociación significativa entre el consumo total de polifenoles y el riesgo de cáncer de mama. Sin embargo, se observó una significativa asociación inversa entre el consumo total de polifenoles y el riesgo de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas. Del mismo modo, el consumo de ácidos fenólicos fué relacionado de forma inversa con el cáncer de mama postmenopáusico ⁽⁴⁰⁾.

También, el proyecto SUN realizado durante un promedio de 11,8 años en mujeres postmenopáusicas ha revelado que un mayor consumo de ácidos hidroxicinámicos, especialmente los ácidos clorogénicos presentes en el café, frutas y verduras se asocia a una menor incidencia de cáncer de mama. No obstante, se requieren más estudios para corroborar estos resultados ⁽³⁹⁾.

Aceite de oliva y salud

El olivo, *Olea europaea* L., pertenece a la familia botánica Oleaceae, localizándose esencialmente en la cuenca del mediterráneo. La palabra aceite deriva del nombre árabe az-zait, que significa "jugo de oliva". Del fruto del olivo se obtiene el aceite de oliva virgen extra únicamente por procedimientos mecánicos u otros procedimientos físicos en condiciones térmicas que no impliquen la alteración del producto y que no se haya sometido a más tratamientos que el lavado, la decantación, la centrifugación y el filtrado. El aceite de oliva virgen extra es único respecto a otros aceites vegetales. El modo de obtención (exclusivamente mediante la primera prensa en frío) preserva todas sus características físico-químicas inalteradas, por lo que posee mayores cantidades de compuestos beneficiosos para

1^{er} premio

la salud como las vitaminas liposolubles, clorofila, esteroides y compuestos fenólicos y mayor calidad organoléptica. Pueden distinguirse dos fracciones en su composición:

-Fracción saponificable: (97-99 % del total). Formada en su mayor parte por triglicéridos, siendo el ácido oleico el ácido graso mayoritario monoinsaturado. Le siguen en proporción los ácidos grasos saturados palmítico y esteárico y, en menor proporción, ácidos grasos poliinsaturados como el ácido linoleico y alfa linoléico.

-Fracción insaponificable: (1-3%). Se encuentran presentes alrededor de 230 compuestos minoritarios en bajas concentraciones. No son nutrientes, aunque poseen efectos bioactivos ⁽⁴¹⁾. Esta fracción es en gran parte la responsable de la estabilidad del aceite, ya que protegen de la autooxidación y se les atribuyen las características organolépticas de estos aceites, proporcionando un sabor amargo ⁽⁴²⁾.

El aceite de oliva es uno de los elementos más característicos de la dieta Mediterránea. Los estudios epidemiológicos sugieren que el consumo de AOV se relaciona con un menor riesgo de enfermedades crónicas basadas en la oxidación e inflamación como son las ECV, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas, altamente prevalentes en la actualidad ⁽⁴³⁾. Sus efectos beneficiosos para la salud se han relacionado con el alto contenido en ácidos grasos monoinsaturados (ácido oleico), su contenido en antioxidantes como la vitamina E, beta-carotenos y los compuestos fenólicos ⁽⁴⁴⁾.

Los mayores beneficios para la salud se obtienen por el consumo habitual del aceite de oliva virgen extra. De hecho, la OMS recomienda sustituir el consumo de grasas saturadas por grasas monoinsaturadas, subrayando la importancia del aceite de oliva y aumentar el consumo de frutas y verduras frescas ⁽⁴⁵⁾.

Compuestos fenólicos del aceite

Los principales compuestos fenólicos presentes en el aceite de oliva son: fenoles simples, lignanos, flavonoides y secoiridoides ⁽⁴⁶⁾. Entre los fenoles simples se encuentran: hidroxitirosol, tirosol, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico, vainillina; flavonoides como luteolina y apigenina ⁽⁴⁷⁾ y otros compuestos más complejos: ácido elenólico y secoiridoides como los derivados de la oleuropeína, ligstrósidos, ligustrósidos, verbascósidos ⁽⁴⁸⁾. De ellos, hidroxitirosol y sus precursores oleuropeína y oleuropeína aglicona son las moléculas de mayor interés por sus propiedades farmacológicas y se encuentran entre los compuestos antioxidantes naturales más estudiados ⁽⁴¹⁾.

La composición de la fracción fenólica del aceite de oliva varía en función de factores agronómicos como la variedad de la aceituna, el clima, la localización geográfica o el grado de maduración de la aceituna, entre otros. También, pueden influir las condiciones del proceso de extracción del aceite como la temperatura y el tiempo, las condiciones de almacenamiento del aceite, etc. ^(48,49,50). Se ha descrito un descenso general de los polifenoles totales a medida que se produce la maduración de las aceitunas ⁽⁵¹⁾. El compuesto fenólico predominante en aceitunas es la oleuropeína. Por otra parte, la fracción fenólica es más alta en las hojas del olivo que en el aceite ⁽⁵²⁾.

Los beneficios para la salud asociados al consumo de aceite de oliva se atribuyen en parte a su elevada concentración de compuestos fenólicos ⁽⁵³⁾. Los estudios realizados sugieren que son compuestos bioactivos ⁽⁵⁴⁾.

1^{er} premio**Hidroxitirosol**

Hidroxitirosol o 3,4-dihidroxifeniletanol es un compuesto fenólico hidrofílico en el AOVE, en la fracción insaponificable. Se presenta en forma libre o esterificada junto al ácido elenólico como oleuropeína, de la que se obtiene por hidrólisis. Este proceso ocurre durante la maduración de las aceitunas, el almacenamiento del aceite y la preparación de las aceitunas de mesa, de manera que la concentración de oleuropeína desciende, mientras que HT aumenta ^(42,55). También, está presente en las hojas del olivo principalmente en forma de oleuropeína, ⁽⁵⁶⁾, cuyo extracto se comercializa actualmente como suplemento nutricional. HT también se encuentra de forma natural en el cerebro como un metabolito de la dopamina ⁽⁵⁷⁾. Se ha constatado que TYR puede interconvertirse en HT en los microsomas de la mitocondria hepáticos, por lo que puede ser un precursor de HT ⁽⁵⁸⁾.

Efectos beneficiosos del hidroxitirosol sobre la salud

Se le han atribuido diferentes efectos como son un elevado poder antioxidante, propiedades antitumorales, antiaterogénico, antimicrobiano, antiviral, quelante del hierro, hipolipemiente, antiinflamatorio, antitrombótico, hipoglucemiante y también efecto cardio protector en ratas ⁽⁵⁹⁾. Hidroxitirosol y su precursor oleuropeína poseen una actividad antioxidante superior a la de otros antioxidantes naturales como son las vitaminas C y E ⁽⁶⁰⁾.

Alegaciones de salud relacionadas con el hidroxitirosol

La EFSA, consideró en 2011, que los polifenoles del aceite de oliva ofrecen protección frente al daño oxidativo y LDL y recomienda un consumo mínimo de 5 mg/día ⁽⁶¹⁾. Pese a que han demostrado tener efectos beneficiosos en la salud cardiovascular se requieren más estudios para conocer en profundidad su acción contra el cáncer.

Existe una declaración saludable contenida en el Reglamento UE 432/2012: "los polifenoles del aceite de oliva contribuyen a la protección de los lípidos de la sangre frente al daño oxidativo". En las condiciones de uso de la declaración se concreta que 'dicha declaración sólo puede utilizarse respecto al aceite de oliva que contenga un mínimo de 5 mg de Hidroxitirosol y sus derivados (Oleuropeína o Tirosol) por 20 g de aceite de oliva. Y que para que un producto pueda llevar esta declaración, se informará al consumidor de que el efecto beneficioso se obtiene con una ingesta diaria de 20 g de aceite de oliva ⁽⁶²⁾.

El consumo de HT es seguro incluso a dosis de 500 mg/kg/d ^(63,64,65,66,67). Su escasa toxicidad en las dosis de consumo y de uso para obtener los efectos beneficiosos, junto a su elevado poder antioxidante han motivado el interés de su estudio por diferentes autores.

Aceite de oliva y cáncer

El aceite de oliva virgen se relaciona con una menor incidencia y prevalencia de cáncer ⁽⁶⁸⁾. Existe una correlación entre la absorción de ciertos compuestos del aceite de oliva y la protección frente a diferentes patologías como el cáncer de mama o piel, mientras que aquellos compuestos que no se absorben y llegan a las partes distales del intestino pueden prevenir la aparición de cáncer colorrectal ⁽⁶⁹⁾. El aceite de oliva ha mostrado ser un factor independiente de protección contra varios tipos de cáncer, en especial del aparato respiratorio ⁽⁷⁰⁾. También, estudios epidemiológicos indican que ejerce un remarcable efecto preventivo del desarrollo de cáncer de mama y del tracto digestivo ⁽⁷¹⁾.

Se ha demostrado el papel modulador del aceite de oliva virgen extra en la aparición y progresión de cáncer de mama experimental, mostrando un mayor tiempo de latencia, menor incidencia y menor

1^{er} premio

multiplicidad tumoral en modelos animales, sin embargo, sólo se produce una progresión más lenta, no una regresión tumoral ⁽⁷²⁾.

Menéndez y colaboradores., describieron el efecto promotor de la apoptosis del ácido oleico en líneas celulares de cáncer de mama humanas, como consecuencia de la inhibición de la sobreexpresión del oncogén HER-2. Anteriormente ya habían observado la capacidad del ácido oleico de potenciar la citotoxicidad del paclitaxel en células cancerosas de mama MDA-MB-23156. Estos resultados sugirieron que las dietas con alto contenido en aceite de oliva no presentan por ellas mismas capacidad terapéutica ⁽⁷³⁾.

Investigaciones realizadas han demostrado que el ácido oleico es capaz de inhibir la sobreexpresión del oncogén HER-2/neu, actuando de forma sinérgica con la inmunoterapia utilizada para activar la apoptosis de las células cancerosas, aportando un mecanismo molecular por el cual los ácidos grasos pueden controlar el comportamiento maligno del cáncer de mama y contribuir a su tratamiento ⁽⁷⁴⁾.

La evidencia epidemiológica, junto con los datos de estudios en animales e in vitro muestran que los compuestos fenólicos del aceite de oliva tienen propiedades anticancerígenas ^(75,39). Es generalmente aceptado que pueden ejercer su acción actuando en los tres estadios del cáncer, ejerciendo una acción tanto quimiopreventiva como quimioterapéutica ⁽⁷⁶⁾. Por ello, los compuestos fenólicos, junto con el estudio de su biodisponibilidad y la determinación de las dosis a las que actuarían como protectores en el organismo sin llegar a ser prooxidantes ⁽⁷⁷⁾ son de enorme importancia para la investigación de los efectos beneficiosos del consumo de aceite de oliva.

OBJETIVOS

El trabajo consistirá en la realización de una revisión bibliográfica de los estudios publicados por diferentes autores en relación a las propiedades anticancerígenas del hidroxitirosol contra el cáncer de mama.

Objetivo general

· Conocer el efecto que puede tener el hidroxitirosol como factor protector frente al desarrollo de cáncer de mama.

Objetivos específicos

· Evaluar el posible efecto protector del hidroxitirosol sobre la salud de la glándula mamaria.
· Evaluación de los posibles mecanismos de acción implicados sobre los que el hidroxitirosol ejerce efectos beneficiosos sobre el cáncer de mama.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Mediante el buscador EUR-lex se ha accedido para consultar la normativa europea consolidada: Reglamento (UE) No 432/2012. Se han utilizado el buscador académico Google Scholar y la base de datos Pubmed para la búsqueda de los estudios científicos.

- Se han consultado las páginas web de la OMS, EFSA, UNESCO y Fundación Internacional de Investigación contra el cáncer.

1^{er} premio**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El cáncer de mama es una enfermedad heterogénea multifactorial con diferente comportamiento clínico y propiedades moleculares. En la patología del cáncer parecen estar implicados fenómenos de estrés oxidativo y la producción de radicales libres ⁽⁷⁸⁾. La mayoría de los quimioterápicos antineoplásicos no son selectivos contra las células tumorales y afectan también a las células normales, conduciendo a una amplia variedad de efectos adversos en diferentes órganos y tejidos del organismo. Los efectos adversos se deben al mecanismo de acción de estas drogas, como es la producción de radicales libres, que alteran el potencial redox en el organismo ⁽⁷⁹⁾.

La región mediterránea se caracteriza por una baja incidencia de algunos tipos de cáncer ⁽⁶⁹⁾. Es generalmente aceptado que los compuestos fenólicos y, entre ellos los del aceite de oliva pueden ejercer acción anticancerígena, tanto en la fase de iniciación como en la de promoción y progresión del cáncer ⁽⁶⁸⁾. Los compuestos fenólicos del aceite de oliva, entre ellos el HT, poseen un elevado poder antioxidante. HT ha demostrado en estudios in vitro su capacidad para disminuir la producción de EROs y proteger contra el daño oxidativo a las biomoléculas como el ADN, previniendo la mutagénesis y la carcinogénesis ^(55,59). Esta capacidad antioxidante puede ser beneficiosa en patologías relacionadas con el estrés oxidativo en las que el HT juega un papel en la prevención y modulación de estas enfermedades, además del cáncer ⁽⁸⁰⁾. A parte de la acción quimiopreventiva, los efectos antitumorales de HT se encuentran actualmente en investigación como resultado de su capacidad quimioterapéutica de inhibir la proliferación celular y promover la apoptosis en diferentes líneas celulares tumorales, pudiendo desempeñar un papel en el desarrollo y la progresión del cáncer ⁽⁵⁹⁾.

Estudios previos realizados han revelado que los polifenoles del aceite de oliva virgen extra inhiben la proliferación de las células promielocíticas de leucemia HL60, con parada del ciclo celular en la fase G0/G1, induciendo la muerte celular por apoptosis y diferenciación celular ⁽⁸¹⁾. Se han obtenido datos según los cuales el HT inhibe el 100% de la proliferación de células HL60 a concentraciones de 100 µM e induce la apoptosis en más de un 65% de las células estudiadas en 24 h ⁽⁸²⁾.

ESTUDIOS IN VITRO

Los experimentos in vitro han mostrado que HT posee capacidad de inhibir la proliferación celular como agente quimioterapéutico y promotor de la apoptosis en diferentes líneas celulares tumorales humanas por diferentes mecanismos y de distintos orígenes, como la mama, colon, próstata y líneas celulares de leucemia ^(82,83,84).

Pese a que en un elevado porcentaje de los estudios las dosis de hidroxitirosol empleadas son muy superiores a las dosis fisiológicas ⁽⁸⁵⁾ los resultados obtenidos revelan un posible efecto beneficioso como agente farmacológico.

Los resultados pueden variar según las condiciones experimentales que se han utilizado:

- La acción antioxidante de HT es más efectiva en condiciones de hipoxia que en normoxia.
- Los mayores efectos antitumorales se obtienen a dosis crecientes de la concentración fenólica, el tiempo de exposición y la menor concentración de células tumorales utilizada.

1^{er} premio

- La eficacia del HT puede influenciarse por su interacción con componentes del medio de cultivo, potenciándose o inhibiéndose su actividad.
- Algunas líneas celulares tumorales de mama como MCF-7 (positivas a receptores del estradiol) son mayormente afectadas que otras como SKRB3 (negativas a receptores del estradiol) y MDA-MB-231 (triple negativa).
- Las células tumorales de mama y colon son más sensibles a la acción del HT respecto a las células tumorales de próstata.

Efecto antioxidante

Se han realizado estudios por diferentes autores para analizar en qué medida el efecto antioxidante de HT puede ejercer una acción anticarcinogénica.

HT actúa como inhibidor de radicales libres más potente que TYR, aunque ninguno de ellos afectó a la tasa de proliferación celular, no inhibieron el ciclo celular ni provocaron apoptosis en células epiteliales mamarias MCF10A y células cancerosas de mama MDA-MB-231 y MCF-7. HT descendió el nivel intracelular de EROs en células epiteliales mamarias MCF10A pero no en células cancerosas MCF-7 o MDA-MB-231 y se necesitan elevadas cantidades de TYR para disminuir el nivel de EROs en las células MCF10A. Sin embargo, HT previno el daño oxidativo en el ADN en las tres líneas celulares y demostraron que HT es capaz de disminuir el nivel intracelular de EROs y prevenir el daño oxidativo en células epiteliales normales mamarias MCF10A. Estos datos sugieren que HT puede contribuir a disminuir la incidencia de cáncer de mama en poblaciones que consumen aceite de oliva virgen debido a su poder antioxidante y a su acción protectora contra el daño oxidativo en el ADN ⁽⁸⁶⁾.

HT disminuyó el daño oxidativo en el ADN de las células humanas normales PMBC provocado por el tratamiento con H₂O₂. El efecto antioxidante se mantuvo incluso después de eliminar el HT del medio de cultivo previo al tratamiento con H₂O₂. También estudiaron los efectos antiproliferativos en líneas celulares humanas de cáncer de mama, próstata y colon. HT causó una evidente inhibición de la proliferación en todas las líneas celulares tumorales. Las células de cáncer de próstata fueron menos sensibles a la acción antiproliferativa del HT respecto a las de mama y colon. HT indujo un acúmulo de gran cantidad de H₂O₂ en el medio de cultivo en todas las líneas celulares cancerosas. La concentración de H₂O₂ fue menor en el cultivo con células tumorales de próstata. Los resultados demuestran que HT puede actuar en las fases de iniciación, promoción y progresión del tumor ⁽⁸⁷⁾.

Los trabajos realizados en células cancerosas de pulmón A549 y fibroblastos de pulmón MRC5, para evaluar la actividad citotóxica del HT y sus derivados alquilantes ésteres muestran que hidroxitirosol dodecil éster, con naturaleza lipofílica, posee la mayor actividad citotóxica selectiva en las células tumorales pulmonares A549. Los resultados sugieren que es debido a que HT puede inhibir la glucólisis, inducir estrés oxidativo y causar daño en el ADN de estas células cancerosas. La combinación de HT con la droga anticancerígena 5-fluorouracilo indujo una sinergia citotóxica en las células cancerosas A549, pero no en las células normales MRC5. También, la combinación de HTDE con 5-fluorouracilo indujo una acción sinérgica y mostró mayor citotoxicidad contra las células cancerosas de mama MCF-7 que contra las células epiteliales MCF10 en el rango 1–30 μM. Estos resultados sugieren que HTDE es más potente y selectivo que el HT ⁽⁸⁸⁾. Dada la naturaleza lipofílica de HTDE, in vivo puede difundir mejor e incluso permanecer en el tejido graso que rodea a la glándula mamaria, ejercien-

1^{er} premio

do una acción citotóxica selectiva sobre las células cancerosas, a diferencia del HT cuya naturaleza es hidrofílica. No obstante, se requiere realizar estudios in vivo al respecto.

Efecto antiproliferativo

El efecto antiproliferativo puede inhibir o retrasar la multiplicación celular en las fases de promoción y progresión del cáncer, por lo que es de gran interés conocer en qué medida contribuye el hidroxitirosol.

Fabiani et al. estudiaron las propiedades antiproliferativas y proapoptóticas de hidroxitirosol en células humanas normales HL60 y en diferentes líneas celulares tumorales de mama, próstata y colon y su papel en la producción extracelular de H₂O₂. HT incrementó la concentración de H₂O₂ en el medio de cultivo, responsable de la marcada apoptosis celular debida a su acción citotóxica. La capacidad del HT para inducir acúmulo de H₂O₂ fué completamente inhibida por la acción del piruvato y la exposición de las células a condiciones que no permiten el acúmulo de H₂O₂ (adición de catalasa o piruvato al medio de cultivo) e inhibió el efecto antiproliferativo de HT. La sensibilidad de las diferentes líneas celulares al efecto antiproliferativo de HT fué inversamente correlacionada con su habilidad para eliminar el H₂O₂ del medio de cultivo. El mecanismo por el cuál HT origina el acúmulo de H₂O₂ se debió a la autooxidación de HT, la enzima superóxido dismutasa del medio de cultivo incrementó la producción de H₂O₂, mientras que tirosinasa a pH ligeramente ácido ^(6,8) catalizó la oxidación del HT y en ausencia de O₂ inhibió completamente la actividad productora de H₂O₂. Al no encontrarse presente el H₂O₂ no ejerce su acción citotóxica y se inhibe la acción antiproliferativa y proapoptótica del HT ⁽⁸⁴⁾.

OL e HT de inhibieron la viabilidad, la proliferación celular e indujeron la muerte por apoptosis en células de adenocarcinoma mamario MCF-7, de un modo dependiente de la dosis. Ambos fenoles causaron un bloqueo significativo del ciclo celular en la fase G1 a S. Estos efectos se observaron tanto en un ensayo MIT como mediante análisis por citometría de flujo, que demostró que OL e HT tienen un papel efectivo en las líneas celulares de cáncer de mama MCF-7. La efectividad fué mayor cuanto menor era la concentración de células tumorales en el medio de cultivo, que permitió una mayor superficie de contacto de los fenoles con las células para ejercer su acción citotóxica ⁽⁸⁹⁾.

Los extractos de hojas del olivo en células de adenocarcinoma mamario MCF-7 inhibieron la proliferación celular, con parada significativa del ciclo celular en la fase G0/G1 en ensayos: MIT y rojo neutral. Los efectos citotóxicos se produjeron a menor concentración en el ensayo rojo neutral y a mayor concentración en el ensayo MIT. La proteína ciclina D1 interviene en el ciclo celular y se encuentra sobreexpresada en un 50% de pacientes con cáncer de mama, dando lugar a la proliferación de las células cancerosas. Los extractos de las hojas del olivo disminuyeron la expresión de la proteína ciclina D1 con un claro efecto inhibitorio tras 48 h de tratamiento, como consecuencia de la disminución de la expresión la enzima Pin1, que controla la expresión de ciclina D1 a través del factor de transcripción c-jun ⁽⁹⁰⁾. Sin embargo, tras el tratamiento con extractos de hojas del olivo el factor de transcripción aumentó su concentración, por lo que se requieren más estudios a la hora de utilizar estos extractos en la prevención contra el cáncer. Los resultados obtenidos en el estudio son extrapolables al fenol HT dado que se obtiene por hidrólisis de la OL, que es el compuesto fenólico más abundante en las hojas del olivo ⁽⁸³⁾.

Efecto sobre receptores tumorales

La sobreexpresión del oncogén HER2 conduce a un incremento en la síntesis y actividad de la oncoproteína receptora HER2, que promueve el 15% al 30% de carcinomas mamaros humanos y tiene un papel importante en la iniciación del tumor, malignización celular y metástasis. Se sobreexpresa

1^{er} premio

en células tumorales positivas al oncogén HER-2 (91,46). La proteína receptora HER-2 es capaz de activar la enzima lipogénica FASN, que participa en la conversión de los carbohidratos de la dieta en grasa en los mamíferos. La sobreexpresión y el incremento de la actividad de la FASN son frecuentes alteraciones en determinados subtipos de células cancerosas y se relaciona con un pronóstico desfavorable de la enfermedad ⁽⁹²⁾.

Los estudios en líneas celulares de cáncer de mama SKBR3 y MCF-7 que sobreexpresan el oncogén HER-2, revelaron que los fenoles simples hidroxitirosol y tirosol y el ácido elenólico fueron citotóxicos y desencadenaron selectivamente la muerte de las células tumorales por apoptosis. Estos efectos antiproliferativos y proapoptóticos fueron significativamente más bajos que los obtenidos con los polifenoles complejos lignanos y secoiridoides. Los efectos antitumorales en células de cáncer de mama HER-2 negativas fueron marginales en el caso de los polifenoles y prácticamente inexistentes en el caso de los fenoles simples HT, TYR y ácido elenólico. Estos hechos sugieren que los compuestos fenólicos inhiben preferentemente el crecimiento de las células tumorales de mama HER-2 positivas respecto a las HER-2 negativas. Los fenoles simples como HT disminuyeron la expresión de la oncoproteína HER-2 y los polifenoles complejos lo hicieron de un modo significativo. Los fenoles que fueron activos (lignanos y secoiridoides), tuvieron efectos antitumorales a concentraciones (> 50 µM), que son improbables de ser alcanzadas in vivo y es necesario conocer si estas sustancias están accesibles en el tejido del tumor in vivo. Se abre la posibilidad de diseñar nuevos agentes anticancerígenos basados en inhibir la expresión de la oncoproteína HER-2.

Los fenoles simples (HT, TYR y vanillina) y los ácidos fenólicos (ácido ferúlico, ácido elenólico, etc.) no inhibieron significativamente la expresión de la enzima lipogénica FASN en líneas celulares tumorales de mama SKBR3 y MCF-7 que sobreexpresan HER2. En cambio, los polifenoles complejos como los lignanos, flavonoides y los secoiridoides como oleuropeína inhibieron drásticamente su expresión. No se conoce si el bloqueo de la actividad HER2 es suficiente para explicar su capacidad para suprimir la expresión de FASN. Los hallazgos obtenidos en este estudio abren una vía para el diseño de drogas anticancerígenas inhibidoras de la FASN en carcinomas de mama HER-2 positivos (93). García-Villalba et al. estudiaron el consumo y metabolismo de los compuestos fenólicos del AOVE en células humanas cancerosas JIMPT-1. La mayoría de los fenoles simples como HT, sus derivados secoiridoides y el flavonoide luteolina, desaparecieron del medio de cultivo por diferentes vías y en diferentes tiempos de incubación y aparecieron varios metabolitos en el medio, predominando los conjugados metilados. Los hallazgos sugieren que estos compuestos fueron absorbidos y metabolizados por las células cancerosas y devueltos al medio extracelular en forma de metabolitos. La acción catabólica de determinados enzimas causó la aparición de los metabolitos conjugados metilados en el medio de cultivo ⁽⁹⁴⁾.

El estradiol estimula el crecimiento de los tumores de mama estrógeno dependientes y regula rutas de transducción de señales y de expresión génica induciendo la proliferación celular. La ERK1/2 es una proteína receptora activadora de mitosis que participa en el crecimiento descontrolado de los tumores de mama y es inducida por el estradiol mediante una ruta alternativa no regulada por expresión génica ⁽⁹⁵⁾. Los polifenoles del aceite de oliva presentan una estructura química similar al estradiol y el tamoxifeno, debido a que todos ellos poseen un anillo aromático unido a un grupo hidroxilo. Siriani et al. estudiaron si los efectos antiproliferativos de los compuestos fenólicos del aceite de oliva podían ser debidos a su capacidad de interferir con mecanismos moleculares inducidos por estrógenos en células de cáncer de mama MCF-7, que poseen receptores del estradiol. OL e HT inhi-

1^{er} premio

bieron la proliferación de las células tumorales inducida por el estradiol bloqueando la activación de la ERK1/2 en todas las dosis testadas. Además, OL fué mucho más efectiva que el HT, cuya inhibición fue parcial ⁽⁹⁶⁾.

La proliferación de las células de cáncer de mama negativas a receptores del estradiol puede ser inducida por los estrógenos uniéndose a una proteína-G estrógeno receptora denominada GPR30 (97), que activa la proteína receptora ERK1/2 y conduce a un incremento de la proliferación celular (98). Los experimentos realizados en líneas celulares de cáncer de mama SKBR3 negativas a receptores del estradiol y positivas a GPR30 revelaron que tanto OL como HT fueron capaces de unirse y activar las proteínas receptoras GPR30. En dosis crecientes inhibieron significativamente la proliferación de estas células cancerosas. OL e HT fueron capaces de afectar la expresión de proteínas relacionadas con la regulación del ciclo celular, mostrando una disminución de la expresión de la proteína ciclina D1 y un incremento de la proteína p21 y la proteína supresora de tumores p53, sugiriendo que es la responsable del efecto antiproliferativo de ambos fenoles. También, OL e HT activaron la fosforilación de ERK1/2 e indujeron la muerte celular principalmente por apoptosis ⁽⁹⁹⁾.

Las causas del incremento del cáncer con la edad no son bien conocidas. Se han realizado estudios utilizando NHFs y envejecidos inactivos. Éstos se encuentran en el microambiente del tumor y a los NHFs quiescentes se les han atribuido diversos efectos como el incremento del estrés oxidativo (100). Los NHFs envejecidos inactivos incrementaron su secreción de la proteína CCL5, que activó la vía proliferativa ERK1/2-ciclina D1, promoviendo la proliferación de las células epiteliales cancerosas de mama MB-231. La adición de HT al medio de cultivo inhibió la expresión de la proteína CCL5 en los NHFs inactivos, inhibió su capacidad de activar la vía proliferativa ERK1/2-ciclina D1 y previno la proliferación de las células cancerosas MB-231. En el estudio comparativo con células cancerosas MCF-7, los HNFs inactivos incrementaron el número de células cancerosas MCF-7 en el medio de cultivo y la adición de HT inhibió significativamente la proliferación celular. La obtención de los mismos resultados en ambas líneas celulares demostró que los NHFs envejecidos promueven la proliferación de las células de cáncer de mama y el tratamiento con HT inhibe estos efectos ⁽¹⁰¹⁾.

La ruta de señalización Wnt/ β -catenina juega un papel importante en la regulación de la autorrenovación y diferenciación de las células primarias de cáncer de mama ⁽¹⁰²⁾. La ruta de señalización TGF β es inductora de la transición epitelial a mesenquimatoso de BCSC y las propiedades metastáticas de las células tumorales ⁽¹⁰³⁾. La adición de HT al medio de cultivo redujo la población y la capacidad de autorrenovación de BCSC bloqueando la ruta de señalización Wnt/ β -catenina y factores relacionados con la transición epitelial a mesenquimatoso en líneas celulares cancerosas de mama TNBC, además, HT inhibió el potencial metastático de las líneas celulares TNBC y bloqueó la actividad señalizadora de TGF β inhibiendo los niveles de proteínas SMAD2/3. Estos hallazgos señalan la importancia de HT no sólo como un potente agente quimiopreventivo, sino también como potencial agente quimioterapéutico en tratamientos combinados para eliminar la quimiorresistencia, metástasis y agresividad que caracteriza a los tumores TNBC ⁽¹⁰⁴⁾.

Efecto en hipoxia

La hipoxia incrementa el estrés oxidativo y promueve el desarrollo y la malignidad tumoral. El ambiente de hipoxia es inherente en los tumores sólidos como es el cáncer de mama. El cultivo de células tumorales MCF-7 con HT a dosis altas de 600 μ M disminuyó la proliferación celular. En situación de hipoxia HT, a menor dosis que la necesaria en normoxia, disminuyó significativamente el nivel de

1^{er} premio

estrés oxidativo y en dosis mayores HT fué citotóxico. Estos resultados demostraron que el efecto antioxidante del HT es mayor en un ambiente de hipoxia que en normoxia.

Mientras que los efectos del HT sobre la transcripción son similares en situación de hipoxia y normoxia, sus efectos sobre la translación son menores y están parcialmente inhibidos por la hipoxia, por tanto, no puede explicar completamente el efecto antioxidante de HT en situación de hipoxia. El microambiente del tumor debe ser tenido en cuenta a la hora de diseñar estudios para evaluar la respuesta de las células tumorales a la acción antioxidante del HT ⁽¹⁰⁵⁾.

Efecto de los metabolitos de hidroxitirosol sobre el desarrollo de cáncer de mama

Los fenoles de las plantas son actualmente uno de los objetivos para crear nuevas moléculas con propiedades mejoradas mediante transglicosilación.

Tanto el HT como su glucósido redujeron marcadamente la viabilidad de las células de cáncer de mama MCF-7 dependiente de la concentración. Las células epiteliales normales MCF-10A, fueron menos sensibles a HT y su glucósido que las células tumorales. Además, el glucósido de HT tiene un efecto insignificante sobre las células normales respecto a HT. Estos resultados sugieren que el glucósido tiene similar eficacia antitumoral que HT, pero menor toxicidad en células no tumorales. Esta capacidad de inhibir selectivamente a las células tumorales sin afectar a las células normales también se observó para el fenol vainillina y su glucósido y constituye el objetivo de los compuestos antitumorales ⁽¹⁰⁶⁾. Estudios previos realizados en células MCF-7 y T-47D de adenocarcinoma y carcinoma ductal respectivamente, ya habían demostrado que los derivados peracetilados de oleuropeina, oleuropeina aglicona e hidroxitirosol ejercieron mayores efectos antiproliferativos que oleuropeina, con parada del ciclo celular asociado a una fuerte actividad antioxidante ⁽¹⁰⁷⁾.

ESTUDIOS IN VIVO

A continuación se muestran los resultados obtenidos en experimentos realizados en ratas Sprague-Dawley con carcinoma mamario inducido experimentalmente con dimetilbenzoantraceno:

Los estudios realizados, por primera vez, en un modelo animal han revelado que HT tiene efecto antitumoral inhibiendo el crecimiento y la proliferación del tumor con resultados comparables al quimioterápico doxorrubicina. Estos efectos fueron debidos a su capacidad de alterar la expresión de diferentes genes relacionados con el ciclo celular, la proliferación celular, apoptosis, inflamación, diferenciación, vías de señalización Wnt y promocionar una elevada expresión del gen Sfrp4 con capacidad supresora tumoral en algunos tipos de cáncer ⁽¹⁰⁸⁾.

Posteriormente, Granados-Principal et al. hallaron que HT en combinación con doxorrubicina protege del daño en el miocardio provocado por el quimioterápico, disminuyendo el estrés oxidativo y las alteraciones mitocondriales cardiacas ⁽¹⁰⁹⁾.

La terapia combinada de HT y paclitaxel reduce significativamente la proliferación celular y el volumen del tumor en comparación con el grupo control tratado únicamente con paclitaxel. La combinación mejoró el estatus antioxidante sin comprometer la actividad antitumoral del fármaco y asegura un menor impacto oxidativo del quimioterápico. Los resultados se encuentran en consonancia con el experimento comparativo realizado in vitro por estos autores, en el cuál HT per sé fue capaz de disminuir significativamente la proliferación de las células tumorales MCF-7 (50 μ M)

1^{er} premio

y en las células tumorales MDA-MB-231 (100 µM) la reducción significativa la indujo la combinación de HT y paclitaxel ⁽¹¹⁰⁾.

Los resultados de Granados-Principal et al. de 2014 y El-Azem et al. de 2018 muestran que la combinación de HT con la quimioterapia reduce el impacto oxidativo del quimioterápico, dada la capacidad antioxidante de HT de disminuir las EROs inducidas por el fármaco antitumoral.

ESTUDIOS EN HUMANOS

Dados los resultados positivos obtenidos in vivo en ratas sobre la proliferación y el volumen tumoral mediante el tratamiento combinado del HT con quimioterapia, recientemente se ha publicado el primer estudio realizado en humanos.

La Tabla 1 muestra los resultados del primer ensayo clínico aleatorizado publicado realizado en pacientes con cáncer de mama.

TIMP-1 pertenece al grupo de metaloproteinasas y se relaciona con el pronóstico del cáncer, participando en la proliferación celular, apoptosis, angiogénesis, invasión y metástasis del tumor ⁽¹¹¹⁾.

Tabla 1. Efecto protector del hidroxitirosol en estudios en humanos.

Objetivo	Modelo experimental	Dosis	Resultados	Autor
Estudiar el efecto quimiomodulador del HT en combinación con epirubicina y ciclofosfamida seguida de taxanos. Analizar posibles cambios en los niveles plasmáticos de las enzimas MMP-9 y el inhibidor tisular de TIMP-1.	Mujeres con cáncer de mama tratadas con epirubicina y ciclofosfamida seguida de taxanos	n= 20 mujeres/ grupo homogéneo Grupo A: (HT 15mg/día) Grupo B: (placebo) Ambos grupos: Quimioterapia: (epirubicina-ciclofosfamida) 3 ciclos de 21 d + (taxanos) 3 ciclos de 21 d + AOVE 10–15 mL/día	La suplementación con HT no obtuvo diferencias significativas en los niveles plasmáticos de MMP-9 entre el Grupo A y Grupo B en (T1, T2 y T3). La suplementación con HT mostró un descenso significativo en los niveles plasmáticos de TIMP-1 en el Grupo A en comparación con el grupo placebo.	(Ramírez-Tortosa et al., 2019)

<T1 (inicio de la quimioterapia con epirubicina y ciclofosfamida), T2 (fin de la terapia anterior e inicio de la terapia con taxanos) y T3 (fin de la quimioterapia). Fuente: elaboración propia.

1^{er} premio

El estudio consistió en la suplementación con 15 mg/d de HT en combinación con quimioterapia basada en epirrubicina y ciclofosfamida seguida de taxanos en mujeres con cáncer de mama (subtipo luminal) y un grupo placebo, que recibían quimioterapia, pero sin suplementación. Los resultados muestran que los niveles en plasma de TIMP-1 en el grupo de pacientes que recibieron HT fueron significativamente más bajos que los niveles encontrados en el grupo control. Estos resultados revelan que el HT en combinación con la quimioterapia ejerce un efecto quimiomodulador, pudiendo mejorar el pronóstico de las pacientes ⁽¹¹²⁾.

El resultado de este estudio sugiere que puede ser una buena opción combinar el compuesto fenólico HT con determinados fármacos antitumorales en el tratamiento del cáncer de mama y se requieren estudios adicionales al respecto.

La suplementación con 15 mg diarios es muy inferior a los 500 mg/kg/d descritos como seguros por diferentes autores ^(113,64,114,86,67), por lo que podrían utilizarse dosis mayores para evaluar su efecto ya que estudios previos han demostrado que existe un efecto dosis-respuesta en la cinética de absorción del HT ⁽¹¹⁵⁾.

HT ejerce un efecto quimioterapéutico modulando la promoción y progresión del tumor debido al descenso significativo de TIMP-1 que induce cuando se combina con epirrubicina y ciclofosfamida. Esto da lugar a la inhibición de la proliferación celular, apoptosis, angiogénesis, invasión y metástasis del tumor. Se desconoce si este efecto podría producirse cuando se combina con otras drogas antineoplásicas o si se produciría la misma acción en diferentes tipos de cáncer de mama, además del subtipo luminal. Los autores han postulado que HT pudo inhibir el factor de transcripción NFκB, que pudo disminuir los niveles de TNF- alfa y TGF-beta descrito en otros antioxidantes, causando un descenso en los niveles plasmáticos de TIMP-1. No obstante, no se conoce el mecanismo exacto que conduce a esta disminución, para lo que se requiere la realización de futuros ensayos clínicos ⁽¹¹²⁾.

POSIBLES MECANISMOS DE ACCIÓN

La mayor parte de los estudios se han realizado en modelos celulares y animales.

Estudios in vitro

- Prevención del daño oxidativo en el ADN y la carcinogénesis en células cancerosas MDA-MB-231 y MCF-7.
- Capacidad para inducir acúmulo de H₂O₂ en el medio de cultivo por interacción de HT con componentes del medio en células cancerosas de mama (MDA, MCF-7), próstata (LNCap y PC3) y colon (SW480 y HCT116), produciéndose la autooxidación del HT.
- HTDE puede inhibir la glucólisis, inducir estrés oxidativo y causar daño en el ADN de células tumorales pulmonares A549 y mama MCF-7.
- Disminución / inhibición de la expresión de la proteína ciclina D1 con parada del ciclo celular en la fase G₀/G₁ en células MCF-7.
- Bloqueo del ciclo celular en la fase G₁ a S en MCF-7.

1^{er} premio

- Disminución / inhibición de la expresión de la oncoproteína receptora HER-2 en células SKBR3 y MCF-7.
- Capacidad de unirse y activar proteínas receptoras de estrógenos GPER en células SKBR3, disminuyendo la expresión de la proteína ciclina D1 e incremento de la proteína p53.
- Absorción y metabolismo de HT por las células cancerosas JIMPT-1.
- Inhibición de la proteína receptora ERK1/2 (no regulación génica) en células SKBR3.
- Inhibición de la expresión de la proteína CCL5 en los NHFs inactivos e inhibición de su capacidad de activar la vía proliferativa ERK1/2-ciclina D1 en células MB-231 Y MCF-7.
- Bloqueo de vías de señalización Wnt/ $\beta\beta\beta\beta$ -catenina y TGF β en células TNBC.
- Disminución del estrés oxidativo con mayor efecto en hipoxia en células MCF-7.
- Inhibición selectiva de las células tumorales MCF-7 sin afectar a las células normales.

Estudios in vivo en ratas

- Capacidad de regular la expresión de diferentes genes relacionados con el ciclo celular, la proliferación celular, apoptosis, diferenciación, vías de señalización Wnt y el gen Sfrp4.
- Disminución del nivel de EROs y estrés oxidativo provocado por el quimioterápico.

Estudios en humanos

- Descenso en los niveles plasmáticos de TIMP-1.

POSIBLE INCIDENCIA EN HUMANOS

HT es un prometedor agente contra el cáncer de mama debido a la actividad antitumoral que ha demostrado tanto en estudios in vitro como in vivo. Su interés en humanos se centra en la posibilidad de utilizarse en combinación con determinados fármacos antitumorales con los cuáles pueda ejercer un efecto sinérgico potenciando su acción y reducir los efectos negativos derivados del quimioterápico sobre los tejidos sanos o la posibilidad reducir la dosis del fármaco antitumoral gracias a los efectos antiproliferativos de HT.

Las aceitunas de mesa son una fuente sustancial de HT en la dieta. Se han encontrado concentraciones de 250-760 mg/kg en algunas variedades (116). La concentración en los aceites de oliva vírgenes españoles oscila entre 113,7 y 381,2 mg/kg (117). Teniendo en cuenta estas concentraciones, es posible obtener 15 mg diarios de aporte extra de HT mediante la dieta, consumiendo entre 20-60 g de aceitunas o bien combinando el consumo de aceitunas y aceite de oliva virgen extra. Las personas que siguen el patrón dietético mediterráneo que incluya el consumo diario de aceitunas y aceite de oliva virgen podrían estar obteniendo los efectos positivos del HT. Otra alternativa puede ser la suplementación con HT obtenido de su extracción a partir de las hojas del olivo o bien en forma de nutracéutico.

1^{er} premio**CONCLUSIONES**

1. Los estudios in vitro e in vivo muestran que hidroxitirosol es un compuesto bioactivo con propiedades anticancerígenas, que puede contribuir a reducir la incidencia y/o prevalencia del cáncer de mama.
2. Se requieren más estudios en humanos mediante ensayos clínicos para corroborar los resultados obtenidos in vitro e in vivo y conocer mejor sus mecanismos de acción.
3. Para la obtención de los efectos beneficiosos del HT se requiere el consumo continuado.
4. Además del HT existen otros fenoles y compuestos bioactivos presentes en el aceite de oliva virgen y en otros alimentos formando parte de la dieta Mediterránea, que pueden estar ejerciendo efectos sinérgicos y efectos aditivos, pudiendo conducir a que se consigan alcanzar las concentraciones requeridas para obtener efectos beneficiosos en la prevención y tratamiento del cáncer de mama.

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

AOV = aceite de oliva virgen

AOVE = aceite de oliva virgen extra

BCSC= células originarias cancerosas de mama = proteína quimiocina ligando 5

CCL5 = proteína quimiocina ligando 5

DM2 = diabetes mellitus tipo 2

DMed = dieta mediterránea

DOX = doxorubicina

ECV= enfermedades cardiovasculares

EFSA = Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

ERK1/2 = proteínas kinasas de regulación de señales extracelulares 1 y 2

EROs = especies reactivas de oxígeno

FASN = enzima ácido graso sintetasa

GEPR = proteína-G estrógeno receptora

H₂O₂ = agua oxigenada

HL60 = células promielocíticas de leucemia

HT = hidroxitirosol

HER2 = receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano

HNFs = fibroblastos humanos normales

HTDE = hidroxitirosol dodecil éster

LDL = lipoproteínas de baja densidad

MCF-7 = línea celular de cáncer de mama Michigan Cancer Foundation

MDA-MB-23156 = línea celular cancerosa de mama triple negativo

MMP-9 = metaloproteínasa 9

MIT = ensayo Instituto Tecnológico de Massachussets

NFκB = factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de los linfocitos B

OMS = Organización Mundial de la Salud

Pin 1 = enzima peptidil-prolil isomerasa

1^{er} premio

PMBC = células sanguíneas mononucleares humanas periféricas paclitaxel

PTX = paclitaxel

TGF-beta = factor de crecimiento transformante beta

TNF-alfa = factor de necrosis tumoral alfa

TIMP-1 = inhibidor tisular de metalopeptidasa 1

TNBC = células de cáncer de mama triple negativo

TYR = tirosol

UNESCO = Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura

BIBLIOGRAFÍA

1. OMS (2017). Enfermedades no transmisibles y sus factores de riesgo. Oct 17; Disponible en: <https://www.who.int/ncds/es/>
2. Krauss, R.M., Eckel, R.H. & Howard, B. et al. (2000). AHA Dietary Guidelines: revision 2000: A statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. *Circulation*, 102(18), 2284- 2299.
3. Sofi, F, Macchi, C. & Abbate, R., (2013). Mediterranean diet and health. *Biofactors*: 39 (4): 335-42.
4. Keys, A., Menotti A. & Karoven, M.I.(1986). The diet and the 15-year death Rate in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol* 124: 903–915.
5. Trichopoulou, A., Orfanos, P. & Norat T. et al.,(2005). Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ* 330: 991-995.
6. Schieber, A., Stintzing, F.C. & Carle, R. (2001). By-products of plant food processing as a source of functional compounds—recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11), 401-413.
7. Giugliano, D. (2000). Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. Feb; 10(1): 38-44.
8. Bazzano, L.A., Serdula, M.K. & Liu, S. (2003). Dietary intake of fruits and vegetables and risk of cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*. Nov; 5(6): 492-9.
9. Samra, R.A. & Anderson, G.H, (2007). Insoluble cereal fiber reduces appetite And short- term food intake and glycemic response to food consumed 75 min later by healthy men. *Am J Clin Nutr*; 86(4):972-9.
10. Forman, M.R, Hursting, S.D., Umar, A. & Barret, J.C. (2004). *Nutrition and cancer prevention*. *Annu Rev Nutr*; 24: 223-54.
11. Melanson, K.J., Angelopoulos, T.J. & Nguyen, V.T. et al. (2006). Consumption of whole-grain cereals during weight loss: effects on dietary quality, dietary fiber, magnesium, vitamin B-6 and obesity. *Journal of the American Dietetic Association*, 106(9), 1380-1388.
12. Seifert, S & Watzl, B. (2007). Inulin and oligofructose: review of experimental data on immune

1^{er} premio

modulation. *J. Nutr*;137(11 Suppl):2563S-7S.

13. Ajani, U.A, Ford, E.S & Mokdad, A.H. (2004). Fibra dietética y proteína C reactiva: hallazgos de los datos de la Encuesta nacional de examen de salud y nutrición. *J Nutr*; 134 (5): 1181-5.

14. Keys, A. (1980). Seven countries. A multivariate analysis of death and coronary heart disease. *Harvard University Press*.

15. Salas, J. & Mena, G. (2017). El gran ensayo de campo nutricional PREDIMED. *Nutrición Clínica*, 11(1): 1-8.

16. Fitó, M., Guxens, M. & Corella, D. et al. (2007). Effect of a Traditional Mediterranean Diet on lipoprotein oxidation. *Arch Int Med*.167, 1195-1203.

17. Escrich, E, Solanas, M & Moral, R (2006): Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. En: Olive oil and Health (JL Quiles, MC Ramírez-Tortosa & P Yaqoob) CABI Publishing. pp. 317-374, Oxford, UK.

18. Eyre, H., Kahn, R. & Robertson, R.M. et al. ACS/ADA/AHA Collaborative Writing Committee, ACS/ADA/AHA Collaborative Writing Committee Members, Clark, (2004). Preventing cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a common agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *Circulation*, 109(25), 3244-3255.

19. OMS (2018). Cáncer. Sep 18; Disponible en <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>

20. Kumar, V., Abbas, A.K., Fausto, N., & Aster, J.C. (2014). Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book. *Elsevier health sciences*.

21. Violi, F., Micheletta F. & Lulliano, L. et al. (2002). Antioxidants and Atherosclerosis. *Eur. Heart J. Suppl*; 4B, 17-21.

22. Miwa, S., Muller, F.L. & Beckman, K.B. et al. (2008). The basics of oxidative biochemistry. In Oxidative Stress in Aging (pp. 11-35). *Humana Press*.

23. Jezierska-Drutel, A, Rosenzweig, S.A. & Neumann C.A. (2013). Role of oxidative Stress and the microenvironment in breast cancer development and progression. *Adv Cancer Res* 119:107–125.

24. Coussens, L.M & Werb, Z.(2002) Inflammation and cancer. *Nature*, 420, 860– 867.

25. Grivennikov, S.I., Greten, F.R. & Karin, M. (2010). *Immunity, inflammation, and cancer Cell*, 140, 883–899.

26. World Cancer Research Fund International: Breast cancer statistics (2018). Available from: <https://www.wcrf.org/dietandcancer/cancer-trends/breast-cancer-statistics>

27. Gómez, S.L., Von Behren, J. & McKinley, M. et al., (2017). Breast cancer in Asian Americans in California,1988–2013: increasing incidence trends and recent data on breast cancer subtypes. *Breast cancer research and treatment*, 164(1), 139-147.

1^{er} premio

28. World Cancer Research Fund, American Institute for Cancer Research. Diet, nutrition, physical activity and breast cancer (2017). wcrf.org/breast-cancer. Accessed. December 17, 2019.
29. Bartsch, H., Nair, J. & Owen, RW. (2002). Exocyclic DNA adducts as oxidative stress markers in colon carcinogenesis: potential role of lipid peroxidation, dietary fat and antioxidants. *Biological chemistry*, 383(6), 915-921.
30. Zamora-Ros, R., Touillaud, M. & Rothwell, J.A., (2014). Measuring exposure to the polyphenol metabolome in observational Epidemiologic studies: current tools and applications and their limits. *The American journal of clinical nutrition*, 100(1), 11-26.
31. Quiles J.L, Ramirez-Tortosa M.C & Yaqoob P. Olive Oil and Health. Oxford: CABI Publishing; 2006.
32. La Vecchia, C. (2004). Mediterranean diet and cancer. *Public Health Nutr*; 7 (7): 965-8.
33. Kaizer, L, Boyd, N.F, Kriukov, V & Tritchler, D (1989): Fish consumption and Breast cancer risk: and ecological study. *Nutr Cancer*; 12:61-68.
34. Sofi, F., Cesari, F. & Abbate, R. (2008). Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *Bmj*, 337-1344.
35. Trichopoulou, A. Lagiou, P., Kuper, H. & Trichopoulos, D. (2000). Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*; 9 (9): 869-73.
36. Quiles, J.L., Huertas, J. & Wahle, K.W.J. et al. (2001). Aceite de oliva y cáncer. En: Aceite de oliva y salud (J. Mataix). Universidad de Granada y Puleva Food, 155-188.
37. Simopoulos A.P. (2001): The mediterranean diets: what is so special about the diet of Greece? scientific evidence. *J Nutr*; 131:3065-3073.
38. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A. & Spencer, J.P. et al. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures Bioavailability and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redoxsignaling*, 18(14), 1818 -1892.
39. Romanos-Nanclares, A., Sánchez-Quesada, C. & Gardezabal et al. (2020). Phenolic Acid Subclasses Individual Compounds and Breast Cancer Risk in A Mediterranean Cohort: The SUN Project. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*.
40. Gardezabal, I., Romanos-Nanclares, A. & Martínez-González, M. et al. (2019). Total polyphenol intake and breast cancer risk in the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) cohort. *British Journal of Nutrition*, 122(5), 542-551.
41. El Riachy, M., Priego-Capote, F. & León et al., (2011). Hydrophilic antioxidants of virgin olive oil. Part 2: Biosynthesis and biotransformation of phenolic compounds in virgin olive oil as affected by agronomic and processing factors. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113(6), 692-707.

1^{er} premio

42. Owen, R.W., Giacosa, A. & Hull, W.E. et al. (2000). The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *European Journal of Cancer*, 36(10), 1235-1247.a.
43. Sánchez-Rodríguez, E., Mesa, M.D. & Sanchez-Rodriguez et al. (2018). Compuestos bioactivos del aceite de oliva virgen. *Nutrición Clínica*, 12(2), 80-94.
44. Fitó, M. (2003). Efectos antioxidantes del aceite de oliva y de sus compuestos fenólicos. Tesis doctoral. *Universidad de Barcelona*.
45. OMS (2003). Serie de informes técnicos 916. Dieta, nutrición y prevención De enfermedades crónicas. Disponible en: https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_916_spa.pdf
46. García-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A. & Oliveras-Ferraros, C. et al. (2010). Characterization and quantification of phenolic compounds of extra- virgin olive oils with anticancer properties by a rapid and resolute LC-ESI-TOF MS method. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(2), 416-429.
47. Pinelli, P, Galardi, C. & Mulinacci, N. et al. (2003). Minor Polar compounds and fatty acid analyses in monocultivar virgin olive oils from Tuscany. *Food Chemistry*; 80, 3321-336.
48. Brenes, M., García, A. & García, P et al. (1999). Phenolic compounds in spanish olive oil. *J Agric Food Chem. Sep*, 47(9): 3535-40.
49. Beltrán, G., Aguilera, M.P & Del Rio, C. et al., (2005). Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chem*; 89(2): 207-15.
50. Del Rio, D., Rodriguez-Mateos, A. & Spencer, J. P. et al. (2013). Dietary (poly) phenolics in human health: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against chronic diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 18(14), 1818-1892.
51. Agati, G, Pinelli, P & Cortés, S. et al. (2005). Nondestructive evaluation of anthocyanins in olive (*Olea europaea*) fruits by in situ chlorophyll fluorescent spectroscopy. *J. Agric. Food Chem*; 53, 1354-1363.
52. Abaza, L., Taamalli, W. & Ben Temime, S. et al. (2005). Natural antioxidant composition as correlated to stability of some Tunisian virgin olive oils. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 82(1), 12-18.
53. Serra-Majem, L., De la Cruz, J. N. & Ribas, L. et al. (2003). Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(1), S2-S7.
54. Visioli, F., Galli, C. & Plasmati, E. et al. (2000). Olive phenol hydroxytyrosol prevents passive smoking-induced oxidative stress. *Circulation*, 102(18),2169-2171.
55. Visioli, F, Poli, A & Gall, C (2002). Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev*; 22(1): 65-75.
56. Briante R, Patumi M & Terenziani S et al. (2002) *Olea europea* leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *J Agric Food Chem*; 50(17): 4934- 49340.

1^{er} premio

57. De la Torre, R, Covas, M.I & Pujadas et al. (2006). Is Dopamine behind the health benefits of red wine? *Eur J Nutr*; 45(5): 307-10.
58. Rodríguez-Morató, J, Robledo, P & Tanner J.A. et al. (2017) CYP2D6 and CYP2A6 biotransform dietary tyrosol into hydroxytyrosol. *Food Chem*; 217: 716-25.
59. Granados-Principal, S., Quiles, J.L. & Ramirez-Tortosa (2010). Hydroxytyrosol: from laboratory investigations to future clinical trials. *Nutrition reviews*, 68(4): 191-206. a
60. Font, F. & Dolores, M. (2015). *Hidroxitirosol, el mejor antioxidante natural y 48 el más desconocido. Estudio comparativo con otros antioxidantes* (trabajo final de máster. Universitat Oberta de Catalunya, Cataluña).
61. EFSA (2011). Los fenoles del aceite de oliva. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/search/doc/2033.pdf>
62. Reglamento (UE) No 432/2012 de la Comisión de 16 de mayo de 2012, por el que se establece una lista de declaraciones autorizadas de propiedades saludables de los alimentos distintas de las relativas a la reducción del riesgo de enfermedad y al desarrollo y la salud de los niños. DOUE núm. 136, de 25 de mayo de 2012.
63. Arunsundar, M., Shanmugarajan, T.S. & Ravichandran, V. (2015). 3, 4- Dihydroxyphenylethanol attenuates spatio-cognitive deficits in an Alzheimer's disease mouse model: modulation of the molecular signals in neuronal survival-apoptotic programs. *Neurotoxicity research*, 27(2), 143-155.
64. Catalan, U, Rubio, L & Lopez de Las Hazas et al. (2016) Hydroxytyrosol and its complex Forms (secoiridoids) modulate aorta and heart proteome in healthy rats: Potential cardio-protective effects. *Mol Nutr Food Res* 60(10):2114– 2129.
65. Medina-Martinez, M.S, Truchado, P, Castro-Ibanez, I. & Allende, A (2016) Antimicrobial activity of hydroxytyrosol: a current controversy. *Biosci Biotechnol Biochem* 80(4):801–810.
66. Warleta, F., Quesada, C.S. & Campos, M. et al. (2011). Hydroxytyrosol Protects against oxidative DNA damage in human breast cells. *Nutrients*, 3(10), 839- 857.
67. Zheng, A, Li, H & Cao, K et al. (2015). Maternal hydroxytyrosol administration improves neurogenesis and cognitive function in prenatally stressed offspring. *J Nutr Biochem* 26(2):190–199.
68. Hashim, Y.Z., Eng, M. & Gill, C.I. et al. (2005). Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. *Nutrition reviews*, 63(11), 374-386.
69. Owen, R.W, Haubner, R & Wurtele, G (2004): Olives and olive oil in cancer prevention. *Eur J Cancer Prev*; 13:319-326.
70. Giacosa, A., Barale, R. & Bavaresco, L. et al. (2013). Cancer prevention in Europe: the Mediterranean diet as a protective choice. *European Journal of Cancer Prevention*, 22(1), 90-95.

1^{er} premio

71. Binukumar, B & Mathew, A (2005). Dietary fat and risk of breast cancer. *World J Surg Oncol*; 3:45.
72. Escrich E, Solanas, M & Moral, R (2006): Olive oil, and other dietary lipids, in cancer: experimental approaches. En: Olive oil and Health (JL Quiles, MC Ramírez-Tortosa & P Yaqoob) CABI Publishing. pp. 317-374, Oxford, UK.
73. Solanas, M, Hurtado, A & Costa, I et al. (2002): Effects of high olive oil diet.
74. Menéndez, J.A, Vellón, L & Colomer, et al. (2005): Oleic acid, the main monounsaturated fatty acid of olive oil, suppresses Her2/neu (erbB-2) expression and synergistically enhances the growth inhibitory effects of trastuzumab (Herceptin) in breast cancer cells with Her-2/neu oncogene amplification. *Ann Oncol*; 16:359-371.
75. Anna, C, Kira, S & Nazar et al. (2006). Resveratrol attenuates TNF- α - induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF- κ -B inhibition. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 291, H1694-H1699.
76. Hashim, Y.Z., Eng, M., Gill, C.I., McGlynn, H. & Rowland, I.R. (2005). Components of olive oil and chemoprevention of colorectal cancer. *Nutrition reviews*, 63(11), 374-386.
77. Quiles, J.L, Farquhanson, A..J & Simpson, D.K (2002). Olive oil Phenolics: Effects on DNA Oxidation and Redox Enzyme mRNA in Prostate Cells. *Br J. Nutr.*; 88, 223-234.
78. Halliwell, B, Gutteridge, J.M. & Cross, C.E. (1992). Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med.*; 119(6): 598-620.
79. Vera-Ramirez, L., Ramirez-Tortosa, M. & Perez-López, P. (2012). Long-term effects of systemic cancer treatment on DNA oxidative damage: The potential for targeted therapies. *Cancer letters*, 327(1-2), 134-141.
80. Echeverría, F., Ortiz, M., Valenzuela, R., & Videla, L.A. (2017). Hydroxytyrosol and cytoprotection: a projection for clinical interventions. *International journal of molecular sciences*, 18(5), 930.
81. Fabiani, R, De Bartolomeo & A, Rosignoli, P (2006). Virgin olive oil phenols inhibit proliferation of human promyelocytic leukemia cells (HL60) by inducing apoptosis and differentiation. *J. Nutr.* 136, 614-619.
82. Della Ragione, F, Cucciolla, V & Borriello, A et al. (2000). Hydroxytyrosol, a natural molecule occurring in olive oil, induces cytochrome c-dependent apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun*, 278, 733-739.
83. Bouallagui, Z., Han, J.; Isoda, H. & Sayadi, S (2011). Hydroxytyrosol rich extract from olive leaves modulates cell cycle progression in MCF-7 human breast cancer cells. *Food Chem. Toxicol*, 49, 179-184.
84. Fabiani, R., Sepporta, M. V. & Rosignoli, P. et al. (2012). Anti-proliferative and pro-apoptotic activities of hydroxytyrosol on different tumour cells: the role of extracellular production of hydrogen peroxide. *Eur. J. Nutr.*, 51, 455-464.

1^{er} premio

85. López de las Hazas, M.C.L, Motilva, M.J., Piñol, C., & Macià, A. (2016). Application of dried blood spot cards to determine olive oil phenols (hydroxytyrosol metabolite in human blood. *Talanta*, 159, 189-193.
86. Warleta, F., Quesada, C.S. & Campos et al. (2011). Hydroxytyrosol protects against oxidative DNA damage in human breast cells. *Nutrients*, 3(10), 839- 857.
87. Rosignoli, P., Fucelli, R., Sepporta, M.V., & Fabiani, R. (2016). In vitro chemo-preventive activities of hydroxytyrosol: The main phenolic compound present in extra-virgin olive oil. *Food & function*, 7(1), 301-307.
88. Calderón-Montaño, J.M., Madrona, A. & Burgos-Moron, E. et al. (2013). Selective cytotoxic activity of new lipophilic hydroxytyrosol alkyl ether derivatives. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(21), 5046-5053.
89. Han, J., Talorete, T.P., Yamada, P. & Isoda, H. (2009). Anti-proliferative and apoptotic effects of oleuropein and hydroxytyrosol on human breast cancer MCF-7 cells. *Cytotechnology*, 59(1), 45-53.
90. Dong, L., Marakovits, J. & Hou, X. et al. (2010). Tructure-based design of novel human Pin 1 inhibitors (II). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 20, 2210-2214.
91. Menendez, J.A., Vazquez-Martin, A. & Garcia-Villalba, R. et al. (2008). Anti-HER2 (erb B-2) oncogene effects of phenolic compounds directly isolated from commercial Extra-Virgin Olive Oil (EVOO). *Bmc Cancer*, 8(1), 377.a
92. Kuhajda, F.P (2000): Fatty-acid synthase and human cancer: new perspectives on its role in tumor biology. *Nutrition* 16: 202-208.
93. Menendez, J.A., Vazquez-Martin, A. & Oliveras-Ferraro, C. et al. (2008). Analyzing effects of extra-virgin olive oil polyphenols on breast cancer- associated fatty acid synthase protein expression using reverse-phase protein microarrays. *International journal of molecular medicine*, 22(4), 433-439.b
94. García-Villalba, R., Carrasco-Pancorbo, A. & Oliveras-Ferraro, C. et al. (2012). Uptake and metabolism of olive oil polyphenols in human breast cancer cells using nano-liquid chromatography coupled to electrospray ionization–time of flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 898, 69-77
95. López de las Hazas, M.C.L, Piñol, C., Macià, A., Romero, M. P., Pedret, A., Solà, R. & Motilva, M.J. (2016). Differential absorption and metabolism of hydroxytyrosol and its precursors oleuropein and secoiridoids. *Journal of Functional Foods*, 22, 52-63.
96. Sirianni R., Chimento, A. & De Luca, A. et al. (2010). Oleuropein and hydroxytyrosol inhibit MCF7 breast cancer cell proliferation interfering with ERK1/2 activation. *Molecular nutrition & food research*, 54(6), 833-840.
97. Ariazi, E.A., Brailoiu, E. & Yerrum, S. et al. (2010). The G protein–coupled receptor GPR30 inhibits proliferation of estrogen receptor–positive breast cancer cells. *Cancer research*, 70(3), 1184-1194.

1^{er} premio

98. Sirianni, R., Chimento, A. & Ruggiero, C. et al. (2008). The novel estrogen receptor, G protein-coupled receptor 30 mediates the proliferative effects induced by 17 β -estradiol on mouse spermatogonial GC-1 cellline. *Endocrinology*, 149(10), 5043-5051.
99. Chimento, A., Casaburi, I. & Rosano, C. et al. (2014). Oleuropein and hydroxytyrosol activate GPER/ GPR 30 β dependent pathways leading to apoptosis of ER β negative SKBR 3 breast cancer cells. *Molecular nutrition & food research*, 58(3), 478-489.
100. Sarsour, E.H., Kumar, M.G. & Kalen, A.L. et al. (2012). MnSOD activity regulates hydroxytyrosol-induced extension of chronological lifespan. *Age*, 34(1), 95-109.
101. Sarsour, E.H., Goswami, M. & Kalen, A.L. et al. (2014). Hydroxytyrosol inhibits chemokine CC motif ligand 5 mediated aged Quiescent fibroblast- induced stimulation of breast cancer cell proliferation. *Age*, 36(3), 9645.
102. Brooks, M.D, Burness, M.L & Wicha, M.S (2015) Therapeutic implications of cellular heterogeneity and plasticity in breast cancer. *Cell Stem Cell* 17:260–271.
103. Jitariu, A. A., Cîmpean, A. M., Ribatti, D., & Raica, M. (2017). Triple negative breast cancer: the kiss of death. *Oncotarget*, 8(28), 46652.
104. Cruz-Lozano, M., González-González, A. & Marchal, J. A. et al. (2019). Hydroxytyrosol inhibits cancer stem cells and the metastatic capacity of triple- negative breast cancer cell lines by the simultaneous targeting of epithelial-to- mesenchymal transition, Wnt/ β -catenin and TGF β signaling pathways. *European journal of nutrition*, 58(8), 3207-3219.
105. Calahorra, J., Martinez-Lara, E., De Dios, C. & Siles, E. (2018). Hypoxia modulates the antioxidant effect of hydroxytyrosol in MCF-7 breast cancer cells. *PLoS one*, 13(9).
106. Méndez-Líter, J.A., Tundidor, I. & Nieto-Domínguez, M. et al. (2019). Transglycosylation products generated by *Talaromyces amestolkiae* GH3 β -glucosidases: effect of hydroxytyrosol, vanillin and its glucosides on breast cancer cells. *Microbial cell factories*, 18(1), 97.
107. Bulotta, S., Corradino, R. & Celano, M. et al. (2011). Antiproliferative & anticancer effects on breast cancer cells of oleuropein and its semisynthetic preacetylated derivatives. *Food Chemistry*, 127, 1609-1614.
108. Granados-Principal, S., Quiles, J.L. & Ramirez-Tortosa, C. et al. (2011). Hydroxytyrosol inhibits growth and cell proliferation and promotes High expression of sfrp4 in rat mammary tumours. *Molecular nutrition & food research*, 55(S1), S117-S126.
109. Granados-Principal, S., El-Azem, N. & Pamplona, R. et al. (2014). Hydroxytyrosol Ameliorates oxidative stress and mitochondrial dysfunction in doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats with breast cancer. *Biochemical pharmacology*, 90(1), 25-33.
110. El-Azem, N., Pulido-Moran, M. & Ramirez-Tortosa, C.L. et al. (2018). Modulation by hydroxytyrosol of oxidative stress and antitumor activities of paclitaxel inbreast cancer. *European journal of nutrition*, 58(3): 1203-1211.

1^{er} premio

111. Grünwald, B., Schoeps, B., & Krüger, A. (2019). Recognizing the molecular multifunctionality and interactome of timp-1. *Trends in cell biology*, 29(1), 6-19.
112. Ramirez-Tortosa, C., Sanchez, A. & Perez-Ramirez, C. et al. (2019). Hydroxytyrosol Supplementation Modifies Plasma Levels of Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1 in Women with Breast Cancer. *Antioxidants*, 8(9), 393.
113. Arunsundar, M., Shanmugarajan, T.S. & Ravichandran, V. (2015). 3, 4- Dihydroxyphenylethanol attenuates spatio-cognitive deficits in an Alzheimer's disease mouse model: modulation of the molecular signals in neuronal survival-apoptotic programs. *Neurotoxicity research*, 27(2), 143- 155.
114. Medina-Martinez, M.S, Truchado, P., Castro-Ibanez, I. & Allende, A (2016) Antimicrobial activity of hydroxytyrosol: a current controversy. *Biosci Biotechnol Biochem* 80(4):801–810.
115. López de las Hazas, M.C., Rubio, L., Macia, A. & Motilva, M.J. (2018). Hydroxytyrosol: Emerging trends in potential therapeutic applications. *Current Pharmaceutical*.
116. Blekas G, Vassilakis C & Harizanis C et al. (2002). Biophenols in table olives. *J Agric Food Chem*. Jun 19; 50 (13): 3688-3692.
117. Brenes M, García A, García P, Rios JJ & Garrido A (1999). Phenolic compounds in spanish olive oil. *J Agric Food Chem*. Sep, 47(9): 3535-40.

2º premio

SEGUNDO PREMIO

Papel de las bacterias lácticas en los alimentos funcionales y en la bioconservación. Su implicación en la seguridad y calidad alimentaria.

Autor: Autor: María Luz Pons Rocher (1049) e Inmaculada Pons Rocher (998)

2º premio

Papel de las bacterias lácticas en los alimentos funcionales y en la bioconservación. Su implicación en la seguridad y calidad alimentaria

RESUMEN

Actualmente se observa una creciente preocupación de los consumidores por seguir una alimentación más natural y al mismo tiempo que los alimentos estén disponibles a lo largo de todo el año. Ello implica, necesariamente, alargar el periodo de vida útil de los alimentos hasta que llegan al consumidor, sin menoscabo del cumplimiento de las exigencias de calidad, valor nutricional, características sensoriales y seguridad microbiológica. Se observa un rechazo hacia los aditivos químicos, por lo que se promueve lo que se conoce con el término de "bioconservación", cuyo objetivo es utilizar sustancias naturales procedentes de organismos vivos como bacterias, hongos, plantas o animales.

Este trabajo se centra en la bioconservación, entendida como la extensión de la vida útil y seguridad alimentaria mediante el uso de BAL y/o sus bacteriocinas y bacteriófagos, sólo o en combinación entre ellos o con tratamientos tradicionales fisicoquímicos suaves o bien, con bajas concentraciones de conservantes químicos naturales y bacteriófagos, confiriéndoles resistencia. Todo ello para inhibir el desarrollo en alimentos de microorganismos alterantes o patógenos y, por tanto, prevenir infecciones de transmisión alimentaria. Un bioconservante ideal debe mostrar una actividad antimicrobiana específica contra agentes patógenos o alterantes, y además, no debe influir negativamente sobre la microbiota intestinal comensal. En la bioconservación de alimentos se incluyen técnicas utilizadas para obtener alimentos más seguros a lo largo de toda la cadena alimentaria hasta la producción de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos (1). Por el momento, los resultados logrados en estos campos en estudio son bastante prometedores, en especial con el empleo de algunas bacteriocinas con actividad antifúngica como la nisina y la natamicina, que son, a su vez, aditivos químicos naturales y también la pediocina, siendo los compuestos más estudiados. No obstante, se continúa investigando para promover su aplicación en sustitución de los conservantes sintéticos en alimentos.

Palabras clave: Enfermedad, Probióticos, Bioconservación, Sustancias GRAS, Bacteriófagos.

INTRODUCCIÓN

ALIMENTOS FUNCIONALES

En la actualidad, el concepto de nutrición se encuentra en un estado de evolución constante gracias a las investigaciones en ciertas áreas de interés como el estudio de la inmunonutrición y sus aplicaciones a las dietas personalizadas, alimentos funcionales y sus compuestos bioactivos (nutrientes o no nutrientes (prebióticos, probióticos y fitoquímicos), alimentos transgénicos y transgénicos funcionales, biofortificación de cultivos, obtención de productos ecológicos e, incluso, las últimas averiguaciones en "genómica nutricional". Las prioridades en los países industrializados ya no se centran en las carencias nutricionales, sino en la relación entre alimentación y enfermedades crónicas no transmisibles. El interés de este estudio se centra en aquellos alimentos que ejercen una acción beneficiosa sobre algunos procesos fisiológicos y/o reducen el riesgo de padecer una enfermedad. Estos alimentos que promueven la salud han sido denominados Alimentos Funcionales.

2º premio

Concretamente, se trataría de "alimentos, naturales o procesados que contienen compuestos biológicamente activos, conocidos o desconocidos; que en cantidades definidas proporcionan un beneficio en salud clínicamente probado y documentado para la prevención, el manejo o el tratamiento de enfermedades crónicas".

Estos Alimentos Funcionales al estar, en la mayoría de los casos, tecnológicamente modificados, resultan más caros para el consumidor. Además, se establece que estos alimentos se consumen como parte de la dieta y ejercen una o varias funciones concretas que se traducen en una mejora de los mecanismos inmunitarios, favoreciendo la prevención y tratamiento de enfermedades, retrasos del envejecimiento, etc. Deben estar presentes en cantidades eficaces y no tóxicas, y tienen un interés desde el punto de vista nutricional y sanitario⁽²⁾. El interés por los Alimentos Funcionales se debe, en gran medida, al gran volumen económico que suponen.

En la actualidad, el Reglamento (CE) 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo regula las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables de estos Alimentos Funcionales propuestas por los fabricantes, las cuales deben estar avaladas por estudios científicos.

Los efectos beneficiosos en salud de los Alimentos Funcionales dependen, en gran medida, de factores genéticos individuales, por lo que su interés se centra en la nutrición personalizada para cada paciente.

Probióticos

La FAO en el año 2002 describe a los probióticos como "microorganismos vivos" (bacterias o levaduras) que "ejercen una acción benéfica sobre la salud del huésped al ser administrados en cantidades adecuadas". Se sabe que la administración de probióticos ayuda en el mantenimiento de la microbiota intestinal, con la cual ejerce una acción simbiótica.

La Asociación Científica Internacional de Probióticos y Prebióticos (ISAPP) en el año 2013 organizó una reunión de expertos clínicos y científicos en probióticos, entre los cuales se incluyen miembros de la FAO y OMS y otros expertos reconocidos internacionalmente, para redefinir los probióticos, tras los avances científicos y clínicos acontecidos. Estos expertos concluyen que es necesaria una evidencia científica de los beneficios para la salud aportados por un probiótico y que todos los probióticos son seguros para su uso previsto. Los microorganismos muertos y componentes microbianos no entran en la clasificación de probióticos. Los recuentos de BAL deberán ser de como mínimo 1×10^9 ufc/día para asegurar el efecto probiótico⁽⁴⁾.

Para que un microorganismo pueda ser considerado como probiótico debe presentar características como ser viable en las condiciones de los distintos compartimentos del tracto gastrointestinal, proliferar en el intestino e inhibir microorganismos patógenos productores de infecciones sistémicas, presentar efectos inmunomoduladores, productores de metabolitos funcionales y antimicrobianos (bacteriocinas) y otros compuestos antimicrobianos.

Los principales efectos beneficiosos que los probióticos ejercen para la salud humana son:

- Modulación del sistema inmune o inmunomodulación, al inducir una respuesta inmune innata y adaptativa que protege frente a infecciones de patógenos⁽⁵⁾.
- Aporte de enzimas digestivos y metabolitos funcionales.

2º premio

El principal efecto positivo de los probióticos observado sobre la salud es la producción de ácidos grasos de cadena corta como el acetato, butirato y propionato, con efecto modulador de los procesos metabólicos e inflamatorios. El butirato es la principal fuente de energía para los colonocitos, fomentando la maduración y regeneración del epitelio intestinal con importante efecto anticancerígeno observado frente al cáncer de colon. Además, estos ácidos orgánicos producen un pH intestinal desfavorable para la multiplicación de patógenos como *Clostridium* y *Salmonella*, entre otros ⁽⁶⁾.

Los probióticos resultan especialmente importantes por su función simbiótica con la microbiota intestinal, modulando la composición de ésta. Una modificación de la microbiota intestinal se asocia con una alteración del estado de salud.

Las tres especies de bacterias ácido lácticas más utilizadas como probióticos y estudiadas son: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium* spp. También se emplean microorganismos probióticos no bacterianos ni patógenos como *Saccharomyces boulardii* (levadura no patógena), y *Streptococcus termophilus* ⁽⁷⁾. Las BAL poseen propiedades probióticas, no obstante, no todas las cepas de la misma especie poseen, necesariamente, esta propiedad ⁽⁸⁾.

Las leches fermentadas son alimentos adecuados para las personas que sufren intolerancia a la lactosa, ya que las lactasas microbianas presentes hidrolizan la lactosa tanto en el producto fermentado como en el tracto gastrointestinal y los lactobacilos reducen también los niveles circulantes de colesterol en sangre ⁽⁹⁾.

Los probióticos también participan en la regulación del metabolismo de la glucosa, reduciendo la glicemia postprandial y la diabetes mellitus no insulino dependiente o tipo 2, obesidad, osteoporosis y cáncer.

Los Alimentos Funcionales que contienen microorganismos probióticos, es decir, cuyo componente bioactivo son los probióticos, han adquirido una gran importancia económica. Son útiles en la prevención y/o tratamiento de enfermedades crónicas no transmisibles y, también de enfermedades de carácter infeccioso.

Tradicionalmente se consideran Alimentos Funcionales Probióticos alimentos como el yogur con bacterias probióticas, queso fresco, queso roquefort, cabrales, Kefir fermentado con levaduras, pan de masa madre ácida, etc. Los alimentos fermentados son, por tanto, un claro ejemplo de Alimentos Funcionales Probióticos.

Microbiota intestinal

La microbiota intestinal es la población de microorganismos que habitan en el intestino, en relación simbiótica con el huésped. Los conocimientos sobre su composición, su evolución a lo largo de la vida del hospedador y su interacción con otras bacterias y con el epitelio intestinal son escasos y se encuentra actualmente en estudio. Una disminución en la riqueza y diversidad de la microbiota intestinal se ha asociado con un aumento del riesgo de enfermedad. Los estilos de vida y las prácticas clínicas influyen en el desarrollo y la diversidad de la Microbiota intestinal ⁽¹⁰⁾.

Se estima que el colon alberga mayormente bacterias, aunque también se encuentran levaduras y virus. La mayoría pertenecen a las Divisiones Bacteroidetes y Firmicutes, La microbiota intestinal es realmente compleja y dinámica, es decir, es cambiante a lo largo de toda la vida de las personas ⁽¹¹⁾.

2º premio

La microbiota intestinal presenta, con frecuencia, la capacidad de unirse a la mucina del mucus del intestino, lo que previene la adhesión de microorganismos potencialmente patógenos ⁽¹²⁾. Además, tienen la propiedad de fermentar los carbohidratos no digeribles, producir vitaminas (grupo B, Vitamina K), aminoácidos esenciales como la lisina y factores de crecimiento ⁽⁷⁾. También producen ácidos grasos de cadena corta que aportan energía al colonocito.

Es importante describir el perfil de la microbiota intestinal para establecer la relación entre la alteración de equilibrios ecológicos bacterianos con estados de enfermedad que puedan conducir a un nuevo campo terapéutico en la prevención y/o tratamiento de algunas enfermedades.

La dieta es un factor determinante en el perfil de microbiota intestinal. Seguir una dieta saludable puede ayudar a modificar la microbiota puesto que algunos metabolitos se generan por acción de ésta y la microbiota está influenciada, a su vez, por la alimentación. Los reequilibrios de la composición de la microbiota intestinal pueden ayudar a prevenir y tratar determinadas enfermedades como:

- Obesidad
- Enfermedad celíaca
- Síndrome de colon irritable ⁽⁷⁾
- Cáncer colorrectal y gástrico ⁽¹⁰⁾
- Autismo y esquizofrenia ⁽¹³⁾
- Alergias y asma
- Ansiedad y depresión ⁽¹⁴⁾
- Esclerosis múltiple ⁽¹⁵⁾
- Trastornos del comportamiento e irritabilidad en niños ⁽¹⁶⁾

Y, viceversa, en cada una de estas enfermedades descritas se observa un patrón característico de microbiota intestinal. Se han encontrado interacciones, incluso, entre la microbiota intestinal y el sistema nervioso central ⁽¹³⁾.

En la actualidad se da gran importancia a la modulación de la microbiota intestinal mediante los alimentos funcionales que abren la puerta para tratar y prevenir muchas enfermedades de las que hoy desconocemos su causa.

Prebióticos

Los prebióticos son hidratos de carbono no digeribles que producen beneficios en la salud del huésped porque promueven selectivamente el crecimiento y la actividad de determinados grupos bacterianos, lo que induce cambios en la composición de la microbiota intestinal y, por tanto, beneficios para la salud del hospedador. La suplementación de la alimentación con prebióticos se considera eficaz en la modulación de la microbiota intestinal y su metabolismo.

Entre los prebióticos empleados con beneficios para la salud gastrointestinal se encuentran los fructooligosacáridos (FOS), galactooligosacáridos (GOS), la inulina, sorbitol, lactitol, etc. Estos presentan en común su resistencia a la hidrólisis por enzimas digestivas, lo que las hace ser precursores de la fermentación por las bacterias colónicas.

Simbióticos

Los simbióticos se definen como “una mezcla de probióticos y prebióticos destinados a mejorar la su-

2º premio

pervivencia de las bacterias probióticas en el tracto gastrointestinal y modificar la microbiota intestinal y su metabolismo". Este concepto debe ser reservado a aquellos compuestos en los que el componente prebiótico favorece selectivamente al componente probiótico al cual se adicionan ⁽⁵⁾. Esta combinación simbiótica está siendo utilizada principalmente para la elaboración de fórmulas lácteas infantiles, con muy buenos resultados en la prevención de enfermedades gastrointestinales ⁽⁶⁾.

Un perfil saludable de la microbiota presenta beneficios, ya que compiten con los microorganismos patógenos. El consumo de carbohidratos de alta fermentabilidad se asocia con una mejor absorción de ciertos minerales como el calcio, magnesio y hierro debido a que la microbiota del colon produce ácidos grasos de cadena corta que estimulan la proliferación epitelial de células en el colon y reducen el pH luminal, aumentando su biodisponibilidad.

BACTERIAS ÁCIDO-LÁCTICAS. METABOLITOS Y SEGURIDAD ALIMENTARIA

Las BAL pertenecen al filo Firmicutes y están ampliamente distribuidas en el ecosistema. Las BAL desempeñan un papel importante en la industria alimentaria en los procesos de fermentación por su capacidad acidificante y, por tanto, de protección de los alimentos frente al desarrollo de microorganismos indeseables (patógenos y alterantes), esporas bacterianas, hongos, protozoos. También destaca su contribución a las características sensoriales (sabor, olor, textura), aumentando el contenido nutricional y las propiedades terapéuticas. Además, participan en la digestión y metabolismo de las proteínas, hidratos de carbono y lípidos, mejorando su biodisponibilidad.

Las BAL son microorganismos con diversas aplicaciones, siendo una de las principales la fermentación de alimentos como la leche, carne, pescado y vegetales para obtener productos como el yogur, quesos, encurtidos, productos cárnicos y bebidas fermentadas como vinos y cerveza. Estas BAL pueden pertenecer al grupo de microorganismos denominados cultivos lácticos o iniciadores con aplicación en la producción de alimentos fermentados en la industria alimentaria.

Las BAL incluyen algunos géneros como *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, etc. En cuanto a su morfología, pueden ser cocos y bacilos, Gram positivos, anaerobios facultativos, no esporuladas, sin movilidad y catalasa negativas.

La temperatura influye, en gran medida, en el crecimiento de las BAL. Existen cepas mesófilas (20 – 25oC) y otras termófilas (40 - 45o C). Como requerimientos nutricionales se describen los aminoácidos y las vitaminas del grupo B (tiamina, biotina, ácido fólico, etc), los cuales son necesarios para el crecimiento de la mayor parte de las BAL. Las BAL homofermentativas (convierten la lactosa únicamente en ácido láctico) o heterofermentativas (convierten la lactosa en ácido láctico y otros ácidos como el diacetilo, succinato, propionato).

Las BAL desplazan a las bacterias consideradas nocivas, bien sea por su actividad bacteriostática o bactericida, favorecida por los metabolitos antimicrobianos que producen o como consecuencia de la competición física por unirse al epitelio, consumiendo también los sustratos disponibles en el medio intestinal. También producen otros metabolitos llamados metabolitos funcionales con capacidad de actuar sobre determinadas funciones selectivas del organismo en los Alimentos Funcionales, donde se encuentran especialmente destacados.

El ácido láctico es el principal metabolito generado por fermentación bacteriana de las BAL con diferentes aplicaciones posibles. Se produce durante la fermentación natural de la leche, queso, cer-

2º premio

veza, etc. Su efecto antimicrobiano se produce como consecuencia de la acidez que provoca en el alimento, inhibiendo microorganismos patógenos y alterantes de los alimentos, así como esporas bacterianas en una gran variedad de alimentos procesados.

El ácido propiónico se genera por la fermentación natural del queso, cerveza y otros alimentos por bacterias heterofermentativas como consecuencia de la transformación del ácido láctico en ácido propiónico y acético. Se genera CO₂ responsable de la formación de los ojos en los quesos, en productos lácteos, mayonesas.

Bacteriocinas, producidas por las BAL. Las bacteriocinas de bacterias lácticas, de bajo peso molecular, son resistentes a un amplio rango de temperaturas y generalmente estables a un amplio rango de pH (ácido o neutro). Se emplean en la industria alimentaria como conservantes para reducir el uso de aditivos químicos, así como la intensidad del tratamiento térmico. Esto permite aumentar la vida útil de los alimentos. Las bacteriocinas se inactivan por enzimas proteolíticas como tripsina y alfa-quimiotripsina, de origen pancreático y pepsina, de origen gástrico. Son inactivadas durante su paso por el tracto gastrointestinal sin generar compuestos activos secundarios tóxicos (17). La formación de poros en la membrana celular es un mecanismo de acción antimicrobiano común que ejercen las bacteriocinas producidas por bacterias lácticas. A través de estos poros las bacteriocinas acceden a la membrana citoplasmática de la bacteria hospedadora. Además, interfieren en el crecimiento de las bacterias y producen lisis celular ^(18,19,1).

Las bacteriocinas no alteran las propiedades organolépticas y alargan la vida útil de los alimentos. Concretamente, son activas contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora, aunque, recientemente se ha visto que también tienen acciones bactericidas contra cepas distantes filogenéticamente ⁽¹⁾.

Compuestos no proteicos producidos por las BAL durante su crecimiento, entre los que se encuentra, la reuterina, producida por *Latobacillus reuteri*, presente en el tracto gastrointestinal de personas y animales. Presenta un amplio espectro de actividad frente a bacterias Gram positivas, Gram negativas, levaduras, mohos y protozoos por inhibición de la actividad de la enzima ribonucleótido reductasa, responsable de la síntesis del DNA.

Peróxido de hidrógeno (H₂O₂) producido por las BAL con poder oxidante. Genera radicales libres que atacan componentes esenciales de las células como los lípidos, proteínas y el DNA. El peróxido de hidrógeno ha sido muy estudiado en leche cruda, donde se genera el sistema antimicrobiano "lactoperoxidasa" ⁽²⁰⁾.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo se centra en el estudio del papel de las BAL y/o sus metabolitos antimicrobianos (bacteriocinas) en la bioconservación de alimentos. Se han estudiado, para ello, bioconservantes en productos cárnicos, lácteos, pescados y vegetales. Una alternativa a esta forma tradicional de bioconservación son los bacteriófagos, por su posible uso en combinación con diferentes bacteriocinas.

Por su parte, también se ha revisado el conocimiento acerca del papel de las BAL y/o sus metabolitos funcionales en los Alimentos Funcionales para la prevención de enfermedades.

2º premio

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio es una revisión bibliográfica planificada y estructurada que se lleva a cabo mediante estrategias de búsqueda de información con un criterio de selección de los estudios.

Para abordar el objetivo de este trabajo, así como los diferentes puntos tratados en la introducción se ha realizado una revisión sistemática de la literatura científica que incluyera las palabras clave en el título, el desarrollo, resumen, conclusiones u otros apartados del trabajo.

REVISIÓN DE LA LITERATURA CIENTÍFICA

Para la búsqueda de información relativa a los puntos citados en la introducción de esta revisión bibliográfica se ha efectuado una búsqueda en Google académico.

Para estudiar la posible prevención de enfermedades a través de los alimentos Funcionales Probióticos se ha realizado una revisión bibliográfica mediante la consulta de artículos publicados en la revista de nutrición hospitalaria Scielo y otras publicaciones de la Universidad de Cantabria.

Con el propósito de encontrar una esperable relación causal entre BAL y/o sus bacteriocinas y la bioconservación de los alimentos, se ha llevado a cabo una búsqueda de información en diferentes bases de datos electrónicas, científicas y académicas como Dialnet, Scielo, Elsevier, ScienceDirect y Google Académico, entre otras. Se han tenido en cuenta datos de revistas científicas como The Journal of Applied Microbiology, Journal of Food Protection, Science News y la hemeroteca científica del Instituto Tecnológico de Costa Rica, entre otros. También se ha consultado normativa española publicada en el Boletín Oficial del Estado y normativa europea consolidada, a través del buscador Eur-lex. Así mismo, se ha revisado la página web de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN).

Criterios de selección y fuentes de información

En la búsqueda de información sobre los puntos objeto de estudio no se ha realizado ningún filtro en el tipo de estudios. No obstante, la información obtenida, así como las conclusiones provienen de:

- Estudios epidemiológicos en animales y humanos in vivo e in vitro
- Ensayos clínicos controlados
- Meta-análisis
- Revisiones sistemáticas
- Opiniones científicas de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y AESAN.

En los diversos estudios consultados se emplean bioconservantes como BAL para alargar la vida útil de los alimentos y/o sus bacteriocinas, solas o combinadas entre ellas e, incluso, con tratamientos físico-químicos suaves como tratamiento térmico, campos eléctricos de luz pulsada, alta presión hidroestática (HHP), ácidos orgánicos, conservantes químicos naturales ⁽²¹⁾ y bacteriófagos ⁽²²⁾.

- Idioma de las publicaciones: artículos publicados en español y en inglés.
- Tipo de publicación: artículos originales completos.
- Fecha de publicación: aunque se han incluido algunos datos relevantes relativos a estudios publicados a partir del año 2000, la base de la información para sacar las conclusiones se ha extraído, principalmente, de publicaciones de los últimos 5 a 10 años.

2º premio

Estrategias de búsqueda de información

Se evaluaron sistemáticamente los títulos de los artículos, los resúmenes y las palabras clave de aquellos estudios identificados previamente relevantes para esta revisión bibliográfica, después de hacer la búsqueda mediante palabras clave en las bases de datos electrónicas mencionadas.

Se realizó una lectura exhaustiva de los artículos seleccionados para evaluar la correcta selección de éstos. Para el desarrollo del estudio se ha extraído la información relevante a partir del análisis de datos y compilación de la misma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES A TRAVÉS DE ALIMENTOS FUNCIONALES PROBIÓTICOS**

Los estudios realizados concluyen que los Alimentos Funcionales Probióticos presentan un papel importante en la prevención y tratamiento de enfermedades a través de lo que se conoce como "eje enteroneuronal". Los probióticos deben administrarse simultáneamente con la medicación adecuada para cada enfermedad y presentan mayor efectividad si se administran tempranamente durante el curso de la enfermedad. No obstante, esta terapia probiótica se encuentra actualmente en estudio.

Existen resultados beneficiosos en modelos animales en relación con Alimentos Funcionales como el yogur y la administración de los probióticos en la prevención de **procesos cancerígenos** ⁽²³⁾.

En relación a la **enfermedad celíaca**, aunque actualmente el único tratamiento sea una dieta exenta de gluten, es posible que, basándonos en la alteración de la microbiota intestinal existente en estos pacientes, la administración de bifidobacterias pueda producir beneficios, aunque se requieren más estudios ⁽⁷⁾.

El uso terapéutico de probióticos como terapia del **estreñimiento en niños** con desequilibrio de la microbiota intestinal. Parecen tener un efecto positivo pero no está claramente establecida su eficacia en la edad pediátrica.

En los **lactantes con cólicos** se ha observado una microbiota colónica anormal. Su mecanismo de acción se basa en mejorar la motilidad intestinal y ejercer efectos directos en la vía nerviosa del dolor visceral. El uso de la cepa de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938, administrada en forma liofilizada a una dosis de 108 ufc/día en suspensión, 30 minutos antes de la primera toma del día, disminuye el tiempo de los llantos, en combinación con otras medidas terapéuticas ⁽²⁴⁾.

Hay datos que apoyan la relación entre el **Síndrome del colon irritable** con la microbiota intestinal, siendo ésta diferente de la de los niños sanos. Ensayos clínicos sugieren una moderada mejoría de estos pacientes con la suplementación de *Lactobacillus GG* ⁽⁷⁾.

Estudios realizados en niños con **gastroenteritis por rotavirus** han encontrado una reducción significativa de la duración de la diarrea cuando se consumen determinados productos lácteos ricos en probióticos como *Bifidobacterium bifidum* y los *Streptococcus termophilus*. Otros estudios con *Lactobacillus casei rhamnosus* han demostrado que su administración reduce la intensidad y la duración de la diarrea, así como disminución del tiempo de recuperación en un grupo de niños con diarrea.

2º premio

Se han publicado estudios relacionados con lo que se denomina reemplazamiento de microbiota total como un tratamiento alternativo en las **infecciones por *Clostridium difficile***. Se basa en la transferencia de microbiota fecal desde un individuo sano a otro enfermo. Es lo que llamamos tratamiento bioecológico ⁽²⁵⁾.

Del mismo modo, diversos estudios han demostrado un efecto beneficioso tras la administración de probióticos en pacientes adultos con **diarrea secundaria al uso de antibióticos**.

En los últimos años se ha propuesto el uso conjunto de prebióticos, probióticos y simbióticos como complemento adecuado y relativamente barato en diarreas profusas, conjuntamente con las técnicas de rehidratación con para restaurar la microbiota intestinal y reducir la inflamación. Del mismo modo, se describe el uso de estas combinaciones en la **enfermedad inflamatoria intestinal, pancreatitis aguda grave, tranplante hepático** y otras ⁽²⁶⁾.

Propiedades preventivas y terapéuticas en la patología de **alergia alimentaria**. Se ha detectado una menor incidencia de alergias a la leche de vaca en los lactantes que recibieron un probiótico como el *Lactobacillus rhamnosus*. También se ha observado que alivian los síntomas de la intolerancia a la lactosa ya que las BAL incrementan la actividad de la lactasa en el intestino delgado y, por tanto, se incrementa la digestión de la lactosa.

También se ha investigado el papel de los probióticos en otras **enfermedades autoinmunes como la diabetes mellitus tipo 1 y artritis reumatoide** en modelos experimentales animales alimentados con una dieta rica en BAL, observándose una reducción de la incidencia de diabetes en animales que reciben esta dieta y mejora de la sintomatología clínica.

También se ha observado que en los **transtornos del comportamiento e irritabilidad en niños**, éstos habitualmente muestran una modificación en los ácidos orgánicos urinarios por la presencia anómala de co-metabolitos derivados de cambios en la microbiota intestinal por una alteración en el patrón de alimentación (16).

BIOCONSERVACIÓN DE ALIMENTOS

En la sociedad actual, los consumidores demandan no sólo una gran variedad de alimentos, sino que éstos estén disponibles a lo largo de todo el año. Ello implica, necesariamente, alargar el periodo de vida útil de los alimentos hasta que llegan al consumidor y son ingeridos, sin menoscabo del cumplimiento de las exigencias de calidad, valor nutricional, características sensoriales y seguridad microbiológica. El Reglamento 2073/2005 de la Comisión, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, define «vida útil» como el periodo anterior a la fecha de duración mínima o la fecha de caducidad, tal como se definen, respectivamente en los artículos 9 y 10 de la Directiva 2000/13/CE.

Existen multitud de métodos de conservación de alimentos, tanto físicos (tratamientos térmicos) como químicos (aditivos) con efectos negativos en algunos casos, organolépticos, nutricionales y perjudiciales para la salud. Existe un rechazo en los últimos años por el uso de aditivos alimentarios como nitratos, benzoatos y sorbatos debido a un aumento en la presentación de enfermedades crónicas en salud pública derivadas del uso de aditivos alimentarios. También están siendo motivo de alertas alimentarias las reacciones alérgicas causadas en los consumidores con hipersensibilidad a

2º premio

los sulfitos, ampliamente utilizados como conservantes en los preparados cárnicos elaborados en la industria alimentaria o los efectos cancerígenos de antioxidantes como hidroxibutilanisol y del butilhidroxitolueno. Similares efectos cancerígenos presentan los nitritos empleados en el proceso de curación de algunos productos cárnicos, los cuales pueden desencadenar la formación de nitrosaminas cancerígenas. Para tratar de evitar estos efectos secundarios se instaura el uso de nuevas tecnologías de conservación como las radiaciones electromagnéticas, altas presiones hidrostáticas y otras técnicas que requieren una evaluación de su mecanismo de acción y toxicidad.

Una alternativa es la conservación de alimentos con productos más naturales que eviten o reduzcan el uso de los aditivos alimentarios y que, al mismo tiempo, mejoren la seguridad alimentaria sin reducción del contenido nutricional y de las propiedades organolépticas ni tampoco produzcan efectos adversos sobre la salud del consumidor.

La bioconservación tiene como objetivo utilizar sustancias naturales procedentes de organismos vivos como bacterias, hongos, plantas o animales, con el fin de prolongar la vida útil de los alimentos. Entre estas sustancias encontramos metabolitos primarios y/o secundarios obtenidos a partir de microorganismos, vegetales, semillas, aceites esenciales y conservantes presentes en productos de origen animal como leche (lactoferrina, con acción quelante del hierro) y huevos (lisozima, con acción desinfectante y sinérgica a la lactoferrina), entre otros.

Este trabajo se centra en la bioconservación, entendida como la extensión de la vida útil y seguridad de un alimento a través del uso de microbiota natural, entre la que se encuentran las BAL o controlada y/o sus compuestos antimicrobianos para inhibir el desarrollo en alimentos de microorganismos alterantes y patógenos y, por tanto, prevenir infecciones de transmisión alimentaria. Un bioconservante ideal debe mostrar una actividad antimicrobiana específica contra agentes patógenos o microorganismos alterantes, y además, no debe influir negativamente sobre el microbioma intestinal comensal. En la bioconservación de alimentos se incluyen técnicas utilizadas para obtener alimentos más seguros a lo largo de la cadena alimentaria hasta la producción de alimentos mínimamente procesados y sin aditivos ⁽¹⁾.

En los alimentos fermentados, las BAL les confiere el sabor característico y ejercen un efecto de conservación en los productos fermentados, alargando su vida útil. Se ha comenzado a sustituir los métodos tradicionales (secado, salado, etc) para controlar la descomposición de los alimentos y el crecimiento de microorganismos patógenos en los alimentos a partir de combinaciones biológicas antimicrobianas como las BAL y/o sus bacteriocinas. Las bacteriocinas más estudiadas son las producidas por las BAL. El uso de BAL o sus bacteriocinas aisladas o en combinación con tratamientos tradicionales fisicoquímicos suaves o bien, con bajas concentraciones de conservantes químicos naturales, representan una alternativa adecuada para alargar la vida útil de los alimentos e incrementar la seguridad alimentaria. Permiten la inhibición de bacterias saprófitas, alterantes y patógenas, presentes en los alimentos.

Estas BAL empleadas en la bioconservación de alimentos son reconocidas como sustancias **GRAS** por la FDA (U.S. Food and Drug Administration), es decir, seguras para el uso previsto porque se tiene una certeza razonable de su inocuidad en la adición intencionada a los alimentos, avalada por estudios publicados por expertos científicos, no teniendo la consideración de aditivos alimentarios (13). Estas sustancias GRAS participan en la fermentación y conservación de alimentos, mejorando

2º premio

su calidad higiénica al inhibir la microbiota competitiva. La EFSA también califica con el Estado de Presunción Cualificada de Seguridad (QPS) a BAL de géneros como *Lactobacillus spp.*, *Leuconostoc spp.*, *Pediococcus spp.* ⁽²⁸⁾.

En el documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo (ALC), aprobado en Comisión institucional el 16/10/2019 (versión Marzo 2019), se explica la utilización de la tecnología de los obstáculos como método complementario para la verificación de los estudios de vida útil desarrollados por las empresas alimentarias o por colaboración entre ellas (Tabla 1). Se trata de estudios para evaluar el crecimiento o supervivencia de los microorganismos en estudio en relación a un alimento y que pueden estar presentes en éste durante su vida útil en condiciones que son razonablemente previsibles de utilización, almacenamiento y distribución a lo largo de toda la cadena alimentaria. Se describe la utilización de obstáculos físicos, obstáculos físico-químicos y biológicos. Se logra un efecto sinérgico más eficaz cuando se utilizan diferentes "obstáculos o barreras" en pequeñas cantidades que cuando únicamente se utiliza una "barrera" en gran cantidad.

La conservación se consigue por un mecanismo de alteración de la homeostasis de los microorganismos presentes en el alimento. Una combinación inteligente de barreras garantiza la estabilidad y seguridad microbiológica, así como propiedades nutritivas y beneficios económicos importantes.

Tabla 1. Parásitos gastrointestinales zoonóticos detectados.

Obstáculos físicos	Tratamiento térmico	Temperatura de almacenamiento	Energía electromagnética	HHP
	Radiaciones ionizantes y ultravioleta (UV)	Inactivación fotodinámica	Envasado al vacío	Envasado en atmósfera protectora
	Envasado aséptico	Envases activos e inteligentes	Almacenamiento hipobárico	Ultrasonificación
Obstáculos físico-químicos	Aw	Ph	Ahumado Marinado	Lisozima Lactoferrina
	Nitritos	Sulfitos	Sal	Hiervas aromáticas Especias
	Fosfatos	Etanol	Ácido ascórbico y ácido láctico	Sistema lactoperoxidas de BAL
Obstáculos biológicos	Microbiota competitiva alimentaria	Cultivos iniciadores: BAL +/- bacteriocinas o levaduras	Bacteriocinas	Endolisinas fágicas o enzibióticos

2º premio

En las últimas décadas se han incrementado las investigaciones sobre las BAL, sus productos antimicrobianos y sus posibles aplicaciones en la bioconservación de alimentos a partir del empleo de productos naturales ⁽²¹⁾. Tradicionalmente, se considera a las bacteriocinas como péptidos biológicamente activos con propiedades antimicrobianas, segregadas por un gran número de bacterias para inhibir el crecimiento de otros microorganismos competidores.

Al final de este apartado, en la Tabla 2, se resumen las distintas bacteriocinas descritas para las matrices alimentarias estudiadas.

Las bacteriocinas más estudiadas son las de las producidas por bacterias Gram positivas como las BAL, con posibles aplicaciones biotecnológicas. Las bacteriocinas no presentan carácter tóxico contra células eucariotas y las bacterias productoras son inmunes a ellas por un fenómeno de autoprotección al compuesto sintetizado ^(1,29).

Diversos investigadores han buscado clasificar a las bacteriocinas según sus características bioquímicas y genéticas. El desarrollo de la biotecnología ha permitido conocer las características bioquímicas y genéticas de algunas bacteriocinas, así como su mecanismo de acción y un mejor conocimiento de la forma en que las BAL inhiben a otros microorganismos. El modo de acción de las bacteriocinas es bastante complejo pero se sabe que unas presentan efecto bacteriostático y otras bactericidas.

La **nisina** y la **pediocina** son las más estudiadas y comparten algunas características en común. *Lactococcus lactis* es la especie bacteriana productora de la bacteriocina nisina, que es la primera y más utilizada en la industria alimentaria, reconocida bajo el status GRAS por la FDA. El espectro de acción de la nisina abarca gérmenes patógenos y alterantes.

Actualmente sólo están autorizados en la normativa europea como aditivos alimentarios la **nisina** (E-234) y la **natamicina** (E-235). Pueden emplearse solas o combinadas, observándose que si se emplean de forma combinada se reducen las resistencias a las bacteriocinas.

La **natamicina**, producida por *Streptomyces natalensis* presenta una estructura más compleja estructura que los restantes péptidos antimicrobianos, lo cual le hace que se aleje de la clasificación de las bacteriocinas. Presenta dificultades de penetración en el alimento, por lo que su uso se centra en la aplicación en superficie de quesos y embutidos (1). La **enterocina AS-48** presenta actividad bactericida frente a la mayoría de bacterias Gram positivas como *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y alterantes como *Lactobacillus sakei*, *Brochothrix thermosphacta*, *Staphylococcus carnosus*, así como frente al protozoo parásito *Trypanosoma brucei*. Las **pediocinas** secretadas por *Pediococcus* spp. son estables a los cambios de temperatura y a un amplio rango de valores de pH. Su poder antimicrobiano se ha utilizado ampliamente en productos cárnicos y vegetales. Son eficaces contra *L. monocytogenes*, *Enterococcus faecalis*, *S. aureus* y *Clostridium perfringens*. El preparado comercial a base de **pediocina PA-1**, producido por la especie *Pediococcus acidilactici*, es efectivo en la inhibición del crecimiento de *L. monocytogenes* y es útil para aumentar la vida útil de muchos ALC. Se han descrito otras bacteriocinas como la **colicina**, producidas por gérmenes coliformes u otros bacilos formadores de endosporas pero no se ha estudiado todavía su utilidad en la producción de alimentos ⁽³⁰⁾. Las Plantaricinas son bacteriocinas producidas por diferentes cepas de *Lactobacillus plantarum* con un estrecho espectro de inhibición frente a especies del género *Lactobacillus*, *L. mo-*

2º premio

nocytogenes y otras bacterias Gram positivas. La **divergina**, generada por *Carnobacterium divergens* con potencial anti-listeria. La **helveticina**, destacando la **helveticina J**, producida por *Lactobacillus helveticus*. Está presente de forma natural en algunos alimentos fermentados como los quesos madurados. Tiene efecto antibacteriano contra cepas de la misma especie y otras relacionadas filogenéticamente ⁽³¹⁾.

Los envases antimicrobianos inhiben las BAL. Consisten, básicamente, en películas de embalaje hechas a partir de proteínas biodegradables (zeína de maíz o soja) con bacteriocinas o bien recubrir la superficie de un polímero con la bacteriocina (envases activos). La **nisina** se incorpora a diversos films de metilcelulosa o hidroxipropil metilcelulosa, polietileno y cartón empleados en el envasado de productos cárnicos como perritos calientes, carne de ternera, leche, salmón ahumado y zumos de fruta ⁽¹⁾.

Se han realizado gran cantidad de estudios que demuestran el potencial que presentan las bacteriocinas en la bioconservación de productos cárnicos, productos lácteos, productos de la pesca y vegetales fermentados, entre otros. No obstante, su efectividad debe ser confirmada para ser aprobada para su uso comercial. La cepa empleada debe tener estatus GRAS, con amplio rango reconocido de inhibición bacteriana y actividad específica y sin riesgos para el consumidor derivados de su uso. Además, las bacteriocinas deben ser termoestables y presentar estabilidad a pH extremos, altas concentraciones de sal y no ser susceptibles de modificación en la matriz alimentaria empleada. Se conoce que la actividad antimicrobiana de las bacteriocinas puede variar significativamente en función del tipo de matriz alimentaria utilizada, por lo que su efectividad debe ser probada individualmente en cada matriz alimentaria ⁽¹⁷⁾. Las bacteriocinas son digeridas, por su naturaleza proteica, por las proteasas del tracto gastrointestinal, inactivándose sin llegar a formar compuestos secundarios que puedan ocasionar un daño a la salud ^(32,1).

Una alternativa a esta forma tradicional de bioconservación es la utilización de **bacteriófagos** o también llamados **fagos**. Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias en cuyo interior se multiplican, alterando su metabolismo y finalmente inducen la lisis de la misma con liberación de la progenie viral. La lisis bacteriana se debe a la secreción proteica de lisinas por parte del bacteriófago, denominadas endolisinas, las cuales lesionan la membrana citoplasmática y la pared celular bacteriana ⁽³³⁾. Los bacteriófagos presentan una alta especificidad por su hospedador, lo cual les permite evitar resistencias bacterianas. Además, se puede emplear una combinación de fagos para evitar, así mismo estas, resistencias bacterianas. Esto se una a su gran abundancia en la naturaleza ⁽³⁴⁾. Se componen de cadenas simples o dobles de ADN o ARN simple o circular, lo cual les protege de ser degradados por enzimas nucleasas presentes en la célula hospedadora. Cuando se encuentran fuera del hospedador, se considera que el bacteriófago es inerte metabólicamente.

Los bacteriófagos se clasifican según la naturaleza y las características de su genoma. Pueden considerarse como agentes antimicrobianos que han demostrado su eficacia en la prevención de contaminaciones bacterianas en los alimentos pues reducen brotes de toxiinfección alimentaria. Puede emplearse directamente el fago o bien enzimas líticas codificadas por el genoma de los fagos conocidas como **endolisinas e hidrolasas** de peptidoglicanos asociadas a viriones. También son conocidas como **enzibióticos**. Estas enzimas presentan importantes propiedades y capacidad de actuar en diversas matrices alimentarias, son manipulables genéticamente y presentan inmunidad a las resistencias bacterianas ⁽¹⁾.

2º premio

Ventajas que ofrece el uso de bacteriófagos en seguridad alimentaria y ámbitos:

- Pueden utilizarse de forma combinada con bacteriocinas, por ejemplo endolisinas fágicas con nisina. Esta combinación es eficaz en el control de *L. monocytogenes* en queso fresco sin observarse resistencias a estos dos bioconservantes. La eficacia de la combinación de endolisinas con otros tratamientos físicos como las HHP depende de la composición y las características del alimento donde se apliquen ⁽¹⁾.

- La aplicación de los bacteriófagos a través de envases activos es interesante pues se liberan las partículas fágicas de forma controlada al alimento pero se encuentra actualmente en estudio debido a que pueden perder actividad en la matriz alimentaria (22). Se han probado diferentes formas de aplicación de estas partículas fágicas como la impregnación de estas en papel celulosa e incluso también la incorporación de fagos encapsulados en geles de alginato y posterior aplicación en papel ⁽¹⁾.

- Posible aplicación en el tratamiento de enfermedades infecciosas (terapia fágica), con ventajas frente a la antibioterapia clásica:

- No destruyen la microbiota intestinal comensal debido a su gran especificidad por el hospedador
- No presentan efectos secundarios
- Son activos tanto frente a las bacterias sensibles como a las resistentes, aunque no son eficaces frente a bacterias Gram negativas ⁽²²⁾.

- Coste reducido.

- La naturaleza es una fuente inagotable de bacteriófagos.

- Pueden ser una alternativa al tratamiento con antibióticos convencionales ⁽³⁵⁾.

- Acción como desinfectantes y eliminación de **biofilms** presentes en la superficie de la maquinaria y equipos de trabajo de la industria alimentaria que forman algunas bacterias como *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*. Estas bacterias crecen formando colonias protegidas por una capa de polisacáridos extracelulares, lo cual les confiere resistencia a los agentes físicos (calor) y químicos (desinfectantes, antibióticos) y pueden sobrevivir largos períodos con mínimos aportes de nutrientes pues se encuentran en estado de latencia. Los bacteriófagos pueden emplearse complementariamente a unas buenas prácticas de fabricación, manipulación y desinfección de estas superficies de trabajo.

- Posible uso como fertilizantes en la agricultura ecológica, bioconservantes en alimentación animal y medio ambiente ⁽¹⁾

Se clasifican según el ciclo de desarrollo que lleven a cabo en:

- Bacteriófagos virulentos, si presentan un ciclo lítico.

- Bacteriófagos atemperados, si su ciclo es lítico y lisogénico. En el caso del ciclo lítico, el bacte-

2º premio

riófago emplea mecanismos bacterianos de multiplicación, mientras que en el ciclo lisogénico el bacteriófago permanece en estado de latencia, integrándose el material genético del virus en el cromosoma bacteriano, adquiriendo la forma de profago hasta que, a través de señales externas se induce el ciclo lítico o lisis bacteriana y liberación de la progenie viral.

A efectos de bioconservación, únicamente se pueden emplear los bacteriófagos con ciclo lítico, ya que los de ciclo lisogénico o de latencia puede conferir virulencia o transmitir genes de resistencia a los antibióticos en el hospedador ⁽²²⁾.

En la Tabla 3 se resumen las ventajas e inconvenientes descritos derivados del uso de bacteriófagos en bioconservación.

Alimentos fermentados. Definición y legislación

Los **alimentos fermentados** son Alimentos Funcionales Probióticos, dado que presentan distintos tipos de BAL. Los alimentos fermentados con BAL presentan menor riesgo de toxiinfecciones que el propio producto fresco, debido a diversos metabolitos funcionales antimicrobianos producidos por las bacterias que intervienen en la fermentación. Las BAL inhiben el desarrollo microbiano de gérmenes patógenos y alterantes ⁽³⁶⁾.

En la elaboración de los derivados cárnicos curado-madurados la **fermentación** favorece el desarrollo de la microbiota natural, con o sin la adición de cultivo iniciador o starter, que metaboliza los hidratos de carbono y produce ácido láctico, lo que reduce el pH de la carne y permite que ésta desarrolle las propiedades sensoriales características que favorecen su conservación. A menudo enterococos forman parte de la microbiota accidental en alimentos fermentados, confiriendo propiedades bioquímicas de interés tecnológico en las fermentaciones lácticas, como la producción de ácidos orgánicos y la acidificación, actividad proteolítica, actividad lipolítica y esterasa.

· Oreado: Los productos oreados se someten a un secado-madurado de corta duración, lo cual permite un proceso de fermentación o desecación, o ambos, que confiere las características organolépticas propias del producto oreado.

· Curado-madurado: Tras un proceso de curado se someten a un proceso de desecación en un ambiente adecuado para provocar, durante una lenta y gradual reducción de la humedad, la evolución de los procesos naturales, propios de la fermentación o enzimáticos necesarios para conferir al producto propiedades organolépticas y permita una estabilidad durante el tiempo de comercialización, dando lugar al llamado derivado cárnico curado ⁽³⁷⁾.

Los alimentos deben ser seguros para su consumo, lo cual significa que han de ser inocuos y aceptables ⁽³⁸⁾. En este sentido, en el Reglamento 2073/2005 de la Comisión se regulan los criterios microbiológicos de algunos alimentos. Según se dispone, cuando se considere necesario, los fabricantes responsables de la fabricación de los alimentos, realizarán estudios de vida útil que permitan garantizar el cumplimiento de los criterios microbiológicos a lo largo de toda la vida útil de los alimentos. Esto se aplica, especialmente, a aquellos alimentos que se encuentran listos para el consumo y que puedan permitir el desarrollo del patógeno *L. monocytogenes* y suponer un riesgo para la Salud Pública. El cumplimiento de estos criterios microbiológicos permite alargar la vida útil de los alimentos al operador de empresa alimentaria.

2º premio

Estos estudios consisten en la determinación de parámetros físico químicos y la consulta de la bibliografía científica:

* PH, aw, concentración de sal, conservantes, modo de envasado y condiciones de almacenamiento de los alimentos, así como el proceso de transformación y la vida útil de los alimentos.

* Consulta de bibliografía científica en estudios de investigación sobre el crecimiento y la supervivencia de esta bacteria.

Así mismo, cuando sea necesario, se realizarán estudios complementarios. Los estudios se llevarán a cabo, preferentemente, por laboratorios con experiencia en microbiología predictiva ⁽²⁷⁾.

Bioconservación de productos lácteos

Los principales patógenos a tener en cuenta en la industria láctea son: *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *E. coli*. *L. monocytogenes* es el causante de brotes de listeriosis por consumo de leche pasteurizada y quesos a base de leche pasteurizada. En la elaboración de quesos y derivados como el queso suave y salsas de queso, la **nisina** evita la multiplicación de microorganismos esporulados y productores de gas como *Clostridium botulinum*. En quesos se ha demostrado la inhibición de *Clostridium spp.* tras el uso de nisina ⁽³⁹⁾. La nisina inhibe la germinación de esporas de *C. botulinum* en queso para untar, entre otros alimentos ⁽¹⁾. El uso de nisina junto con tratamientos térmicos suaves permite el control de la multiplicación de *B. cereus* y *Geobacillus stearothermophilus* y de la microbiota natural, así como prolongar la vida útil de la leche ⁽³⁹⁾. La vida útil de los quesos pasteurizados es mayor en aquellos adicionados con nisina durante el procesado respecto de los que se adiciona la nisina tras el procesado. El potencial anti-listeria de **pediocina** se ha estudiado en varios quesos como el tipo cottage, tipo crema y salsa de queso y se ha visto que es efectiva contra de *S. aureus* en leche cruda de búfala ⁽¹⁾. Las asociaciones de **pediocina PA-1/AcH** son interesantes para la reducción de la concentración de *L. monocytogenes* en productos lácteos como el queso Cottage duro, semiduro y blando ⁽⁴⁰⁾. Algunas enterocinas son activas también frente a *Bacillus cereus*. La **enterocina AS-48** con acción bactericida frente a la mayoría de bacterias Gram positivas, puede ser empleada en la bioconservación de postres lácteos pues determinadas dosis de esta enterocina reducen el recuento de células vegetativas y la formación de enterotoxina de *B. cereus* durante el almacenamiento, en un amplio rango de temperaturas superiores a las usualmente legisladas o recomendadas por el fabricante. También reduce el crecimiento de *L. monocytogenes* y presenta cierta actividad sobre *S. aureus*. En quesos, los estudios realizados mostraron una fuerte inhibición de *L. monocytogenes*, de *B. cereus* y de *S. aureus*. La **helveticina**, producida por *L. helveticus*, está presente de forma natural en los quesos madurados ⁽³¹⁾.

Estudios realizados reportan resultados sinérgicos con la combinación de la **endolisina PlyP100** (producida por el fago de *Listeria P100*) con nisina frente a *L. monocytogenes* en queso fresco, sin desarrollo de resistencias bacterianas a estos dos bioconservantes. La liberación progresiva de **endolisina Lysdb** durante el proceso de maduración del queso presenta resultados positivos en la inactivación de *S. aureus* durante la fermentación de la leche cruda de vaca para la fabricación del queso ⁽¹⁾.

Bioconservación de productos cárnicos

En productos cárnicos se han realizado numerosos estudios con buenos resultados empleando bacteriocinas como la nisina, pediocinas y utilizadas de forma individual o combinadas con otros trata-

2º premio

mientos físico-químicos (ácidos orgánicos, quelantes, tratamiento térmico, altas presiones, luz UV y luz pulsada) con el fin de inactivar patógenos y alterantes. Se utilizan, generalmente, preparaciones de bacteriocina que se adicionan a la carne cruda antes del tratamiento térmico, aplicación en superficie previa al envasado o bien, aplicación de películas o recubrimientos que incluyen las bacteriocinas en forma de lavado, pulverización o inmersión en soluciones de bacteriocinas, sólo o combinadas con otros antimicrobianos. Para bioconservar la carne cruda y los productos cárnicos y protegerlos de *L. monocytogenes* se emplea la **nisina**. En la desinfección superficial de la carne cruda se obtuvieron buenos resultados combinando la nisina con otros antimicrobianos naturales como ácidos orgánicos, quelantes, lisozima y envasado al vacío o en atmósfera protectora, aumentando la inhibición de *L. monocytogenes*, *B. thermosphacta* y *Escherichia coli* O157:H7. La **nisina A** presenta actividad anti-listeria. En otras carnes, los recuentos de *E. coli* y de *L. monocytogenes* se redujeron al aplicar films que contenían una combinación de nisina y EDTA. En jamón cocido, se inhibe *L. monocytogenes* y *Salmonella spp.* tras la aplicación de nisina combinada con **enterocinas**, **sakacinas** y lactato potásico⁽¹⁾. Las bacteriocinas también se emplean como recubrimientos protectores comestibles en salchichas y jamón cocido envasados al vacío. En embutidos, el uso de **pediocina** redujo el número de bacterias patógenas en productos cárnicos tratados, permaneciendo activa después de dos meses en refrigeración. La **pediocina AcH** controla el crecimiento de *L. monocytogenes* en envases al vacío de salchichas tipo Viena, donde se usa el nitrito para estabilizar el color rojo de la carne e inhibir el desarrollo de microorganismos esporulados como *C. botulinum*⁽³²⁾. El empleo de carne con pediocinas (especialmente **pediocina PA-1/Ach**) puede inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas y reducir los recuentos de *L. monocytogenes* y *Clostridium perfringens*. Un estudio reciente demostró que películas de celulosa que contienen **pediocina PA-1/AcH** retrasan la multiplicación de *L. monocytogenes* en el jamón cocido envasado al vacío y almacenado a temperatura superior a la habitualmente recomendada por el fabricante de 5°C.

La pediocina combinada con diacetato sódico o lactato sódico mejora la inhibición de *L. monocytogenes* en productos cárnicos como salchichas de Frankfurt o de *L. monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica* en carne de ave cocida (41). En la carne de cerdo envasada al vacío, se aplica una combinación de **nisina** y **lisozima** muy efectiva para inhibir *B. thermosphacta* y BAL (42).

Bioconservación de productos de la pesca

Se han realizado numerosos estudios de bacteriocinas como la nisina, pediocina y otras, bien solas o combinadas con otros antimicrobianos (ácidos orgánicos o agentes quelantes) o tratamientos como el calor, las altas presiones o la luz pulsada para la inactivación de bacterias patógenas o alterantes. Estos bioconservantes, por su gran poder antimicrobiano y su naturaleza, podrían sustituir los conservadores químicos que se utilizan, sin afectar las características organolépticas de los productos⁽⁴³⁾.

Además, *L. monocytogenes* es un patógeno importante en la industria pesquera, la cual es controlada con la bacteriocina nisina como se observa en la sardina contaminada con este patógeno⁽⁴⁴⁾. En sardina contaminada con *L. monocytogenes* ha sido efectivo el uso conjunto de **nisina** y el sistema lactoperoxidasa bacteriano⁽⁴⁵⁾. *L. sakei* inhibe a *L. monocytogenes*⁽⁴⁶⁾. El uso de **nisina** en la conservación de pescado es dosis dependiente, observándose, incluso, hasta el doble de inhibición bacteriana tras su adición a los productos pesqueros. La **divergina**, generada por *Carnobacterium divergens*, debido a su potencial anti-listeria se utiliza como bioconservante en mariscos y salmón, en los cuales *L. monocytogenes* puede desarrollarse como consecuencia de su carácter psicrófilo y tolerante de altas concentraciones de sal⁽³¹⁾.

2º premio

La preparación comercial que incluye la cepa *Carnobacterium divergens* M35 y sus metabolitos como la **divergina M35** se usan para el control de *L. monocytogenes* en salmón ahumado y trucha arcoíris ahumada ⁽¹⁾.

Estudios experimentales llevados a cabo en bacteriófagos demuestran que existe un efecto sinérgico entre la **endolisina fágica PlyP825** y HHP para la inhibición de *L. monocytogenes* en salmón ahumado, ya sea mediante pruebas de letalidad, de desafío o de almacenamiento ⁽⁴⁷⁾.

Bioconservación de productos vegetales

Los microorganismos predominantes en productos vegetales son *C. botulinum*, *B. cereus* y *L. monocytogenes*, ampliamente distribuidos en la naturaleza por ser ubicuos. Además, *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* y *Campylobacter* también pueden contaminar las frutas y verduras a través de las aguas residuales fecales. *E. coli* 0157:H7 y *Cronobacter sakazaki* se han descrito recientemente con posible presencia en los zumos de fruta. El pH ácido de los zumos de fruta previene la contaminación bacteriana de éstos. No obstante, *E. coli* y *Salmonella*, pueden sobrevivir en estos zumos y también en el tracto intestinal debido a su capacidad de adaptación al medio ácido, aumentando el riesgo de infección. Otras bacterias presentes en los zumos no tratados térmicamente o recontaminados tras el tratamiento térmico, son las BAL, principalmente *Lactobacillus* y *Leuconostoc* como microorganismos alterantes y *L. monocytogenes*, generalmente por contaminación cruzada. Los mohos y levaduras también pueden ser causa de alteración de los zumos ⁽³⁰⁾. La **nisina** y la **pediocina**, empleadas de forma individual o en combinación con ácidos orgánicos, sorbato sódico y potásico se han utilizado en tratamientos de desinfección de *L. monocytogenes* en brócoli, repollo y frijol germinado ⁽²¹⁾. La combinación de ambos inhibe el crecimiento de mohos y levaduras en la producción de aceitunas ^(39,1). Las **plantaricinas**, producidas por diferentes cepas de *L. plantarum* y con un estrecho espectro de inhibición frente a *Lactobacillus*, *L. monocytogenes* y otras bacterias Gram positivas. Se generan en los procesos de fermentación en los que se utiliza *L. plantarum* como microorganismo fermentador como es el caso de la fermentación de las aceitunas para la producción del aceite, vino, así como la fermentación de los cereales y legumbres ⁽³¹⁾. La **enterocina AS-48** producida por *Enterococcus faecalis* puede emplearse en la desinfección de vegetales crudos, causando una fuerte inhibición de *S. aureus* y la total inactivación de *L. monocytogenes* y *B. cereus* en lechugas, carnes, productos lácteos ⁽¹⁾. En zumos de frutas, la **nisina** y **enterocina AS-48** previenen la alteración causada por *Alicyclobacillus acidoterrestris* y también inactivan sus endosporas ⁽²¹⁾.

2º premio

Tabla 1. Bacteriocinas activas frente a diversos microorganismos en diferentes matrices alimentarias.
Fuente: elaboración propia.

Bacteriocina	Microorganismo		Matriz alimentaria	Método de aplicación
	Productora	Diana		
Nisina (E-234)	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>L. monocytogenes</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>Salmonella spp</i> , <i>S. aureus</i> y <i>C. perfringens</i>	Lácteos pasteurizados, leches evaporadas, leche en polvo, nata ⁽⁴⁰⁾ Leche pasteurizada, cerveza, vegetales, perritos calientes, carne ⁽³⁹⁾	Bacteriocina purificada aplicada en solución acuosa durante el procesado, pulverizada sobre la superficie o adicionada en envases activos sólo o combinada con otros conservantes (EDTA)
		Esporas de <i>C. botulinum</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Lactococcus</i> <i>Lactobacillus</i>	Carne cruda/productos cárnicos: salchichas curadas, perritos calientes, carne de ternera	Films de metilcelulosa o hidroxipropil,
		Leuconostoc, <i>Pediococcus</i> y <i>Micrococcus</i> <i>E. coli</i> ⁽¹⁾	Leche, yogur, queso, productos de panadería, tomate, salsa boloñesa, verduras enlatadas, puré, pasta, alimentos infantiles	metilcelulosa, polietileno y cartón empleados en el envasado ⁽¹⁾ Films con una combinación de nisina y EDTA ⁽⁴¹⁾
		Actividad antifúngica y frente a Gram +/- ⁽³⁹⁾	Salmón ahumado Zum de fruta, vino ⁽¹⁾	Película de polietileno de baja densidad recubierta con nisina Nisina inmovilizada en plásticos activados con polietileno/ poliamida ⁽⁴⁰⁾

2º premio

		<i>Micrococcus</i> Actividad antifúngica (mohos y levaduras) No generan resistencias en hongos y ni bacterias (39)		
Reuterina (compuesto no proteico)	<i>Lactobacillus</i> <i>reuteri</i>	Bacteriostático frente a <i>L.monocytogenes</i> y bactericida frente a <i>E.</i> <i>coli</i> O157:H7 y <i>S.</i> <i>enteritidis</i>	Salmón ahumado y jamón cocido	Adición purificada sólo +/- altas presiones hidrostáticas (HHP) o HHP + sistema lactoperoxidasa bacteriano/lactoferrina (48)
		Reducción aminas biógenas	Salmón ahumado	Adición de reuterina +/- HHP
Enterocina EJ97	<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i> EJ97	<i>Bacillus</i> spp., <i>L. monocytogenes</i> , <i>S.</i> <i>aureus</i> , <i>G.</i> <i>stearothermophilus</i>	Coservas de vegetales y bebidas	Adición de bacteriocina purificada (1) Películas o recubrimientos activos (40)
Enterocina V	<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>	Reduce la virulencia de <i>C. albicans</i> por inhibición de la formación de hifas (22)		

2º premio

Enterocina AS-48	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>S.aureus enterotoxinas</i> de <i>B.cereus</i> y <i>L. monocytogenes</i> ⁽¹⁾ <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> y <i>C. perfringens</i> ⁽⁴⁹⁾ Fuerte inhibición de <i>L. monocytogenes</i> , de <i>B. cereus</i> y <i>S.aureus</i> ⁽⁴⁰⁾ <i>T. brucei</i> ⁽²²⁾	Carnes, platos preparados, productos lácteos (quesos) y desinfección de vegetales crudos, purés y sopas vegetales ⁽¹⁾ Productos cárnicos: hamburguesas, chistorra, albóndigas, jamón cocido Alimentos infantiles a base de arroz ⁽⁴⁶⁾	Solución acuosa + métodos de conservación ⁽¹⁾ Películas o recubrimientos activos ⁽⁴⁰⁾ Gran efectividad en envasado al vacío frente a <i>B. thermosphacta</i> y <i>L. sakei</i> ⁽⁴⁹⁾
Lacticina	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>L. monocytogenes</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>S. aureus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i>	Yogur, queso tipo cottage, queso fresco, carne picada de ternera ⁽¹⁾ Leche y suero de leche ⁽⁴⁶⁾	Aplicación de bacteriocina purificada ⁽¹⁾
Lactocina	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>L. innocua</i> y <i>L.plantarum</i>	Salchichas	Aplicación en envases activos ⁽¹⁾
Mundticina	<i>Enterococcus mundtii</i>	<i>L. monocytogenes</i>	Vegetales mínimamente procesados ⁽²¹⁾	

2º premio

Tabla 2. Ventajas e inconvenientes de los bacteriófagos/endolisinas e hidrolasas.

Fuente: elaboración propia.

	Ventajas	Inconvenientes	Método de aplicación
Bacteriófagos (ciclo lítico)	<p>Alta especificidad bacteriana</p> <p>No destruyen la MT comensal</p> <p>No presentan efectos secundarios</p> <p>Activos frente a las bacterias multiresistentes</p> <p>Eficaces en biofilms</p> <p>Ubicuos en la naturaleza</p> <p>Seguros</p> <p>Coste reducido ⁽¹⁾</p> <p>Alternativa al tratamiento con antibióticos convencionales ⁽³⁵⁾</p> <p>Impregnación de partículas fágicas en papel celulosa e incorporación de fagos encapsulados en geles de alginato y posterior aplicación en papel ⁽¹⁾</p>	<p>Necesidad de utilizar un cóctel de fagos para evitar resistencias bacterianas ^(34,1)</p> <p>Actividad dudosa en envases activos con posible pérdida de eficacia en matriz alimentaria ⁽²²⁾</p>	<p>Incorporación de bacteriófagos encapsulados en geles de alginato y posterior aplicación en papel o encapsulados en liposomas y aplicación sobre un film de quitosano con actividad contra <i>E. coli</i> O157:H7 sin impacto negativo sobre la calidad sensorial de la carne de ternera ⁽¹⁾</p>

2º premio

<p>Endolisinas e hidrolasas (enzimas líticos o enzibióticos)</p>	<p>Activas frente a diferentes matrices alimentarias</p> <p>Altamente específicas</p> <p>Seguras</p> <p>Activas frente a bacterias multirresistentes</p> <p>Manipulables genéticamente</p> <p>Inmunidad a las resistencias bacterianas ⁽¹⁾</p> <p>Posible incorporación a nanomateriales y ensamblaje en film de polímeros con resultados positivos en la eliminación de <i>Listeria</i> en biofilms ⁽²²⁾</p> <p>Endolisinas fágicas + nisina: eficaz en el control de <i>L.monocytogenes</i> en queso fresco sin observarse resistencias a estos dos bioconservantes ⁽¹⁾</p>	<p>Producción costosa</p> <p>No efectivos frente a bacterias Gram-</p> <p>La eficacia de la combinación de endolisinas con otros tratamientos físicos como HHP depende de la composición y características de la matriz alimentaria ⁽¹⁾</p>	<p>Solución de endolisina PlyP825 almacenada a -21 °C. Descongelación en hielo y dilución con leche, líquido de mozzarella hasta lograr la concentración final deseada ⁽⁴⁷⁾</p>
<p>Fago lítico P-100 +/- Enterocina AS-48</p>	<p>Presentan mayor efectividad en combinación frente a <i>L. monocytogenes</i> en pescado crudo y ahumado ⁽⁴⁹⁾</p>		

2º premio

CONCLUSIONES

1. Algunas BAL presentan carácter probiótico y pueden formar parte de la microbiota comensal intestinal. Los Alimentos Funcionales que contienen microorganismos probióticos, es decir, cuyo componente bioactivo son los probióticos, son útiles en la prevención y/o tratamiento de enfermedades crónicas.
2. Las BAL producen sustancias antimicrobianas (ácido láctico, acético), entre las que se encuentran las bacteriocinas, en las cuales se fundamenta su potente acción antimicrobiana y bioconservadora, y en algunos casos probiótica.
3. Las BAL tienen un importante papel en los procesos de bioconservación de la industria alimentaria, favorecido por el amplio espectro antimicrobiano de las bacteriocinas. Las bacteriocinas pueden ser utilizadas solas o combinadas entre ellas y con tratamientos físico-químicos suaves, siendo una alternativa al uso de aditivos alimentarios.
4. Las bacteriocinas pueden actuar en combinación con bacteriófagos. Las combinaciones entre ellas o con otros tratamientos bioconservantes les confiere resistencia.
5. Las BAL se encuentran en la microbiota oral e intestinal. Destaca su utilización como probióticos, debido a su acción de modulación de la microbiota intestinal y a su capacidad de prevenir la colonización y crecimiento de bacterias patógenas y alterantes en el tracto gastrointestinal. Las BAL proporcionan un sabor, textura y características sensoriales que incrementan el valor nutricional de los alimentos.
6. Los bacteriófagos con ciclo lítico y sus endolisinas también son bioconservantes eficaces, pudiendo utilizarse en combinación con las bacteriocinas. Son efectivos, incluso, frente a bacterias multirresistentes a los antibióticos. Presentan una posible aplicación en el tratamiento de enfermedades infecciosas (terapia fágica) y la eliminación de las formas de resistencia o biofilms de algunos patógenos en superficies de trabajo de la industria alimentaria.
7. Las investigaciones científicas se centren en conocer mejor el modo de acción de las BAL, sus bacteriocinas y las combinaciones más eficaces entre ellas. Una forma de empleo, tanto de bacteriocinas como de bacteriófagos, es a través de envases activos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Barcenilla, C. (2019). Estrategias innovadoras de bioconservación en la industria alimentaria.
2. Martirosyan, D.M. y Singh, J. (2015). A new definition of functional food by FFC: what makes a new definition unique?. *Functional foods in health and disease*, 5(6), 209-223.
3. Reglamento (CE) No 1924/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de diciembre de 2006 relativo a las declaraciones nutricionales y de propiedades saludables en los alimentos. DOUE núm. 404 de 30.12.2006, p. 9-25.
4. Hill, C., Guarner, F. y Reid, G. et al. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11(8), 506-514.

2º premio

5. Olagnero, G., Abad, A. y Bendersky, S. et al. (2007). Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. *Diaeta*, 25(121), 20-33. Ortega R, Marcos A, Aranceta J, Mateos J, Requejo A, Serra Majem L, (2002). Alimentos Funcionales. Probióticos. 1a Edición. Madrid. Médica Panamericana.
6. Rubiano, L.S. (2006). Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Orinoquia*, 10(1), 16-23.
7. Román, E. y Álvarez, G. (2013). Empleo de probióticos y prebióticos en pediatría. *Nutrición Hospitalaria*, 28, 42-45.
8. Parra, R. (2010). Bacterias ácido lácticas: Papel funcional en los alimentos. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 8(1), 93-105.
9. Fernández, L.M.S. y del Castillo, M. S. (2000). *Lactobacillus spp.*: Importantes promotores de actividad probiótica, antimicrobiana y bioconservadora.
10. Serrano, C.A. y Harris, P.R. (2016). Desarrollo del microbioma intestinal en niños: Impacto en salud y enfermedad. *Revista chilena de pediatría*, 87(3), 151-153.
11. Robles-Alonso, V. y Guarner, F. (2013). Progreso en el conocimiento de la microbiota intestinal humana. *Nutrición Hospitalaria*, 28(3), 553-557.
12. Sánchez, B., Gueimonde, M. y Suárez, A. et al. (2010). Interacciones de las bifidobacterias con las células intestinales humanas.
13. Mariño, A., Núñez y Barreto (2016). Microbiota, probióticos, prebióticos y simbióticos. *Acta Médica de Cuba*, 17(1).
14. Akkasheh, G., Kashani-Poor, Z. y Tajabadi-Ebrahimi et al (2016). Clinical and metabolic response to probiotic administration in patients with major depressive disorder, A randomized, double-blind, placebo- controlled trial. *Nutrition*, 32(3), 315-20.
15. Biedermann, L. y Rogler, G. (2015). The intestinal microbiota: its role in health and disease. *European journal of pediatrics*, 174(2), 151-167.
16. Torrijo, B. (2017). Influencia de la microbiota en pacientes con trastornos del comportamiento.
17. Silva, C.C., Silva, S.P. y Ribeiro, S.C. (2018). Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. *Frontiers in microbiology*, 9, 594.
18. González-Martínez, B.E., Gómez-Treviño, M. y Jiménez-Salas, Z. (2003). Bacteriocinas de probióticos. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 4(2).
19. González, M. I., Wan, Y. I. E. N., Castrillón, J. A., y Ortega, Á. (2013). Adición de *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 en chorizo y morcilla empacados al vacío, para inhibir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*. *Vitae*, 20(1), 23-29.
20. Vásquez, S., Suárez, H. y Zapata, S. (2009). Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista chilena de nutrición*, 36(1), 64-71.

2º premio

21. De la Fuente Salcido, N.M. y Corona, J.E.B. (2010). Inocuidad y bioconservación de alimentos. *Acta Universitaria*, 20(1), 43-52.
22. Martínez, B. (2016). Bacteriocinas y sus aplicaciones en biotecnología de alimentos.
23. Suárez, V.M. (2015). Uso de probióticos y prebióticos en las fórmulas infantiles. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1), 72-77.
24. Rivero, M., Santamaría, A., y Seuma, R.P. (2005). La importancia de los ingredientes funcionales en las leches y cereales infantiles. *Nutrición Hospitalaria*, 20(2), 135-146.
25. Bengmark, S. y Gil, A. (2006). Control bioecológico y nutricional de la enfermedad: prebióticos, probióticos y simbióticos. *Nutrición hospitalaria*. 21(2): 73-86.
26. Olveira, G. y González-Molero, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutrición hospitalaria*, 22, 26-34.
27. Reglamento 2073/2005 de la Comisión relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DOUE núm. 338 de 22.12.2005, p.1-26.
28. EFSA, 2019. Update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 10: Suitability of taxonomic units notified to EFSA until March 2019. EFSA J. 17. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5753>.
29. Da Costa, R.J., Voloski, F.L.S. y Mondadori, R.G. et al. (2019). Preservation of meat products with bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from meat. *Journal of Food Quality*. 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/4726510>.
30. Grande, Ma J., Lucas, R y López, Ma C et al. (2011). Bioconservación de alimentos cárnicos. Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental. 24, 111–123.
31. Londoño, N.A., Taborda, M.T., López, C.A., y Acosta, L.V. (2015). Bacteriocinas producidas por bacterias ácido lácticas y su aplicación en la industria de alimentos. *Alimentos hoy*, 23(36), 186-205.
32. Preciado, G.M., Escalante, P. y Castro, J.A.O et al. (2013). Bacteriocinas: características y aplicación en alimentos. *Investigación y Ciencia*, 21(59), 64-70.
33. Fischetti, V.A. (2008). Bacteriophage lysins as effective antibacterial. *Current Opinion in Microbiology*, 11 (5), 393-400.
34. Ronda, C., Vázquez, M. y López, R. (2016). Los bacteriófagos como herramienta para combatir infecciones en Acuicultura. *Revista AquaTIC*, (18).
35. Paredes, M.C.H., y Cortés, R.R. (2017). Caracterización de un cóctel de bacteriófagos capaces de rescatar de la muerte a ratones infectados con *Klebsiella Pneumoniae*. *Jóvenes en la ciencia*, 2(1), 450-454.

2º premio

36. Ryhänen, E., Pihlanto, A. y Pahkala, E. (2001). A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties. *International Dairy Journal* 11: 441-447.
37. Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos. BOE núm. 147, de 18 de junio de 2014.
38. Reglamento 178/2002 (CE) No 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. DOCE núm. 31 de 1.2.2002, p. 1– 24.
39. Pisoschi, A.M., Pop, A. y Georgescu, C. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 143, 922-935.
40. Burg, M. J. G., Pulido, R. P., Lucas, R. y Gálvez, A. (2017). Bioconservación de alimentos lácteos. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (30), 193-204.
41. Burgos, M.J.G., López, R.L. y Aguayo, M.C.L. et al. (2011). Bioconservación de alimentos cárnicos. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (24), 111-123.
42. Jacobsen, T., Budde, B.B. y Koch A.G. (2003). Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *Journal of Applied Microbiology* 95: 242-249.
43. Salazar, S., Uribe, E., Aguilar, C. y Klotz, B. (2011). Bioconservación de pescado fresco empacado al vacío mediante la utilización de extractos antimicrobianos de bacterias ácido lácticas. *Alimentos Hoy*, 20(24), 8- 22.
44. Nilsson, L., Ng, Y.Y. y Christiansen, J.N. et al. (2004). The contribution of bacteriocin to inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology* 96: 133-143.
45. Elotmani, F. y Assobhei, O. (2004). In vitro inhibition of microbial flora of fish by nisin and lactoperoxidase system. *Letters in Applied Microbiology* 38: 60-65.
46. Beristain-Bauza, S.C., Palou, E. y López-Malo, A. (2012). Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 64-78.
47. Misiou, O., van Nassau, T.J., Lenz, C.A. y Vogel, R.F., 2018. The preservation of *Listeria* -critical foods by a combination of endolysin and high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*. 266, 355–362. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.10.004>.
48. Cabrejas, I.M. (2016). Potencial probiótico de *Lactobacillus reuteri* y aplicación de la reuterina como bioconservante alimentario (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
49. Baños, A. (2017). Aplicación de la tecnología de las barreras en el desarrollo de la enterocina AS-48 como bioconservante alimentario: Estudio de probiosis de una cepa productora de AS-48.

3^{er} premio

TERCER PREMIO

Turismo, voluntariado y zoonosis

Autores: Héctor Sanz Cabañes (1389) , Jaume Vicent Jordá Moret (1566) y Ana Navarro Serra (1660).

3^{er} premio

Cinoatría o medicina canina desde la antigüedad hasta el siglo XIX

RESUMEN

Se repasan los principales autores y textos sobre cinoatría o medicina canina desde la antigüedad, pasando por los autores griegos y romanos, el impulso que dio la caza a través del auge de los libros de cetrería y montería de la Edad Media, hasta el siglo XIX, que supuso el despegue definitivo de esta especialidad.

Palabras clave: Cinoatría, Montería, medicina canina.

INTRODUCCIÓN

El caballo es el animal que más ha contribuido al progreso y desarrollo del Hombre (1), como animal de transporte, trabajo agrícola, carga y tiro, junto al buey y el asno. Pero fue su velocidad la que hizo posible conquistar y gobernar grandes territorios, y tras la invención del estribo, el caballo se convirtió en una máquina de guerra dominante e imprescindible en la conquista militar (1), siendo los ejércitos los que demandaban cuidados cada vez más eficientes (2, 3, 4). Y surgió así la preocupación de cuidar y conservar la salud a los caballos, que fue durante muchos siglos, la principal misión de la medicina animal (5).

En la antigua Grecia proliferaron los primeros autores que redactaron documentos sobre el cuidado y tratamiento de las enfermedades de los caballos, dirigidos a herradores, cuidadores, tratantes, ganaderos y mayores (2). Posteriormente los textos romanos eran guías de agricultura y economía agraria que contemplaban aspectos de cría de los animales de granja y el perro, dedicados al *pater familias* (4, 6).

A partir del s. IV aparecen ya textos especializados de medicina animal, muchos de ellos no son más que recopilaciones de textos anteriores (4) fomentados incluso por emperadores (7).

Los tratados grecolatinos se conservaron en el Imperio bizantino y desde allí se expandió al Próximo Oriente y reinos centroasiáticos (3).

Los albéitares se limitaron exclusivamente al tratamiento de las enfermedades de los équidos y su herrado (5, 8). La Escuela Veterinaria de Madrid creada en 1792 por Carlos IV se dedicó exclusivamente a las enfermedades de los équidos y el arte de herrar porque tuvo como principal objetivo formar veterinarios mejor instruidos para satisfacer las necesidades del Ejército (5, 9, 10, 11, 12).

En la antigüedad y Edad Media la escuela y el entrenamiento del militar en época de descanso era la caza (13), ya que se ejercitaban las habilidades de la guerra como el valor, la resistencia física, el manejo del caballo y de las armas (14). La caza lúdica se practicaba bajo dos modalidades: la montería y la cetrería que darían lugar a volúmenes donde se estudiarán las enfermedades y tratamientos de aves de caza, y perros, ya que interesa que estén sanos al tratarse de poderosas armas de caza (3, 13, 15), principalmente las aves por ser más caras y difíciles de conseguir.

Pero a diferencia de la abundancia de textos sobre medicina equina, los trabajos dedicados al cuidado de los perros, eran textos didácticos escritos en prosa o incluso en verso, mucho más escasos

3^{er} premio

o simplemente trataban algún tema muy puntual (16) donde mostraban recetas transmitidas de generación en generación, o adquiridas a través de la experiencia. Su extensión era variable, desde unas pocas hojas hasta grandes volúmenes.

Los tratados romanos incluían indicaciones de patología canina al final del mismo. En otras obras podía aparecer el tratamiento de una sola enfermedad como la sarna de los perros en tratados de ceterería, o tratados que hablaban de enfermedades comunes de personas y animales (15). Hay quien opina que estos tratados de cinegética con bellas láminas, solo eran para la recreación de los propietarios porque quien cuidaba los perros era gente de baja clase social sin alfabetizar aunque poseían todo el saber popular transmitido de padres a hijos (16).

Los pueblos árabes con influencia persa tenían una amplia experiencia sobre el cuidado de los animales de caza, cuyos libros fueron muy importantes en el occidente medieval (3). Hasta el siglo XIII los libros de caza estaban escritos en latín y a partir del mismo siglo se escribirán en diversas lenguas europeas (13).

En la Edad Media, siguiendo la influencia de la medicina galénica, para curar a los animales, primero se aplicaba una dieta adecuada y si no mejoraba se administraban medicamentos (y la cirugía siempre como última opción) (15). Para expulsar humores corruptos o para prevenir ciertas enfermedades, se aplicaban purgantes, cauterio y sangrías (15). Los sabuesos (en ocasiones denominados *colgados*), era los perros que solían llevar los monteros en la edad media, los podencos se empleaban como rastreadores mientras que lebreles, alanos y cruces de mastín se utilizaban para dar acoso y derribo a la presa (14). A pesar de que se aconsejaba llevar instrumental de cirugía, que consistía en hierros para quemar y *curar a sus bravos canes si resultan heridos (17)*, solamente algunos cazadores lo llevaban.

El presente trabajo quiere ser una recopilación (no exhaustiva), de obras de cinoatría o enfermedades del perro escritas hasta el siglo XIX. Algunas de estas obras se pueden consultar en su integridad en la Biblioteca Digital Hispánica y distintos archivos disponibles en Internet (18). Se exponen a continuación de mayor a menor antigüedad.

TEXTOS, TRATADOS O AUTORES

Papiros de Kahun (1850 a.C.), Se trata de fragmentos incompletos. Algunos autores citan que en él se describen algunas enfermedades de perros (19) así como el tratamiento de las úlceras con gusanos en el perro (20).

Demócrito de Abdera (460-369 a. C.). Filósofo y matemático griego que también se interesó por la naturaleza de las enfermedades de los animales estudiando el interior de los mismos, llegando a explicar la multiparidad de los perros. Describió la rabia como enfermedad terrible que se presenta en perros y otros animales domésticos (6, 19).

Hipócrates de Cos (460- 370 a.C.) el padre de la Medicina menciona a los animales en su obra solo como anatomía y patología comparada, y así describe brevemente los quistes hídaticos del perro (21), y detalló la influencia del medio ambiente en la rabia (19). Hay que tener en cuenta que existieron otros Hipócrates veterinarios que fueron confundidos por el nombre con el de Cos (22).

3^{er} premio

Jenofonte (435-355 a. C.) Famoso filósofo e historiador, en su obra *Cinegética o tratado de la caza* (de autoría compartida (4)), tiene un total de 14 capítulos de los cuales 4 se dedican al perro. Describe las diferentes razas, características, cualidades, defectos o errores a corregir en la caza, mantenimiento, adiestramiento, cría y reproducción (4, 21, 23, 24). Con Jenofonte nace una literatura dedicada a la enseñanza del mundo relativo a la caza y hasta la caída del imperio Romano se escribirán cinco obras dedicadas a la caza, escritas por Gratio (s. I a.C.- I d.C.), Arriano (s. II d.C.) y en el s. III, Nemesiano y Oppiano. Todas estas obras se llamarán igual, *Cinegética* (13).

Aristóteles (384-322 a. C.). Además de gran filósofo, en su obra hay gran cantidad de estudios sobre biología, anatomía, fisiología y patología animal, así como técnicas quirúrgicas. Algunos lo consideran el fundador de la parasitología (25). De los temas que no tenía un conocimiento directo buscó información preguntando a pastores, cazadores y boticarios (26). En el capítulo octavo de su *Historia animalium* habla sobre las enfermedades de los animales en general así como de tres dolencias graves de los perros: la *lyssa* o rabia, la *cynanche* (una inflamación de garganta o angina) y la *podagra* o enfermedad de gota) (6, 19, 21, 27).

Marco Terencio Varrón (116- 27 a.C.), en su obra *Rerum rusticarum libri III*, dirigida a grandes propietarios agrícolas, en su libro II habla sobre animales domésticos y perros (4).

Gratio Falisco (63 a.C.-14 d. C.). Este poeta escribe una *Cynegeticón* (*Cinegética*) en 540 hexámetros dedicados la mayoría a las razas y enfermedades de perros y caballos (4, 21). Solo se conocen algunos fragmentos (23). Bajo un punto de vista empírico habla de la cría, cópula, gestación, selección de cachorros, etiología de enfermedades, remedios de las heridas que son muy frecuentes por sus luchas con las bestias feroces, y de enfermedades como la rabia (cauterizar el gusano o *vermiculum* de debajo de la lengua (21)), y la *sarna scabieis* (4, 24), de la que aconseja que se sacrifique el primer animal que se observe que padezca sarna o cualquier otra enfermedad contagiosa. En caso de las heridas que causa eventración aconsejaba que se cortara la hemorragia y que se aplicara sobre la herida suturada orina del animal que la había ocasionado. Este autor no confiaba en los medicamentos y aconsejaba que se implorara el socorro a la diosa Diana (21).

Lucio Junio Moderato Columena (4-70 d. C.). Nació en Cádiz, era un erudito, filósofo y poeta que a pesar de no practicar medicina veterinaria, recogió el saber del conocimiento popular romano de agricultores y ganaderos de la época. Fue el primero que utilizó el término *veterinario* (4, 21) para designar al pastor responsable de curar a los animales (28). Fue denominado por sus sucesores como el Príncipe de los ingenios geopónicos (21).

Escribió *De re Rustica* cuya traducción al castellano por Juan María Álvarez en 1824 se tituló "**Los doce libros de Agricultura**" (29). En el capítulo XII del libro séptimo habla y define las características de los perros puesto que custodia la casería, los frutos, la familia y los ganados y ayudan en la caza.

Gracias a Columena conocemos la práctica quirúrgica de la época romana. En cuanto al tema específico de los perros trata sobre la caudectomía del perro que *convendrá castrarlas a los cuarenta días de haber nacido*. En este apartado termina diciendo que *(como aseguran muchísimos pastores) se precave la rabia* (4, 28). Además trata sobre selección de perros de guarda (diferenciando el que guarda la casa que *se han de coger de cuerpo muy grande...de ladrido espacioso y sonoro, de*

3^{er} premio

aquellos de guardar el ganado, en establo o en pastoreo). Da consejos sobre la reproducción, como llamarlos y propone además normas alimenticias para los perros de guarda.

En el capítulo XIII del séptimo libro trata *De sus enfermedades, remedios para ellas, y para libertarlos de los insectos que los infestan*. Así da consejos de prevención y tratamiento de úlceras en las orejas en el estío (para ello se ha de frotar con almendras amargas molidas pero si ya estuvieren con úlceras convendrá destilar sobre ellas pez líquida cocida con manteca de puerco), el mismo tratamiento anterior lo aplica sobre los reznos (posiblemente se refiera a garrapatas (28)) pues no se deben arrancar con la mano, contra las pulgas (frotarlos con cominos molidos con igual parte de eléboro y humedecido todo con agua o con zumo de cohombro culebrino y si no hay uno ni otro, echándole por encima de todo el cuerpo alpechin añejo), sarna (muele partes iguales de yeso y ajonjolí mezcladas con pez líquida...si esta misma enfermedad es más violenta, se quita con resina líquida de cedro). Termina diciendo que *Las demás enfermedades se han de curar como hemos prescrito respecto a los otros animales*.

Cayo Plinio Segundo (Plinio el Viejo) (23,24?-79 d. C.) escribió varias obras pero solo se conserva su *Historia natural* que en su libro VIII "De la naturaleza de los animales terrestres" entre otros temas habla de la reproducción de los perros y remedios contra la rabia. Plinio recomendaba la extirpación del gusano de la lengua de los cachorros (*vermiculus in lingua canun*) para evitar la rabia (4, 21).

Lucio Flavio Arriano (Arriano de Nicomedia) (85-176 d.C.). Filósofo e historiador griego, influenciado por Jenofonte escribió *Cinegética* que trata sobre los perros de caza (4).

Claudio Eliano (170-249 d. C.) escribió multitud de obras. Destacamos *Propiedades, peculiaridades o características de los animales*, que es una recopilación del conocimiento de otros autores que consta de XVII libros. Tanto en el capítulo 46 del libro V (*Medicinas naturales usadas por los animales*), como en el capítulo 9 del libro VIII, describe lo que ya comentaba Aristóteles sobre la purgación de los perros al ingerir hierbas para combatir las lombrices (4).

Oppiano de Apamea (s. III). En la *Cynegetica* o Tratado de caza de Oppiano de Apamea, cuyo arquetipo fue escrito en el s. III. La fecha exacta no se sabe aunque es posterior al año 198. A menudo el autor ha sido confundido con Oppiano de Anazarbo de Cilicia que compuso tratados de pesca. Tendrá una transliteración griega en Bizancio en s. IX y añadidas algunas escenas en el manuscrito del s. XI. El códice actualmente presenta 150 escenas miniadas que acompañan paso a paso a versos escritos, con un total de 2144 hexámetros distribuidos en 4 libros, tal vez incompleto, donde el autor habla de las distintas técnicas de caza, pesca y volatería (30). El códice indaga en el comportamiento de distintos animales pero nos centramos en el final del primer libro, donde además de hablar sobre las razas de caballos y sus características, trata a los perros.

En el libro primero se puede leer como Artemisa, la diosa de la caza, los bosques y los animales le pide que cuente las batallas de la caza y entre otras cosas las *razas de los perros, los caballos de estirpes diversas*. Esta *Cynegetica* de Oppiano tiene escasas referencias sobre medicina veterinaria, en cambio si que hace descripciones de morfología y aptitudes.

*Si entre razas caninas apareamientos preparas,
que sean de razas homogéneas, que en todo concuerden.*

3^{er} premio

*Mas es mejor que las razas puras se mantengan.
Y de éstas innumerables son las especies.
Así deberían ser, con todo, su forma y su figura:
largo en cuerpo, gallardo, en su justa medida, muy ligera
la cabeza, bellos ojos, pupilas que brillen oscuras,
amplia la boca erizada de dientes, pequeñas las orejas
provistas de sutiles membranas, que en lo alto se vean;
el cuello largo y, bajo él, poderoso debe ser el pecho,
amplio, las patas delanteras más cortan sean que las traseras;
rectas, delgadas y largas han de ser sus tibias;
anchos los hombros y, en los flancos, una serie de costillas oblicuas;
muslos carnosos, mas no gruesos, y finalmente, detrás,
dura y tensa, capaz de formar una sombra, la cola.*

Igualmente describe las características para los perros de carreras para perseguir a sus presas y para que los perros salgan vigorosos aconseja:

*Si es tu deseo educar sabiamente a tus perros,
No consientas que los cachorros mamen la leche
De las ubres de ovejas o cabras o de perras domésticas
Porque crecerán perezosos e inútiles, torpes e inertes:
Que sean amamantados por una cierva o una leona mansa
O por una gacela o una loba que por las noches a correr salga:
Así los harás fuertes y veloces en grado sumo,*

Oppiano observa que las razas de capa rubia son fuertes y veloces. Jenofonte indicaba que los perros de color rojo, blanco o negro uniforme eran indicativos de mala raza.

Oppiano termina con algunos consejos de uso como *debes llamar a los cachorros con brevísimos nombres y de cualidades para la caza como que no sean propensos a ladrar*. La última nota que nos interesa es que aconseja cazar en invierno porque las huellas quedaban marcadas en la nieve. Sin embargo Jenofonte desaconsejaba esta estación porque la nieve quema el hocico y las patas del perro.

Marco Aurelio Olimpio Nemesiano escribió en latín una *Cinegética* hacia 281 d. C. en poemas, del cual se conocen 325 versos (23). Habla del apareamiento, de la cría (selección del número de cachorros), alimentación, adiestramiento y algunas enfermedades de los perros (sarna, rabia) (4): *pues enfermedades tristes y una sarna inmunda les entra muchas veces en las venas y, sin distinción, producen gran estrago en los perros* (24).

Theomnesto (450?-). Hipiatra militar que también hizo aportaciones sobre las enfermedades del perro (6).

Renato Vegetio. Escribió la obra *Vegetti Renati artis veterinariae, sive mulomedicinae libri quator*, posiblemente en el año 500 (6), cuyo capítulo LXXXIV habla de *De canis rabidi morfu* (La mordedura de un perro rabioso).

3^{er} premio

Timoteo de Gaza (s. V d. C.) en su obra *De animales*, el capítulo 26 esta dedicado al perro y trata de varias enfermedades como la podagra (gota) y el absceso tonsilar (4).

Muhammad ibn 'Abd Allah Ibn 'Umar Al-Bayzar.

Astrónomo y cetrero, de origen árabe de la ciudad de Bagdad. Fue uno de los principales autores del siglo IX, escribió **el Libro de los animales que cazan** (Kitab al-yawarih) (3, 18). Hoy solo se conserva parcialmente y se desconocen sus fuentes (24). La traducción latina se hizo en la corte de Federico II de Hohenstaufen (sobre el 1240) y tuvo gran difusión por Europa y una década después (abril de 1250 (31)) se atribuye su traducción a Alfonso X, siendo el primer tratado cinegético en castellano. Tradicionalmente se ha identificado esta obra con el nombre de Moamín. Este libro es de una importancia histórica enorme ya que influyó en varias obras de cetrería del siglo XIV y XV y fue la base de los capítulos que tratan enfermedades de los perros del Libro de la montería (ss. XIII-XIV), el *Livre de l'art de faulconnerie et des chiens de chasse de Guillaume Tardif*, las obras de Juan Vallés (s. XVI), Pedro de Pedraza y Fernando de Hojeda (s. XVII) (18, 24, 31).

Consta de cinco libros. Los tres primeros libros son de cetrería, y los dos últimos libros (libros IV y V) trata sobre perros y otros animales que caçan con sus dientes como leopardos, lobos, cervales, onzas y adibes (18).

En el libro cuarto se habla de la reproducción (*tiempos en que se engendran los canes e cómo los deven criar*), descripción (*conocerlas por facciones quáles son buenas o malas*), nutrición (*quáles cosas les an a dar a comer o cómo las deven ensordecer*), elección y entrenamiento de los perros (*cómo las deven criar e como deven caçar con ellas*) y el último capítulo es de las cosas naturales que disieron los antiguos que fallaron en ellas por provamientos.

En el libro quinto habla de enfermedades: *El I capítulo es de melezinarlos de las enfermedades de los ojos, que trata de nuves en los ojos, nuves viejas, quando lagrimean los ojos, y quando les rescrieban las cuencas.*

El segundo capítulo trata de las enfermedades de las orejas (*quando se ficieren gusanos, quando se les hinchan, cómo las an de melexinar de la sordedad y quando les doblan*).

El tercero trata de las enfermedades de las gargantas (*llagas en los paladares, sangusuelas*).

El cuarto de las enfermedades que an dentro en los cuerpos (*gusanos, dolor de tripas, ventosidades, dissontorie, inchazón, enfermedad que les face mear sangre, e quando los quisieren purgar.*

En este capítulo además habla de la enfermedad de la melancolía *quel dizen ravia*, que ya han tratado en el capítulo V del cuarto libro, donde recomienda tratarla cuanto antes *cátenles los fondones de las lenguas e fallarles an y una landreziella chica que semeja gusano e torna contra blancor e está apogada en las raíces de las lenguas, e quando esto vieren, tómenlos e sáquenles aquellas landreziellas, e con esto mejorarán, si con esto no mejora recomienda darle una medicina a base de plantas, higos y estiércol de las gallinas.*

El quinto de las llagas e de las cietas. El sexto de las *inchaduras e de las pustiellas (que semejan cabeças de priegos), e de las verrugas(o nudos de manera de landres) e de las exidas.*

3^{er} premio

En el séptimo capítulo trata de la sarna. Recomienda *que los fagan estar al sol el día que fizier calentura, después que fueren pasadas las dos oras del día e úntenlos con el azeit, después tomen una melezina quel dizen tyafín e muélanla e échenles de los polvos sobre la sarna. Si con esto no mejoran recomiendan otros tratamientos, así como para que les vuelva a salir el pelo: tomen de las raíces del lilio e muélanlas e mézclenlas con sevo de lobo e después úntenles con ello.*

El octavo de las enfermedades de los artejos y de los dolores de los miembros. Dentro de este capítulo habla del tratamiento de la *paralísia*, que recomienda hacer sangría durante dos días de una vena de las orejas *tanto quanto entendieren que avrán menester.*

Y por último, el noveno es de *melezinarlos de las enfermedades de las rabadiellas.*

La Geoponika (s. X).

La *Geoponika* es una colección de veinte libros sobre agronomía y agricultura escrita en el s. X en Constantinopla (21). Entre un amplio listado de temas, al final se habla de enfermedades de animales domésticos entre ellos los perros (6) y trata de *canis rabidi morfus remedia* (remedios de la mordedura del perro rabioso), *canis scabiosi remedia* (remedios para perros sarnosos), *caninum admissurae tempos* (temporada de cría de los perros), *canun pulices & ricinos perdentia* (las pulgas y garrapatas del perro).

Abadesa Hildegarda de Bingen ("la Sibila del Rhin") (1098-1179) (32). Fue una mujer polifacética ya que cultivó varias ramas del saber como teología, poesía, arte, música, lenguaje, historia natural y medicina. En su libro *Physica* de medicamentos (o libro de la medicina sencilla), trata asuntos de medicina veterinaria por lo que algunos autores la consideran la primera mujer dedicada a la veterinaria. Se fijó en el caballo, asno, buey, oveja, cabra, cerdo y el perro. Describió la rabia canina, estableciendo que la transmisión al hombre era a través de la mordedura por la sed que pasaban los perros. La causa de la rabia la estableció en los cuerpos putrefactos en los que se revolcaban los perros y sugería como tratamiento darles de comer cabezas de alondra mezcladas con su alimento. En general su medicina era una interpretación religiosa del galenismo. Como recurso terapéutico destaca el uso de la sangría y según las patologías utilizaba dieta blanda e inhalación o ingestión de distintas sustancias, plantas o raíces.

Gaston Phoebus (1331-1391), Conde de Foix y vizconde de Béarn. Escribió unos años antes de morir el *Livre de la Chasse* (Libro de la caza), para los jóvenes aprendices de caza. Se compone de cuatro libros con 87 espléndidas miniaturas de impresionante calidad. Uno de los libros trata "sobre la naturaleza y el cuidado de los perros" donde se dan instrucciones a los cazadores en cuanto al entrenamiento, razas y características de los perros. Igualmente habla de los animales salvajes, su comportamiento y biología. En el cuidado de los perros pone de relieve la importancia de la alimentación, limpieza y cepillado del animal, paja y agua limpia así como el estado en general de las perreras (19). La perrera se aconsejaba limpiarla todos los días, proveer de agua fresca dos veces al día y cambiar la paja de la cama de los perros cada tres días. Se aconseja que el criador duerma con los perros para evitar las peleas. Además hay un capítulo extenso sobre las enfermedades de los perros y sus remedios. En la miniatura "el cuidado de los perros" se puede observar cómo unos perros son atendidos de diferente forma. Así, en la parte superior izquierda hay un hombre sentado, ante la atenta mirada de otro, abriendo y examinando la boca de un perro. En otra escena hay un hombre con unas tijeras manipulando una mano. En otra escena de la parte inferior se está poniendo una venda en el muslo, se

3^{er} premio

examina los oídos y en otra, un perro tiene una mano a remojo, para endurecer las pezuñas, mientras se le está curando la otra y en la parte superior derecha de la miniatura se está examinando un ojo a un perro.

Demetrios Pepagonemos, médico, veterinario, naturalista y sabio bizantino griego de Constantino, escribió en el siglo XIII d. C. dos obras fundamentales: *Cynosophion e Hierakosophion* (3). La primera obra trata sobre el cuidado y el tratamiento de los caninos, se tradujo al alemán en 1924 (33), y vuelve a recomendar la extirpación del *gusano de la lengua* para prevenir la rabia (4).

Phaemon (s. XIII) escribe sobre medicina canina, también titulada como la obra de Pepagonemos, *Kynosophion*. Ambas obras tuvieron una gran difusión tanto en griego como traducidas al latín (23).

El rey **Alfonso X** manda la redacción del Libro de la montería (1250) a partir de las obras *Tratado de cetrería* y del *Tratado de las aves que cazan al vuelo* del s. VIII d. C. (3).

El rey **Alfonso XI** (1312-1350) manda escribir el **Libro de la montería** (siglo XIV) que consta de tres libros e incluye treinta y nueve grabados. Se escribió pensando exclusivamente en los monteros, *cumple mucho a todo montero saberlos curar de las heridas (a los perros), pues sin ellos non se puede facer ninguna buena montería*. Como posibles fuentes de esta obra se cita a Alberto Magno, recetas griegas traducidas y muy probablemente contenga partes de lo escrito por Alfonso X el sabio (23). Este tratado tuvo una amplia difusión por la Europa medieval (34) y supuso una importante aportación española al desarrollo de la medicina canina (33).

Los capítulos en los que habla sobre los perros constan de una o dos páginas. A continuación mencionamos los títulos y partes de estos con una muy breve referencia a los tratamientos que son hechos a base de hierbas y emplastos, incluso con alguna interpretación supersticiosa (23).

En el libro primero, el capítulo XXXVIII *habla en qué manera deben facer para haber et criar buenos canes también de sabuesos como de alanos* y en capítulos posteriores de las características que deben cumplir.

El libro segundo (que deriva del *Libro de los animales que cazan* del tratado árabe *Kitab al-yawarib* (13, 31)), se divide en dos partes, la primera habla de las heridas (*llagas*) et *quebrantaduras* de los perros y su tratamiento, y en la segunda parte habla de distintas patologías.

Capítulo I, *de las llagas que son fechas en la cabeza, cual es simple, et cual es compuesta*. A las heridas de la cabeza este libro dedica 7 capítulos y otros tantos para su tratamiento.

Capítulo II, *de la llaga simple que es fecha en la cabeza tan solamente en la carne*. Recomienda retirar y limpiar los pelos de alrededor et *sea cosida tomando bien el cuero*. Describe cómo debe ser la aguja y el hilo y cómo dar los puntos. Sobre la herida recomienda echar unos polvos hechos a base de unas hierbas que adjunta la receta (*fojas de murta, et fojas de encina...*) y sobre los polvos *estopas con vino caliente et sea atado con una faja una vez al día pero si la estopa no se mueve cambiar al tercer día*.

Capítulo III, *de la llaga que es fecha en la cabeza con espada, o con semejante cosa, que taja el cuero et el hueso*. Recomienda comprobar si hay alguna porción de hueso roto y retirarlo y luego obrar como en el capítulo anterior.

3^{er} premio

Capítulo IV, de las llaga de cabeza que es fecha con piedra o palo sin quebrantamiento del tiesto et rompe el cuero. Receta un ungüento a base de miel que se debe de poner dos veces al día y después que la llaga fuere limpia, unos polvos para que creciere la carne.

Capítulo V, de las heridas de piedra o palo que tajante el cuero et quebrante el casco. Recomienda quitar si hubiera algún trozo de hueso roto, no dar puntos y aplicar un aceite rosado dos veces al día.

Capítulo VI, de la llaga que es fecha en la cabeza, non rompiente el cuero et quebrante el casco. Recomienda tirar el cabello del lugar doliente y poner un emplasto del que da la receta y frecuencia de aplicación.

Capítulo VII, de llaga fecha en el rostro con espada o con otra cosa semejante.

Capítulo VIII, de toda llagas simple que sea fecha en toda o cualquier parte del cuerpo.

Capítulo IX, de llaga que salga alguna cantidad del cuero, et de la carne, et caya en tierra. Se trata de una herida compuesta porque son de facer hí dos cosas: la una crecer la carne perdida, la otra encorar.

Capítulo X, de llaga de nervios que son tajados, et fincan descubiertos.

Capítulo XI, de llaga de la garganta de que saliere mucha sangre. Se debe hacer un torniquete en la vena organal con el dedo y luego batir una o dos claras de huevo et sean enderezadas píldoras de estopa para ponerlas sobre la boca de la vena y la herida sea atada con una toca que puede andar unas cuatro veces en derredor en manera que non se pueda desatar.

Capítulo XII, de llaga que sea fecha en los pechos, et pasare adentro.

Capítulo XII, de llaga del vientre de que salieren las tripas fuera. Ante que las tripas sean enfriadas, sean tornadas a su lugar propio, explicando el proceder de cómo hacerlo. Et si las tripas fueren enfriadas, et con ventosidad, sean caldeadas con vino bermejo. Explica cómo suturar todas las capas (son tres cueros en el vientre) habiendo de punto a punto un dedo. Et sean hí echados los polvos que son dichos en la llaga simple.

Capítulo XIV, de llaga que sea fecha en el cuerpo con cuchiello o con cosa semejante et pasare adentro.

Capítulo XV, de llaga que sea fecha en los testículos, et salieren fuera.

Capítulo XVI, de llaga que sean fecha en los brazos o en las piernas, de espada o de cosa semejante, et corta el hueso. Dice que cuando se les quemaren las uñas andan a caza, tomen de la ceniza, et amánsela con de la miel, et pongágelo sobre las uñas.

Capítulo XVII, de jara o de otra cosa que entra en las manos o en los pies a los canes.

Capítulo XVIII, de la mordedura de oso, o de otro venado. Aconseja poner fojas de puerros, majadas con sal por tres días una vez cada día y si no poner cebollas y luego curar con un ungüento.

3^{er} premio

Capítulo XIX, de brocadura que es apretadura de oso, que es quebrantadura cuando lo toma el oso (al perro) et lo aprieta.

Capítulo XX, de quebrantadura de brazo o de pierna con llaga. Explica cómo poner unas tablas que hagan de férulas y la melecina que se ha de poner en la llaga.

Capítulo XXI, de quebrantadura de brazo o de pierna sin llaga.

Capítulo XXII cuando los canes hobieren saña (sarna) de que pierdan el cabello, et finca el cuero bermejo. Explica la fórmula de la melecina que hay que aplicar.

La **segunda parte** del libro segundo tañe en la *cilurgia* (cirugía) de las dolencias de los perros (H). En esta parte las enfermedades no están tan bien definidas como están las lesiones expuestas en la primera parte, ni se menciona las etiologías o síntomas, posiblemente porque el montero prefería recibir tan solo consejos prácticos.

Capítulo I, de los tiempos en se engendran los canes.

Capítulo II, qué deben facer a las perras cuando non puedieren parir.

Capítulo III de lo que deben facer a la perras, con que se alimpien (higienizar, asear) las madres.

Capítulo IV, de lo que les deben facer cuando quisieren que se empreñen pronto.

Capítulo V, de lo que deben facer a los maslos (machos) que non pudieren engendrar et quisieren que se esfuerquen para ello. Dan una medicina denominada *arquintidum* elaborada con pimienta, ruda, azafrán y vino añejo.

Capítulo VI, de lo que les deben facer cuando se les dañe aquel lugar haciendo fijos. Aconseja aplicar ruda con aceite.

Capítulo VII, cosas que deben dar a comer a los canes, et de cómo los deben engordescer porque les pueden guardar de las enfermedades. Recomienda según la época del año pan remojado con agua fría o leche en migas, carne o cecina con aceite, migas en caldo de carne de oveja, pulmones de buey, cabezas de oveja, manteca, dátiles y a los perros viejos huesos o migas.

Capítulo VIII, de la guarda que les deben facer a los canes para guardarlos de las enfermedades.

Capítulo IX, de cómo reconocer a los perros si están alegres cuando se les saca de cacería.

Capítulo X, de cómo lo deben melecinar cuando los sacaren a cazar en tiempo del estio et les ficieren padecer, et sacaren las lenguas et resolgaren aprieta et non fallaren agua. Tratamiento del cansancio tras la cacería (**también en el capítulo XI (I)**).

Capítulo XII, de cómo los deben purgar del acrecimiento de los humores. Aconsejaban dejarlos un día sin comer, luego obligarles a tragar sal molida y una vez purgados, leche y miel.

3^{er} premio

Capítulo XIII, de lo que les deben dar a comer cuando no pudieren verter las aguas (retención de orina). Conviene que les den a comer estiércol de home remojado con leche de cabras et sanarán.

Capítulo XIV, de lo que les deben hacer cuando les mordieren las moscas et los tábanos. Darles de beber un medicamento a base de ruda.

Capítulo XV, de cómo los deben melecinar de las mordeduras de los perros, o si rabiaren por ello. Aconseja untar las heridas con alquitrán y si están rabiosos tomen de las fojas de la ruda, et májenlas, et mézclenlas con aceite et con vinagre et pongángelo sobre las llagas. Da varios remedios más (untar con lana, sebo y miel).

Capítulo XVI, cuando se les quemaren las uña (ceniza y miel), andando a cazar o les hincharen las piernas por correr o por laceria que hayan (vinagre y aceite).

Capítulo XVII, consejos que dijeron los antiguos para que los perros no huyan de las posadas.

Capítulo XX, XXI, XXII cómo los deben melecinar de las enfermedades de los ojos, y de la cuenca de los ojos (capítulo XXIII).

Capítulo XXIV de los gusanos que se les facen dentro en las orejas, **capítulo XXV** (hinchazón de las orejas, otitis, catarro auricular (23)), **sordedat (XXVI)**, y cuando se doblan las orejas (**XXVII**).

Capítulo XXVIII enfermedad que les acaece en las foetas, en las gargantas, heridas en el paladar (**XXIX**) y del hueso que se les traba en la garganta (**XXX**).

Capítulo XXXI de los gusanos que se les facen dentro en los cuerpos (cuerno de ciervo quemado y molido con miel), dolor de tripas (**XXXII**), enfermedades de dentro del cuerpo o en las hijadas (**XXXIII**), disentería (**XXXIV**) (dar queso de oveja añejo), e hinchazon en el fondon de los vientres (**XXXV** y **XXXVI**).

Capítulo XXXVII, cómo los deben melecinar de la malenconía, quel dicen rabia.

Capítulo XXXVIII, cuando echan sangre por aquel logar do facen fijos (que les face mear sangre).

Capítulo XXXIX medicamentos para purgarlos (leche de cabra, et únteles los ombligos con fiel de buey; o tomen de los renascuajos de los rios).

Capítulo XL, medicación de heridas y grietas (varias pociones a base de vinagre o miel).

Capítulo XLI, medicación de la hinchazón por postrellas (también en **capítulo XLII**), o por llagas.

Capítulo XLII verrugas et de los nudos, veruelas (**XLIII**) y exidas (**XLV**).

Y con el tratamiento de la sarna (**XLVI**), se acaba el segundo libro. En el libro de Maomín, del que copia literalmente parte del texto, en lugar de tener el perro dos horas al sol, el texto dice *dos partes del día* como única diferencia. El tercer libro y más extenso, se puede atribuir en gran medida al propio Alfonso XI (13).

3^{er} premio

El libro **The noble art of venerie or hunting** de **George Turberville** (1540-1610) es considerado por algunos autores uno de los primeros libros que tratan con seriedad la medicina de los perros de caza (6).

Libro de cetrería y montería de **Juan Vallés** (1556). Manuscrito compuesto de seis libros que recoge y critica lo escrito con anterioridad. Incluye temas de montería basados en varias obras como el libro de la montería del rey Alfonso, Gastón Febos y probablemente del Libro de montería de Juan I de Portugal.

Al final del libro trata cómo matar las pulgas (capítulo XIII), de cómo purgar a los perros para que tengan más vientos y estén sanos (XVIII), de *la rauia* del perro (XV) *la peor y mas peligrosa porque despues de confirmada ningun remedio natural tiene, sino sea sobrenatural que es por via de deuociones o por gracia de los saludadores*. Aquí da dos remedios que es quitar y arrancar el nudo de la cola y el gusano o nervio que tienen debajo de la lengua.

Continúa con las heridas de los perros en la cabeza (XVI), cuerpo (XVII), en la boca (XVIII) y en los ojos (XIX), de las nubes y otros males de los ojos (XX), de llagas en muchas partes del cuerpo (XXI) y en los genitales (XXII), fracturas (XXIII y XXVIII), caídas y golpes (XXV), hinchazones (XXVI), *del perro que no puede mear* (XXVII), y de huesos en la garganta (XXVIII).

El capítulo XXIX trata de la sarna que hay cuatro formas de contraerla. Una por contagio *que si uno la tiene, luego se pega a todos los que con el andan*. La otra es de vejez y esta no se puede curar. La otra es de tenerlos atados y hazerles dormir sobre la tierra y polvo. La última es de no darles de comer.

Continúa hablando de gusanos o lombrices (XXX), cuando se *despean* y se les hacen llagas entre los dedos (XXXI), de cómo refrescar al perro cuando está muy caluroso (XXXII), cómo quitarle el cansancio *para que pueda caçar el día figuiente* (XXXIII), cómo hacerle vomitar si ha ingerido un veneno (darles las tripas calientes de una gallina recién muerta) (XXXVIII), y de cómo hacerles engordar (XXXV).

Continúa con unas páginas dedicadas al hurón y termina con un listado de nombres y vocablos de medicinas que han aparecido en el libro ordenadas alfabéticamente en la que da una pequeña explicación como por ejemplo: *Alcohol o piedra de alcohol, en latín se llama Antimonium*.

Los **diálogos de la montería** de **Barahona de Soto** (1548-1595), es un libro escrito en forma de diálogo y hacía el final del mismo trata *de las enfermedades que suelen padecer y cómo se han de curar para que por descuido no se pierdan después de haber gastado tiempo y trabajo en amaestrallos*.

Para la sarna *que suele fatigallos mucho y quitalles gran parte de su valor aconseja tomar la hierba belesa majada con sebo de macho y hecha una pella, y se untarán los perros con ella y los pondrán al sol*. Si esto no funciona lavarlos tras cocer cogollos de adelfa; *suele también hacelles una lombricita blanca debajo de la lengua que recomienda descarnar con un alfiler o aguja y tirar hasta sacalla toda*.

Para la picadura de víboras, escorpiones y musgaños, les aconseja *llevarse su triaca de la fina que suele importalles la vida; y más si llevase una agujeta cervuna que atándola sobre la picadura no pasa la ponzoña adelante*. A continuación aconseja pinchar la hinchazón con cardo setero que es *de maravillosa eficacia*.

3^{er} premio

Termina dando unos consejos para evitar el engaño a la hora de comprar un perro no den uno viejo por uno joven.

Libro de Montería de Pedro Pedraza Gaitán (siglo XVII). Es un manuscrito dividido en cuatro partes o tratados. En varios capítulos del tratado segundo, explica cómo se han de criar y las características que han tener los *fabueffos* y los *alanos*.

En el tratado cuarto habla *del conocimiento de rauia de los perros y fu cura y de otras enfermedades*, así como de los caballos de campo. *No sera de menos importancia conocer quando el perro ehta con rabia que todo quanto se dicho pues no va menos que la vida en saberlo y su cura con las de mas enfermedades*. Tras comentar cómo deben ser las características de los caballos para una buena caza continúa hablando de la rabia.

La rauia en los perros siempre o las mas vezes les viene por la mucha sed y el calor que padecen (...) que les deseca y requema la sangre. Describe los síntomas de la rabia diciendo: *Quando el perro huye de su propia sombra como espantándose Della*, el que huye de su amo sin causa, si no lo reconoce, si anda cabizbajo y con las orejas caídas, ojos encendidos, no quiere comer, el ladrido es ronco huye al enseñarle el agua y *va hechando espumaxos por la boca es senal de rauia*. *Quando el perro tuuiere la rauia confirmada con hecharle agua encima (...) morira dello*.

Da los **Remedios** para que nunca el perro tenga rauia fino fuere mordido de otro, así como los remedios para tratar diferentes enfermedades tanto del perro como del caballo. En un primer capítulo habla del tratamiento para las pulgas (lavarlo con agua cocida con flor de veneno o su hierba verde).

El capítulo II de *Remedios* lo dedica *contra gusanos y sarna de los perros es cosa importante tomar una caueza de carnero y cocerla muy bien en agua y mezclar en efte caldo un poco aciuar y darselo a ueuer y sanara de lo uno y de lo otro*.

En el capítulo III vuelve a tratar la sarna cociendo *vedegambre quebrantandola y tiuia lauarlos al mayor sol...y no los dejen lamer porque se moriran*. Recomienda lo mismo con otras cocciones como la adelfa o las nogueras.

En el capítulo VII habla del tratamiento de la sordera *si fuere de frio con la hiel del buey y ojas de la hedra o zumo de los asensios amargos*.

El capítulo VIII habla de la purga de los perros *que engordan estando flacos dandles leche de cabras y untandoles los ombligos con hiel de buey y tomando renaquaxos de los arroys fecos*. *Purgan de todos los umores teniendolos un dia fin comer y después hecharles fal molida en la garganta...despues que fueren purgados denles miel y leche*.

Para purgar los perros de la cueza y quitarles el dolor della, fe haze con el zumo de las ojas de la hiedra hechanles quatro o feys gotas por cada ventana de las narices y es admirable remedio.

El capítulo IX habla de la enfermedad de la orina de los perros *y no pudieren orinar den les acomer el eftiercol de hombre remojado rehecho con leche de cabras y fanara luego*. Para los urolitos recomienda la goma de la hiedra hecha polvo con leche de cabra.

3^{er} premio

El capítulo XI trata las manos o pies de los perros *que les hiriere porque se le entrare xara u otra cosa en las manos y no fe le quedare dentro le curan lavando la herida con uino...y si lo que entro en el pie no saliere feale puesto caracoles cocidos y majados con manteca de bacas y con eso efto saldra la espina.*

El capítulo XII *para las sanguijuelas que no se sueltan de la garganta de perro o persona fe le caera con atarle al cuello una corteza de toruisco o ponerle una farta de caracoles.*

El capítulo XIII cura el hueso atravesado en la garganta poniendo aceite, apretando la boca, bajando la cabeza contra el pecho hasta que se queje y lo eche.

El capítulo XIV de la herida del vientre que *falieren las tripas*, aconseja introducirlas y suturar la herida.

Capítulo XV de la *quebradura de brazo o pierna*, aconseja entre dos personas estirar el miembro y recolocar los huesos en *fu propio lugar y en la forma que antes los tenia*. Si la herida es abierta se reintroduce el hueso. Luego se cubre la extremidad con vendas empapadas con claras de huevo muy batidos con polvos de rosa y se entablilla.

En los últimos capítulos da consejos para aparear sabuesas *cuando se quiere*, qué hacer cuando *no pudieren parir* (hacer beber violetas cocidas en agua), para quitar el dolor y *quebrantamiento que viene de trabajar* (poner un emplasto de zumos de asensios amargos con cominos y miel sobre el cuello). Termina con el capítulo XX que trata tanto al sabueso *cuando se rendiere* del trabajo, aconsejando para ello lavarlos con el *cocimiento de la hierua artemisa y sentira notable aliuió*. Parecido tratamiento da para el montero en iguales circunstancias.

Delabere Pritchett Blaine (1768-1845), veterinario inglés, publica en 1800 su ***Concise description of distemper in dogs*** y 1817 el libro *Canine Pathology*, que se tradujo al francés, alemán e italiano (35). Junto a **William Youatt** (1776-1845) impulsaron las clínicas de pequeños animales en Gran Bretaña (6). El mayor interés de Youatt fue la rabia canina y en 1830 publicó ***On canine mandess***, donde afirmaba que el virus de la rabia se limita a la saliva (36).

Los albéitares y la atención de los perros

Por todos los historiadores es admitido que nuestros antecesores los albéitares, se dedicaban a tratar las enfermedades de caballos, mulos y asnos (5, 37) (y en casos contados, ya en el siglo XIX, también a la inspección de carnes (38)), desentendiéndose de las enfermedades de los perros (33). Es difícil imaginar que un labrador gastara dinero en tratar a un perro en la edad media. Solo se ha registrado que los albéitares del rey Juan I de Aragón (El cazador), cuidaban de sus perros enfermos y heridos (16). Sin embargo, la revista *El Albéitar* (de la cual solo se conservan los números de los dos primeros años, 1853 y 1854), se afanaba en demostrar que los albéitares también estudiaban otras especies animales como rumiantes, cerdos, aves y perros (10, 39). Y así lo defendía en un artículo (40): *con las citas que ha hecho el albéitar en defensa de la clase de tratados originales del buey, del carnero, del perro y otros animales*, según ellos demostraban que *la Albeitería* no trataba solo el caballo y sus especies.

Con respecto al perro, en el nº 2 de *El Albéitar* (41), se trata el asma del perro, pero se puede decir que este artículo no era original ya que seguía la estructura y copiaba texto del tratado de Nicolás Casas (42) que se describe más adelante. En un artículo que acusaban a los albéitares de ser solo

3^{er} premio

hipiatras (43), contestaban que en el *Novísimo Cabero* de 1889 (44), se trata por ejemplo de la sarna sobre todo en el perro, en la página 204 se ocupa de la rabia y enseña a los albéitares el método que deben seguir cuando se les presenta un perro ó gato, ó un animal de otra cualquiera especie. En la página 212 trata extensamente del moquillo, enfermedad exclusiva de los perros jóvenes. En la página 312 trata de la otitis o inflamación de la membrana del tímpano, y se ocupa particularmente del perro. Además describe la blenorragia (aunque es muy rara), el etropión [sic] más particularmente en el perro, fracturas, inversión de la mucosa vaginal, castración, y cómo realizar la sangría de todos los animales. Sin embargo, este *Novísimo Cabero* la escribió D. Guillermo Sampedro catedrático de la Escuela de Madrid y en el prólogo del editor, dice que se hizo tanto para el veterinario como para el práctico menos instruído del campo o aldeas donde suele haber escasez o falta de personas peritas. El *Novísimo Cabrero*, se llamó así en tributo a la memoria de *Las Instituciones de Albeitería* de 1740 escritas por D. Francisco García Cabero, el autor con más fama y popularidad entre los tratadistas de albeitería, que contribuyó a formar durante un siglo a los albéitares (5). Con anterioridad, en 1822, ya había salido una ampliación de *Las Instituciones de Albeytería* considerablemente corregidas por D. Agustín Pascual, profesor de la Escuela Veterinaria, en la que trataba el moquillo (45).

Nicolás Casas (1801-1872). Eminente figura de la veterinaria española, catedrático y director de la Escuela de Veterinaria de Madrid y director de la primera revista profesional veterinaria española: *El Boletín de Veterinaria*. Nicolás Casas en su tratado **Enfermedades de los ganados, perro [sic], aves y abejas** de 1842 (42), reconoce que *hasta hace poco tiempo ha estado descuidado el estudio de las enfermedades del perro*, y en España fue quien defendió y animó para que se produjera la especialización de la medicina canina (33). En este tratado Casas habla y describe profusamente los distintos estadios con sus síntomas de las enfermedades más comunes que son el moquillo, la rabia y la sarna.

Del moquillo comenta que todo el mundo cree tener *una receta, un secreto, un específico para tratar el moquillo*. Comenta varios tratamientos supersticiosos de cazadores, pastores y dueños como *poner el cuello un collar de esparto crudo con corcho; extraer una cosa que el vulgo cree ser un gusano que perro tiene debajo de la lengua, error el mas generalizado y el mas absurdo y que es anterior a Plinio*. El tratamiento dependerá de la fase clínica, desde una dieta, *inyecciones por las narices del cocimiento de malvas y malvavisco, pero sin atormentar al animal*. Si se desarrolla *calentura* (también para toses y respiración difícil), *se harán una o más sangrías generales, jarabe de ciruela negra o de ruibarbo solo o con leche o ya dos o tres onzas de aceite de ricino*. Para otras fases recomienda aplicar sanguijuelas y sedales tanto en el cuello como detrás de las orejas.

De la rabia, describe los síntomas según las fases reconociendo que *una vez declarada la rabia no hay nada que pueda curarla y cuantos específicos se han inventado han sido infructuosos y muy perjudicial el darles una ciega creencia*. Comenta que no se conoce su etiología pero páginas más adelante al hablar de los venenos habla de venenos animales y cita al *virus rábico*.

De la sarna, a veces *de origen hidiopático (sic) y otras de contagio*. Aconseja entre varios tratamientos untarlos con una mezcla de aceite y azufre, tratamiento que aún se hace en países pobres o sin medios. También advierte que muchos remedios caseros *tales que zumo de limón y polvora que no hacen mas que prolongar el mal, sino le empeoran*.

De las lombrices, *la tenia es la mas dañosa y difícil de expulsar. La constitución de muchos perros parece muy favorable al desarrollo de las lombrices*. Como tratamiento cita varios como *la leche y el*

3^{er} premio

hollín, aceite empireumático, limaduras de hierro, antimonio en polvo pero los áscaris se destruyen bien con lavativas en que se eche trementina y acibar. Contra la tenia el mejor remedio es el agua ras a la dosis de dos, tres ó cuatro dracmas, según la alzada y edad del perro, que se dará por algunos días en yema de huevo.

Posteriormente trata las enfermedades que afectan al tubo digestivo vómito, inflamación del estómago (*convienen las sangrías y sanguijuelas desde el principio*), de los intestinos (*lavativas de agua de maval y raíz de malvavisco*), diarrea, inflamación del hígado e hidropesía (que le dedica más texto). Del sistema respiratorio habla de pulmonía y asma. Continúa con reumatismo y parálisis conjuntamente (que las considera muy frecuente), *despeadura*, bocio (*tumor de garganta*), escirro en las tetas (*en algunos casos reducen buenos resultados las sanguijuelas y ventosas*) y en los testículos, cáncer de la oreja (otitis, otohematoma), enfermedades del ojo, de los párpados, viruelas, *orinamiento de sangre*, luxaciones y fracturas, de los venenos, del modo de quitar las pulgas (*el que mejor efecto ha producido es ponerles una cama de virutas finas y frescas de pino resinoso, cambiándolas todas las semanas, así como baños de agua tibia y luego en uno con azufre*), de los reznos o garrapatas. Y terminan explicando cómo medicar (*es menester que el ayudante no sea miedoso, sino atrevido y diestro*) y sangrar a los perros.

En 1843 se tradujo al español una versión francesa del libro del veterinario inglés Francis Clater (1756-1823), **El cazador médico o tratado completo sobre las enfermedades del perro** (18). En 183 páginas se explicaba sin tecnicismos las dolencias caninas para que el propio cazador pudiera tratarlas. Los tratamientos siguen siendo sangrías, dietas, ejercicios y purgantes, a través de 46 recetas y forma de administración. El autor inglés otorga al moquillo naturaleza contagiosa aunque al traductor español le parece quimérico.

La **Revista El Boletín de Veterinaria** (1845 a 1859).

En ella se exponían avances científicos, mejoras profesionales, novedades legislativas y artículos de opinión (10). Los artículos exclusivos de medicina canina eran una franca minoría. En los primeros cuatro años solo se publicaron cinco artículos sobre medicina canina (gastrotomía, efectos de la corteza de granada contra la tenia, meningitis crónica, nuevo modo de reconocer la rabia, superfecundación), uno en 1851 (filaria hematozoaria) y ninguno en los años 1846, 1852 y 1859.

El tema más tratado era el de la rabia dada su alta incidencia en el s. XIX. En España se dio la figura u oficio de los saludadores, "que daban salud" aplicando saliva y echando el aliento a las personas o perros afectados de rabia (desde finales de la Edad Media hasta principios del siglo XX) (46, 47). En Madrid el gremio de traperos se dedicaba además de proporcionar cadáveres para diseccionar en la Escuela de Veterinaria, de eliminar de las calles la multitud de perros sueltos y abandonados (48). Nicolás Casas en su libro de epizootias (49) afirmaba que se producían *demasiados males por los muchos perros que andan errantes por las calles y por no observar sus dueños las órdenes de la municipalidad* (entre otras, ir con bozal desde marzo hasta últimos de setiembre (ya que se daban más casos de rabia en mayo y septiembre), y llevar un collar con los datos y dirección del dueño).

En los años 1853, 1856 y 1858 se publicaron dos artículos por año con el tema de la rabia. Así en 1850 (se publicaron 3 artículos, todos sobre la rabia), daban como remedio *la decoccion de la corteza de la raíz del Almezo, fresca o seca, en polvo o triturada, bebida por la mañana en ayunas y por la tarde*

3^{er} premio

después de sis horas pasados desde la última comida, durante nueve días, se descansa durante otros nueve y se vuelve a tomar por el mismo tiempo, y así alternado cuarenta y cinco días) (50). En 1853 el tratamiento publicado fue uno con corteza de almezo y otro a base de raíz de lirio con grasa de ballena o manteca mezclado con huevos. A este tratamiento el director de la revista Nicolás Casas dice: Lo seguro tal vez será, que a este específico le suceda lo que a los demás, a pesar de lo que de él se cuenta. (51).

En 1854, se publicaron 3 artículos, uno de ellos versaba sobre los casos de rabia en Europa donde afirmaba que las causas *no están en la actualidad mejor conocidas que hace un siglo (52)*. En 1855 (se publicaron 4 artículos), el referido a la rabia era sobre el pretendido gusano en la lengua del perro. En este artículo se comenta que en Italia la extirpación del pretendido gusano es todavía una práctica entre *ciertos empíricos con objeto de curar al perro de algunas enfermedades sobre todo el moquillo*. Comenta que esta operación es propia de charlatanes *que sorprenden a la gente ignorante y amiga de lo fabuloso (53)*. Sin embargo en Inglaterra, donde se publicó el libro *The dog* en 1845 no aparecía como tratamiento ni se nombraba al gusano *de debajo de la lengua*, en cambio se aconsejaba un potente emético para el tratamiento del moquillo (54).

En el año 1856 se publicaron dos artículos uno de *los pocos progresos que se han hecho en el tratamiento de la rabia*. Un periódico de Lyon publicó una tratamiento para las personas y animales mordidos publicado en 1733 que consistía en una famosa tortilla con raíz de escaramujo que todavía el vulgo lo aplicaba (55). Y el segundo artículo sobre las medidas preventivas contra el desarrollo de la rabia, donde se aconsejaba que el gobierno estudiara la instauración de un impuesto a los perros, sobre todo a los de lujo (56).

El último remedio contra la rabia publicado en *El Boletín* fue en 1858 (57) que se decía que existía un remedio eficaz que consiste en *unas píldoras hechas con ciertas plantas y un polvo de un gris verdoso*. Comenta que *es presumible sea confeccionado con la cetonia dorada (un insecto) designada hace ya mucho tiempo como específico contra la hidrofobia*.

El resto de artículos publicados en los 14 años hablaban de tubérculos, catarro auricular, bronquitis, parto y curación de la sarna (*purgando con el áloes o el sulfato de sosa en ayunas y luego fricciona con el aceite de enebro (58)*).

Libro **Tesoro de los perros de caza**. Obra recopilada por una Sociedad de cazadores, editada en Madrid en 1864. En opinión de Sanz Egaña, todavía los cazadores se seguían preocupando por las enfermedades de los perros porque el veterinario no lo hacía (33). En la segunda parte, *de las enfermedades de los perros y de la manera de curarlas, dice que la mayoría provienen del abandono en que se los tiene y de la manera de alimentarlos y trata de las enfermedades que no exijan absolutamente la presencia del albéitar y que cualquiera puede curar por si mismo. En las demás enfermedades es indispensable la presencia del albéitar porque exigen un tratamiento mas complicado y difícil*. Hay que recordar que en la segunda mitad del s. XIX, la sociedad, sobre todo en el medio rural, siguió llamando al veterinario, albéitar (10).

En realidad este libro coge la información del tratado de Nicolás Casas de *Enfermedades de los ganados, perro, aves y abejas*, del que copia literalmente varios fragmentos y sigue la filosofía del libro de Francis Clater (18) de explicar de forma sencilla las enfermedades para que el propio cazador sea

3^{er} premio

capaz de tratarlas. Entre otras enfermedades habla del moquillo (*el principal asiento de esta enfermedad reside en el estómago y se le puede arrojar por medio de vomitivos y de los purgantes*), encorvadura (*esceso de fatiga*), sarna, usagre (*no confundir con la sarna*), heridas, rabia (*son muy propensos los perros*), pulgas y garrapatas, lombrices, etc. y de cómo purgar (*con una onza de maná con un puñado de sal y encima agua de grama*), sangrar (*a cosa de dos pulgadas del corvejón*) y medicar a los perros.

En el tratamiento del moquillo se atreven a rectificar y corregir a los veterinarios a la hora de poner un sedal en el pescuezo, como parte del tratamiento, *pero no como acostumbra los veterinarios, sino de la manera siguiente...* y por si fuera poco mencionan un nuevo remedio que consiste en que el animal se trague una o dos ranas vivas *nosotros no podemos responder de los efectos porque no hemos tenido ocasión de ponerle en práctica*.

En el caso de los remedios contra la rabia también difiere del texto de Nicolás Casas y así, entre otras medidas recomienda purgarles de forma preventiva, *no dejarlos expuestos a los rayos del sol ni al calor de la lumbre* y una vez contraída la enfermedad *como es incurable, lo que debe hacerse es matarle al instante ó bien encadenarle sólidamente* hasta que los síntomas no sean dudosos.

DISCUSIÓN FINAL

Durante la mayor parte de la historia veterinaria se ha dedicado poca atención al perro (11). Será en la Edad Media con los libros de ceterería y montería, cuando surja un aumento de los tratados de las enfermedades del perro y los monteros harán de su cuidado un oficio (13, 16, 33).

En España a principios del siglo XIX, los pocos veterinarios que trataban al perro lo hacían con desdén *sin otro motivo más que una triste vanidad* (7). La llegada del ferrocarril y el motor de explosión provocó el fin de la era de los caballos. El mejor nivel de vida, el auge de las ciudades y el control de la rabia, hizo posible que además del perro pastor o de caza, surgiera el perro de compañía en sus diferentes razas con una mayor demanda de cuidados. Todavía en 1842 nos preguntábamos que *si hay libros escritos de arte veterinaria para curar á caballos, bueyes y carneros que cuestan mucho menos ¿Por qué no lo ha de haber para los perros* (18)? A partir de aquí se dará un despegue lento pero imparable de la medicina canina en nuestro país (6).

En la actualidad el 69.3 % de los veterinarios de Valencia se dedican a clínica de animales de compañía y solo un 1.6% a la producción animal (59). A nivel nacional, existe una saturación de centros veterinarios dedicados a los animales de compañía (60).

VALE.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Pergamino, G. Palitta, G. Caballos en la guerra. Ed. Tikal.
- 2) Raulff, U. Adiós al caballo. Historia de una separación. Ed. Taurus, 2018.
- 3) Allué, V. El largo viaje euroasiático de la veterinaria antigua y medieval. Información Veterinaria, abril-mayo 2014, 32-34.
- 4) Cinta, M. Historia de la veterinaria grecorromana. Discurso leído el 8 febrero de 2010. Instituto de España Real Academia de Ciencias Veterinarias.

3^{er} premio

- 5) Sanz, C. Historia de la Veterinaria Española. Ed. Espasa-Calpe, SA. 1941.
- 6) Lafuente, J. Vela, Y. La veterinaria a través de los tiempos. Ed. Servet. 2011.
- 7) Dualde, V. Las recopilaciones bizantinas de la veterinaria Griega: La Hippiátrika. Inf Vet abril 2008, págs. 21-24.
- 8) Dualde, V. Historia de la Albeytería Valenciana. Ed. Ayuntamiento de Valencia, 1997.
- 9) Pérez, J. M. Antecedentes históricos de la veterinaria en el ejército. Los Mariscales. En: Temas de Historia de la Veterinaria. Ed. Universidad de Murcia, 2000. págs. 233-240.
- 10) Viadel, L. Guerra fratricida entre veterinarios y albéitares vista a través de las revistas especializadas del siglo XX. Premio Juan Morcillo Olalla 2018 del Colegio de Veterinarios de Valencia.
- 11) Zorita, E. Naturaleza y Sentido de la profesión veterinaria , I parte. Inf Vet nº2 (marzo), 2003; págs. 4-7.
- 12) Salvador, A. El inicio de la veterinaria española. De la ilustración al liberalismo. Tesis doctoral, Cáceres, 2013.
- 13) Fradejas, J.M. Los libros de caza medievales y su interés para la historia natural. Arbor, 193 (786): a413. 2017.
- 14) Del Pino, J. L. Caza y cazadores en la castilla bajomedieval. Meridies, III, 1996, pp. 89-118.
- 15) Olmos de León, R. Medicina animal en la baja edad media hispánica y su relación con la medicina humana: aves, perros y caballos. Anuario de estudios medievales, 43/1, enero-junio 2013, 199-242.
- 16) Ferragud, C. La atención médica de los animales durante la baja Edad Media en los reinos hispánicos. Medievalismo, 21, 2011, 29-54.
- 17) Tratado de Montería del siglo XV. Manuscrito del Museo Británico publicado y anotado por el Duque de Almazán. Madrid.
- 18) Textos clásicos. Archivo Iberoamericano de Cetrería. www.aic.uva.es/clasicos.html
- 19) De Juan, L. F. La Medicina canina en la Historia. Rev. Animales de Compañía (16) nº 183.
- 20) Hitos de la historia veterinaria. Lab. Elanco.
- 21) De la Villa, S. La veterinaria en los tiempos antiguos y modernos e intervención que dicha ciencia ... Revista Veterinaria de España, Vol XIII, núm 1-2, enero-febrero 1919, pág. 13-46.
- 22) Cinta, M. Vives, M. A. Uno, dos, tres...¿De cuántos Hipócrates hablamos? Inf Vet nº2, 2017, págs. 34-37.
- 23) Sanz Egaña, C. Noticias acerca de la medicina de los animales en la España cristiana de la Edad Media. X Congreso Internacional de Historia de la Medicina, Madrid 23-29 septiembre de 1935.

3^{er} premio

- 24) Motoya, M. Algunas fuentes del libro Moamín. Actas III Congreso de la Asociación Hispánica de Literatura Medieval. Salamanca, 3-6 octubre de 1989.
- 25) Hiepe, T. Aspöck, H. Resumen Histórico. 4, 59-63. En: Hiepe, T. Lucius, R. Gottsetein. Parasitología general. Ed. Acribia. 2006.
- 26) Ross, W. D. Aristóteles. 2º Ed. Charcas Buenos Aires. 1923.
- 27) Berríos, P. Aristóteles y las enfermedades de los animales. Universidad Andrés Bello.
- 28) Camps, J. Lo que el hispano romano Lucio J. M. Columela describió sobre perros en su obra "De re rustica". Visto por un veterinario. XI Congreso Nacional de Historia veterinaria, Murcia 2005, 319-326.
- 29) Los doce Libros de Agricultura que escribió en latín Lucio Junio Moderato Columela traducido al castellano por D. Juan María Álvarez de Sotomayor y Rubio. Tomo I. Madrid 1824.
- 30) Tratado de Caza Oppiano. Cynegetica. Patrimonio Ediciones. 2002.
- 31) Fradejas, J. M. La originalidad en la literatura cinegética. Epos: Revista de Filología, 2, 75-88. 1986.
- 32) Mencía, I. Rodríguez, N. Sánchez de Lollano, J. Edad Media y Veterinaria: la peculiar obra de la abadesa Hildegarda de Bingen. Información Veterinaria. Dic 2007, 29-32.
- 33) Sanz, C. La Cinoatrica. Ciencia Veterinaria Boletín, nº 191, 10 agosto de 1947, págs. 351-353.
- 34) P. Dennis. El libro de la Montería de Alfonso XI: Nuevos manuscritos, nuevas fuentes. Revista de Filología Española, vol. LXVI nº 3/4 (1986).
- 35) Barber-Lomax, J. W. Delabere Pritchett Blaine: a biographical note. J Sam Anim Pract. Vol 2, pp 135-136. 1961.
- 36) Vivash, B. Small animal practice- the first specialists. Veterinary practice, 1 may 2017.
- 37) Lleonart, F. Literatura veterinaria española en la Edad Media. Terap y Vet Biohorm, nº 32, 1975. págs. 232- 244.
- 38) Viadel, L. El último albéitar según el anuario de Baylly-Baillièrè. ICOVV, 2019.
- 39) Gutiérrez, J. M. La configuración de la veterinaria decimonónica frente a la albeitería: un proceso lleno de conflictos, y no el desarrollo de una esencia. XVIII Congreso Nacional y IX Congreso Iberoamericano de Historia de la Veterinaria. Santander, 4-6 octb 2012.
- 40) Prospecto. El Albéitar nº 25, 16 de febrero de 1854, pág. 1.
- 41) Pares, J. Asma. El Albéitar nº 12, 27 de julio de 1853, págs. 2-3.

3^{er} premio

- 42) Casas, N. Tratado de las enfermedades de los ganados, perro, aves y abejas. Madrid, 1842.
- 43) Mártir, P. Sección orgánica. El Albéitar nº 5, 12 de abril de 1853, págs. 2-4.
- 44) Sampedro, G. Novísimo Cabero o Instituciones de Albeitería arregladas a las ideas modernas. Ed. Librería de "La enseñanza". 1889.
- 45) Pascual, A. Instituciones de Albeytería...considerablemente corregidas por D. Agustín Pascual, Madrid, 1822, págs. 86-87.
- 46) Poza, P. Los saludadores y su actividad en España. Inf Vet, sept 2012, págs. 24-26.
- 47) Poza, P. La prensa histórica como testigo de la rabia y la actividad de los saludadores. Inf Vet, may 2013, págs. 22-24.
- 48) Poza, P. El gremio de traperos y la Escuela de Veterinaria de Madrid. Inf Vet nº3, 2018, págs. 48-51.
- 49) Casas, N. Tratado completo de las epizootias en general y particular. 1846, Tomo II, pág. 251.
- 50) Sampedro, G. Medicina General. El Boletín de Veterinaria, nº 125, 15 marzo 1850.
- 51) Casas, N. Valga por lo que valiere. El Boletín de Veterinaria, nº 125, nº 236, 20 julio de 1853.
- 52) De la rabia durante los años 1852 y 1853; por el catedrático Weiss. El Boletín de Veterinaria, nº 284, 20 de noviembre de 1854.
- 53) Casas, N. Del pretendido gusano o apéndice fibro-cartilaginoso de la lengua del perro. El Boletín de Veterinaria, nº 315, 30 de septiembre de 1855.
- 54) Carter, H. E. Ascenso y caída del moquillo canino. Veterinary Internacional, Vol 4, nº 3, 1993.
- 55) Tratamiento de la rabia. El Boletín de Veterinaria, nº 331, 10 de marzo de 1856.
- 56) Medidas preventivas contra el desarrollo de la rabia. El Boletín de Veterinaria, nº 348, 20 de septiembre de 1856.
- 57) Casas, N. Nota relativa a la curación de la rabia. El Boletín, nº 396, 15 enero de 1858; págs. 26-29.
- 58) Casas, N. Curación de la sarna en el perro. El Boletín de Veterinaria, nº 284, 20 de noviembre de 1854.
- 59) Plan estratégico 2022. Objetivos estratégicos y enfoque basado en una actitud de anticipación frente a los cambios del entorno. Ed. ICOVV. 2019, pág. 11.
- 60) Conclusiones sectoriales del Congreso. 1er Congreso Nacional de la Profesión Veterinaria. Murcia 10-11 mayo 2019. Inf Vet Especial Primer Congreso, pág. E23.



PREMIOS
ICOVV

ILUSTRE COLEGIO
OFICIAL DE
VETERINARIOS
DE VALENCIA

CATEGORÍA FOTOGRAFÍA VETERINARIA

1^{er} premio

PRIMER PREMIO

Navegando

Autores: Belén Cuervo Serrato (1989), Aloma Tadea Mayordomo Febrer (2094) y María del Mar López Murcia (1318).

1^{er} premio

Navegando



2º premio

SEGUNDO PREMIO

Real food en tiempos de Covid-19

Autor: Elena Vargas Peñarroja (2708)

2º premio

Colegas



3^{er} premio

TERCER PREMIO

Pánico en el prequirófano

Autora: Laura Vilalta Solé (2784)

3^{er} premio

Pánico en el prequirófano

