



AVANCES EN CIENCIAS VETERINARIAS

ULISES VERGARA CASTILLO
DIRECTOR

COMITÉ EDITOR

EDMUNDO ACEVEDO
Facultad de Ciencias Agronómicas

MICHEL LEPORATI
Ministerio de Agricultura

CONSUELO BORIE
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

VÍCTOR MARTÍNEZ
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

MARÍA ORFELIA CELEDÓN
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

VÍCTOR HUGO PARRAGUEZ
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

TOMISLAV CURKOVIC
Facultad de Ciencias Agronómicas

WALTER SIERRALTA
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos

GUILLERMO FIGUEROA
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos

PEDRO SMITH
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

FERNANDO FREDES
Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias

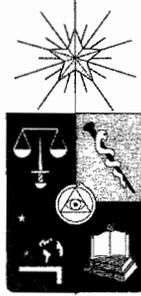
FERNANDO VIO
Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos

REPRESENTANTE LEGAL
HÉCTOR ALCAÍNO CONTADOR
Santa Rosa 11735. Casilla 2, Correo 15
Santiago, Chile

Decreto Universitario N- 001850, 1983

Autoridades de la Universidad de Chile
Rector VÍCTOR PÉREZ V.
Prorector JORGE LAS HERAS B.

Secretaría de la Revista
Carmen Gloria Lagos
Marianne Leporati
ravsvet@uchile.cl
posfavet@uchile.cl



AVANCES EN CIENCIAS VETERINARIAS

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
SANTIAGO - CHILE

Avances en Ciencias Veterinarias (Av. Cs. Vet.) es una publicación semestral destinada a difundir la Medicina Veterinaria, las Ciencias Animales, de los Alimentos, Genómica y Salud Animal, Acuicultura, Bioenergía, Cambio global y Biodiversidad. Con este fin publica Trabajos Originales de Investigación Científica, Artículos Generales, Casos Clínicos, Notas Técnicas, y Comunicaciones Preliminares. Los Artículos Generales serán solicitados por el Comité Editor. Ocasionalmente se publicarán resúmenes de tesis, resúmenes de comunicaciones presentados a Congresos u otros eventos científicos relacionados con las Ciencias Veterinarias, de los Alimentos, Genómica y Salud Animal, Acuicultura, Bioenergía, Cambio global y Biodiversidad.

Producción:

EDITORIAL iKU

María Cristina Illanes H.
mcristina@editorialiku.cl

Prohibida su reproducción total o parcial sin autorización del editor.

Contenido

TRABAJOS ORIGINALES

- Descripción de un protocolo en base a dexmedetomidina y ketamina en conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*).
Estefanía Flores P., Danielle Rufino A., Andrés Bastías P., Gino Cattaneo U. y Angélica Morales M. 5
- Respuesta productiva de pollos Broiler a la inclusión de poroto de soya extruido y tostado en sus dietas.
José Pokniak R., Gastón Cassus B., Sergio Cornejo V...... 13
- Determinación de nitrito en suero sanguíneo y líquido sinovial de articulación carpal equina con inflamación aguda y con daño crónico reagudizado.
Héctor Adarmes A., Mauricio Quezada C., Arnaldo Croxatto A., Andrea Müller S. y Marco Galleguillos C...... 19
- Adenoma de la glándula del tercer párpado en un perro.
Estefanía Flores P., Gino Cattaneo U. Andrés Bastías P., Carlos M. González R., Francisca Bahamondes G. y Denise Grimau C. 25

ARTÍCULOS GENERALES

- *Corynebacterium pseudotuberculosis*: una breve actualización.
Felipe Cheuquepán V., Marco Ríos C., Pedro Abalos P. y Patricio Retamal M. 30
- Bioequivalencia e intercambiabilidad de medicamentos de uso veterinario.
Daniela Iragüen C., Mario Acuña B., Rosario Toro C., Cheryl Telting L. y Francisco Rubilar B. 35
- Efecto del estrés sobre el Sistema Nervioso Central.
Ricardo Olivares P-M., Claudia Toledo G., Yenny Vera M., Hernán Pérez T. y Francisco Aboitiz D...... 43
- Efecto de las hormonas sexuales en la audición.
Rigoberto Solís M...... 50

NOTAS TÉCNICAS

- Comparación anatómica de laringe de cerdo con laringe humana.
Estefanía Flores P., Minerva Flánega P., Beatriz Rico B., Luis Adaro y Gino Cattaneo U...... 54
- Biodigestibilidad del grano de avena entero en equinos, medida por sustitución parcial en la dieta.
Iván Núñez P., Valeria Rojas E., María Sol Morales S. y Juan Egaña M. 60

RESÚMENES DE TESIS DE POSTGRADO...... 67

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES...... 69

Contents

ORIGINAL ARTICLES

- Description of a protocol based in dexmedetomidine and ketamine in domestic rabbit. (*Oryctolagus cuniculus*).
Estefanía Flores P., Danielle Rufino A., Andrés Bastías P., Gino Cattaneo U. and Angélica Morales M. 5
- Productive performance of Broilers fed roasted or extruded soybeans.
José Pokniak R., Gastón Cassus B. and Sergio Cornejo V. 13
- Nitrate determination in blood serum and sinovial fluid of equine carpal joint with acute inflammation and in chronic damage with inflammatory reactivity.
Héctor Adarmes A., Mauricio Quezada C., Arnaldo Croxatto A., Andrea Müller S. and Marco Galleguillos. 19
- Adenoma of the third eyelid in a dog.
Estefanía Flores P., Gino Cattaneo U., Andrés Bastías P., Carlos M. González R., Francisca Bahamondes G. and Denise Grimau C. 25

GENERAL ARTICLES

- *Corynebacterium pseudotuberculosis*: a brief update.
Felipe Cheuquepán V., Marco Ríos C., Pedro Abalos P. y Patricio Retamal M. 30
- Bioequivalence and switchability of veterinary medicinal products.
Daniela Iragüen C., Mario Acuña B., Rosario Toro C., Cheryl Telting L., and Francisco Rubilar B. 35
- Effects of stress on the nervous central system.
Ricardo Olivares P-M., Claudia Toledo G., Yenny Vera M., Hernán Pérez T. and Francisco Aboitiz D. 43
- Effect of sex hormones in hearing.
Rigoberto Solís M. 50

TECHNICAL NOTES

- Anatomical comparison of the larynx of the pigs with human larynx.
Estefanía Flores P., Minerva Flánega P., Beatriz Rico B., Luis Adaro and Gino Cattaneo U. 54
- Digestibility of whole oat grain in the horse measured by partial substitution in the diet.
Iván Núñez P., Valeria Rojas E., María Sol Morales S. and Juan Egaña M. 60

GRADUATE THESIS SUMMARIES 67

INSTRUCTION FOR AUTHORS 69

Trabajos Originales

Descripción de un protocolo en base a dexmedetomidina y ketamina en conejo doméstico (*Oryctolagus cuniculus*)

ESTEFANÍA FLORES P.¹, M.V, DANIELLE RUFINO A.¹, M.V, ANDRÉS BASTÍAS P.¹, M.V,
GINO CATTANEO U.¹ M.V. y ANGÉLICA MORALES M. M.V., M.S.

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

DESCRIPTION OF A PROTOCOL BASED IN DEXMEDETOMIDINE AND KETAMINE IN DOMESTIC RABBIT (*Oryctolagus cuniculus*)

The purpose of this study was the evaluation of an anaesthetic protocol based on dexmedetomidine in association with ketamine, applied to 26 adult rabbits (*Oryctolagus cuniculus*), registering the effects on physiological measurements (heart rate, respiratory rate, body temperature and systolic arterial pressure) and determining their anaesthesiological characteristics. Once initial physiological measurements were registered, dexmedetomidine was administrated as a pre-anaesthetic agent, using an intravenous 10 µg/kg dose. Physiological variables were checked every 5 minutes, from this moment, during a total of 35 minutes. After 15 minutes from dexmedetomidine administration, ketamine was given intravenously, on a dose-effect basis, as an anaesthetic induction agent. Average dose of ketamine intravenous induction was 32,69 mg/kg, administrated in an average time of 18,46 seconds, achieving a surgical anaesthetic period of 23,19 minutes, followed by 37,77 minutes of post anaesthetic motor depression. Total anaesthetic time was 51,23 minutes. Heart and respiratory rates were kept between the normal ranges for the rabbits, without any life compromise. Systolic arterial pressure and body temperature were under the minimum value determined as normal for the species

Key words: Anesthesiology, Dexmedetomidine, Rabbit.

RESUMEN

Se sometió a estudio un protocolo anestésico a base de dexmedetomidina clorhidrato (*Precedex*[®]) asociado a ketamina clorhidrato (*Imalgene 1000*[®]), en 26 conejos adultos y sanos, describiendo sus efectos en las variables fisiológicas (frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal y presión arterial sistólica) y determinando sus características anestesiológicas. Luego del registro de las variables fisiológicas basales, se administró a los animales la dexmedetomidina como preanestésico, en dosis fija de 10 µg/kg, vía endovenosa, y se siguió registrando los valores de esas variables a cada 5

minutos. En el minuto 15 del experimento, se administró ketamina, también por vía endovenosa, como agente inductor anestésico y se siguió registrando los valores de las mismas variables hasta el minuto 35 del experimento. La dosis de inducción endovenosa fue de 50 ± 13 mg/kg, administrada en 27 ± 10 segundos, proporcionando un tiempo de anestesia quirúrgica de 37 ± 17 minutos, seguido de 48 ± 32 minutos de depresión motora post anestésica, dando un tiempo de anestesia total de 58 ± 45 minutos. Bajo la acción del protocolo estudiado, las variables fisiológicas se mantuvieron, en general, dentro de los rangos fisiológicos normales para la especie, sin evidenciar compromiso vital en los individuos anestesiados.

Palabras clave: Anestesiología, Dexmedetomidina, Conejo.

INTRODUCCIÓN

En medicina veterinaria son indispensables los métodos farmacológicos de contención, tranquilización y anestesia, para diversos procedimientos, tanto diagnósticos como terapéuticos. La aparición de nuevas drogas anestésicas, cada vez más eficaces y seguras, en el campo de la medicina humana, obliga a su evaluación en medicina veterinaria, para determinar sus efectos y de esta manera poder incluirlas en el arsenal terapéutico tradicional, para la confección de protocolos anestésicos cada vez más seguros.

La dexmedetomidina, (*Precedex*[®]), es un nuevo fármaco tranquilizante, agonista selectivo de los receptores α_2 adrenérgicos, presenta una especificidad α_1 : α_2 de 1:1600, evitando, de este modo, los efectos indeseables que se producen como consecuencia de la activación de los receptores α_1 (Scheinin y col., 1992). Ha sido introducido en anestesiología humana como preanestésico, debido sus propiedades analgésicas y sedantes (Mato y col., 2002) y puede producir, por si solo, anestesia (Vickery y col., 1988). Disminuye en hasta un 95% la concentración alveolar mínima (CAM) del halotano (Segal y col., 1989), también disminuye los requerimientos de isoflurano (Savola y col., 1991a), el propofol (Peden y col., 2001), la ketamina (Joo y col., 2000), en estudios experimentales. Se describen como ventajas producir mínimos efectos en los sistemas respiratorio y cardiovascular, no ser acumulativo y no causar tolerancia adquirida después de su administración repetida (Scheinin y col., 1992). Además de la disminución de la cantidad de fármacos anestésicos, su recuperación esta exenta de estrés o excitación, efecto que para veterinaria es de suma importancia, para el éxito

de una cirugía. Además, atenúa la respuesta hemodinámica de los pacientes durante el proceso de intubación endotraqueal y cuando se produce el estímulo quirúrgico, proporcionando estabilidad cardiovascular durante la cirugía (Scheinin y col., 1992).

Sin embargo, da lugar a los efectos característicos de los agentes agonistas de los receptores α_2 adrenérgicos, como por ejemplo sedación e hipotermia (MacDonald y col., 1991). El efecto adverso más importante es la intensa bradicardia que produce, por lo que el sistema cardiovascular debe ser monitoreado cuidadosamente (Bol y col., 1997), sin embargo, este problema puede mitigarse mediante la administración lenta de la droga (Villela, 2003). La dexmedetomidina también es epileptogénica, ya que reduce el umbral de producción de convulsiones en un modelo experimental de epilepsia generalizada en la rata (Mirski y col., 1994) y en gatos anestesiados con enflurano (Miyazaki y col., 1999).

Cuando la dexmedetomidina es administrada junto con la ketamina existe una potenciación de la capacidad antinociceptiva y una reducción de los requerimientos intraoperatorios de esta última, además, es capaz de disminuir los efectos cardioestimulantes y los efectos adversos en el SNC inducidos por la ketamina (Levanen y col., 1995).

Los resultados descritos en humanos motivaron el interés en utilizar la dexmedetomidina clorhidrato, por su capacidad analgésica y sedante, en combinación con un anestésico disociativo, el clorhidrato de ketamina, en un ensayo en conejos, con el objetivo de estudiar las características de la interacción farmacológica entre ellos y disponer de un nuevo protocolo anestésico de uso veterinario.

MATERIAL Y MÉTODO

Material biológico

Se utilizaron 26 conejos, número determinado según la fórmula de Cochran (1963), considerando una potencia de un 90%, un error a de 5%, y una desviación estándar de 30.

Material anestesiológico

Clorhidrato de dexmedetomidina (*Precedex*[®]), ampolla de 2 ml con 100 µg/ml. Clorhidrato de ketamina (*Imalgene 1000*[®]), frasco ampolla de 10 ml al 10%. Agua bidestilada. Suero fisiológico. Equipo de infusión de suero pediátrico. Mariposas de 23 G y 25 G. Llave de 3 pasos. Jeringas desechables de 1 y 10 ml. Fonendoscopio, termómetro digital. Medidor de presión doppler percutáneo. Linterna y pinzas. Fichas de control de anestesia.

Método

Registro de datos

Previo a la administración del protocolo anestésico, todos los individuos fueron sometidos a un examen físico, en el que se registraron los datos referentes al peso, sexo y estado físico. También se registraron las variables fisiológicas basales (T0): frecuencia cardíaca (FC), expresada en latidos por minuto; frecuencia respiratoria (FR), expresada en ciclos por minuto y temperatura rectal (T^o), expresada en grados Celsius.

Administración del Protocolo anestésico

Luego del examen físico, se procedió a canular de la vena marginal de la oreja, con una mariposa de 23 ó 25 G, que se conectó a un equipo de infusión pediátrico, administrándose suero fisiológico, a una velocidad de 10 ml/kg/h. Posteriormente, se colocó el doppler, para el registro de la presión arterial sistólica (PAS), ubicando el transductor percutáneo en la superficie caudal del miembro anterior, sobre la arteria ulnar. Luego de esto, se administró la *dexmedetomidina*, en dosis 10 µg/kg de peso, por vía endovenosa, registrándose las variables fisiológicas a los 5, 10 y 15 minutos de su aplicación (T5, T10 y T15). Una vez terminados estos registros se procedió a realizar la inducción anestésica usando *ketamina* al 0,5%, administrada modalidad dosis-efecto. La inducción se consideró alcanzada cuando los individuos perdieron el reflejo de cabeza erguida

y estación. A partir de este momento se registraron las variables fisiológicas antes mencionadas, cada 5 minutos, hasta la recuperación anestésica (T20 a T35). También se registraron los efectos colaterales producidos por la administración del protocolo.

Determinación de variables anestesiológicas

Se determinaron las siguientes variables anestesiológicas:

- **Dosis de inducción anestésica (DIA).** Es la cantidad de miligramos de ketamina, por kilogramo de peso corporal, que se administró para lograr la inducción anestésica.
- **Tiempo de inducción anestésica (TIA).** Es el lapso de tiempo, medido en segundos, que se inició con la administración endovenosa del fármaco inductor y terminó cuando se alcanzó la inducción anestésica.
- **Tiempo de anestesia quirúrgica (TAQ).** Es el lapso de tiempo, medido en minutos, que transcurre desde que se obtiene el nivel de inducción esperado hasta que el paciente recupera la sensibilidad. Esto último se determinó por la presencia de movimientos de alguna parte del cuerpo frente al estímulo doloroso producido al pinzar la piel del abdomen, de la zona lumbar o el pliegue interdigital. Ese tiempo permite estimar los procedimientos que se pueden realizar bajo el efecto del fármaco estudiado tan sólo con la dosis de inducción.
- **Tiempo de depresión motora post anestésica (TDMPA).** Es el lapso de tiempo, expresado en minutos, que transcurre desde la recuperación de la sensibilidad hasta la recuperación motora voluntaria, manifestada por la presencia de cabeza erguida y estación. La importancia de esta variable es que una vez recuperada la actividad motora, el paciente recupera los mecanismos protectores que contribuyen a la conservación de la vida del individuo.
- **Tiempo de anestesia total (TAT).** Es el tiempo que transcurre desde el inicio de la administración de la ketamina (inducción) hasta cuando el paciente está en estación.

Método estadístico

Con los datos recopilados de los registros individuales de los 26 conejos anestesiados, se realizó una descripción estadística de las

variables fisiológicas. Se determinó el promedio, la desviación estándar, el coeficiente de variación y el valor mínimo y máximo de las variables fisiológicas desde su medición basal hasta la última medición (T0 a T35). Además se realizó un análisis de varianza de 2 criterios y la prueba de comparaciones múltiples de Tukey-Kramer, para comparar los valores de la FC, FR, T° y PAs en los distintos tiempos registrados.

Para establecer las relaciones que pudieran existir entre las variables anestesiológicas medidas a lo largo del estudio, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson. Para cada tiempo se buscó la relación entre las siguientes variables: frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, presión arterial sistólica, tiempo al primer movimiento, tiempo a cabeza erguida y tiempo de estación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Efecto del protocolo anestésico sobre las variables fisiológicas

1.1 Análisis de la variación de la frecuencia cardíaca en el tiempo (Figura 1)

La frecuencia cardíaca basal (tiempo cero) fue de 218,38 latidos/minuto en promedio, con un valor mínimo y máximo de 132 y 372 latidos/minuto respectivamente. A los 5 minutos de administrada la dexmedetomidina, el promedio de la frecuencia cardíaca descendió a 195,77 latidos/minuto promedio, con valores extremos de 124 y 260 latidos/minuto. Este efecto bradicardizante coincide con lo revisado en la literatura (Bol y col., 1997). En el minuto 10 se observó un

aumento en esta variable fisiológica en un 4,4%. En el minuto 15 del experimento se administró la ketamina, cuando la frecuencia cardíaca había disminuido en un 3,5% en promedio, respecto de la medición basal. Del minuto 20 al 35 se mantiene relativamente estable, con un valor promedio cercano a los 200 latidos/minuto. No se presentaron diferencias estadísticamente significativas de los promedios de las frecuencias cardíacas a lo largo del ensayo ($p = 0,0970$), manteniéndose en todo momento dentro del rango de valores considerados normales para la especie (Aeschbacher, 1995), lo que indica que la asociación de la dexmedetomidina con ketamina es una asociación segura en relación a este parámetro.

1.1.2 Análisis de la distribución del número de conejos según sus frecuencias cardíacas en el tiempo

En relación a la distribución de los datos de la frecuencia cardíaca, un 82,2% de las observaciones se concentraron entre 156 a 263 latidos/minuto, lo que es deseable en un episodio anestésico. Entre 120 a 155 latidos/minuto, se encontraron sólo 26 conejos sumados en los diferentes tiempos. Las demás observaciones se concentraron en valores más altos de frecuencia cardíaca, donde un 2,9% (6 conejos) estuvo entre 264 y 299 latidos/minuto, mientras que sólo 2 conejos tuvieron la frecuencia cardíaca mayor a 300 latidos/minuto y 3 conejos sobre 336 latidos/minuto.

Esta distribución de frecuencias indica que la asociación de la dexmedetomidina con la ketamina mantiene la frecuencia cardíaca dentro del

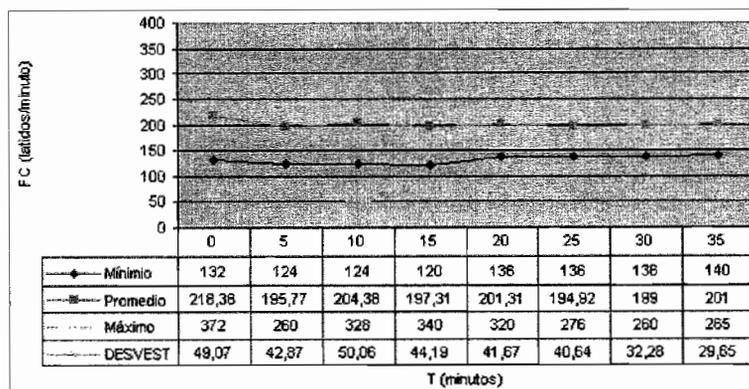


Figura 1. Variación de la frecuencia cardíaca en el tiempo.

rango considerado seguro para el conejo, en la gran mayoría de las observaciones de este estudio, lo que permite pensar que la dexmedetomidina, por ser un agonista α_2 adrenérgico, mantiene esa variable a través del tiempo, sin producir bradicardia, pero sí, una taquicardia leve en 8 conejos.

1.2 Frecuencia Respiratoria (FR)

1.2.1 Análisis de la variación de la frecuencia respiratoria en el tiempo (Figura 2)

Durante el episodio anestésico, la frecuencia respiratoria varió de 108,3 a 71,46 ciclos por minuto en promedio, es decir, bajó un 34%. La mayor caída de la frecuencia respiratoria se produjo en el minuto 20, cuando se registró 56,54 ciclos/minuto, en promedio. También en el minuto 20 se presentó la menor desviación estándar, 22,38. La menor variabilidad se presenta entre los minutos 5 y 25.

Se puede observar que las mayores variaciones en la frecuencia respiratoria se dan al inicio y al término del episodio anestésico (de 40 a 280 inspiraciones/minuto en el minuto cero; y de 24 a 192 inspiraciones/minuto en el minuto 35). En el transcurso de la experiencia, la frecuencia respiratoria se mantuvo estable y con valores cercanos al promedio obtenido desde el minuto 5 al minuto 25, que fue de 66,6 inspiraciones/minuto.

Se puede concluir que el protocolo administrado produce una disminución de la FR en relación a los valores basales, pero la mantiene en todo momento dentro del rango establecido en la literatura como normal para el conejo (Aeschbacher, 1995).

1.2.2 Análisis de la distribución del número de conejos según sus frecuencias respiratorias en el tiempo

Se observa que en el minuto cero el 69% de las observaciones se encuentran entre los 56 y 151 inspiraciones/minuto. En cambio, a los 5 minutos la mayoría de las observaciones, un 53% presenta de 56 a 67 inspiraciones/minuto. A partir de los 10 minutos de controlada la frecuencia respiratoria, en la mayoría de los conejos fue menor a 119 inspiraciones/minuto, pudiéndose considerar dentro de los valores estimados normales para la especie.

1.3 Temperatura (T°C)

1.3.1 Análisis de la variación de la temperatura corporal en el tiempo (Figura 3)

En relación a la temperatura corporal, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los individuos ($p = 0,0001$), y en el transcurso del tiempo ($p = 0,0062$).

La variación de la temperatura en promedio fue de 1,7%, donde el promedio más alto fue de 38,13°C, en el minuto cero, y el más bajo fue de 37,47°C, en el minuto 35.

La mayoría de los conejos en estudio mantuvieron su temperatura corporal en un rango de valores de temperatura aceptables para un evento quirúrgico (entre 37,47°C a 38,13°C).

Si se considera que los valores basales se encontraban al límite inferior del rango considerado normal para el conejo, la asociación de dexmedetomidina y ketamina permitió que la temperatura de los animales se mantuviera

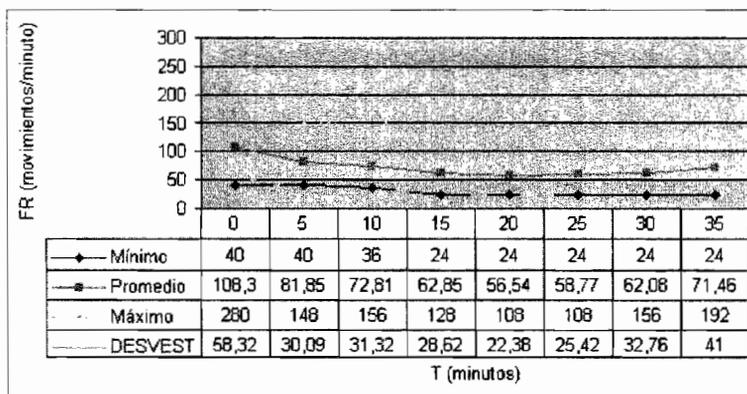


Figura 2. Variación de la frecuencia respiratoria en el tiempo.

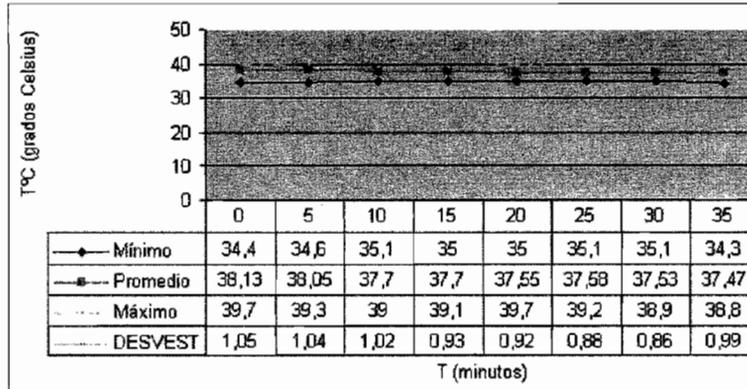


Figura 3. Variación de la temperatura corporal en el tiempo.

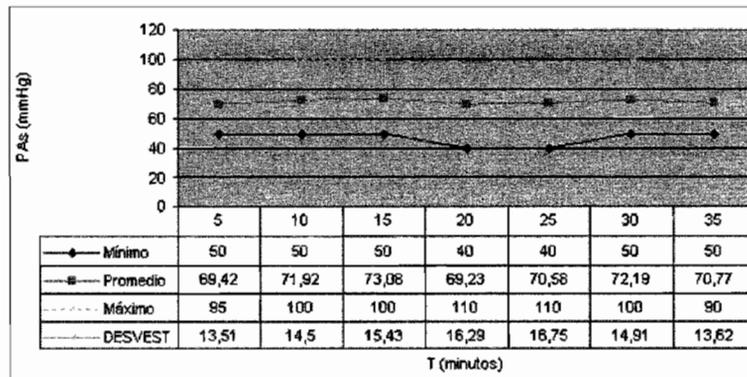


Figura 4. Variación de la presión arterial sistólica en el tiempo.

estable durante el ensayo anestésico, sin el riesgo de caer en hipotermia.

1.3.2 Análisis de la distribución del número de conejos según sus temperaturas corporales en el tiempo

En relación a la distribución de frecuencia de las temperaturas corporales, durante todo el episodio anestésico, las observaciones se concentraron principalmente entre 37°C a 38,7°C, con muy pocos individuos bajo 36,9°C en los diferentes tiempos controlados. Es importante considerar que su temperatura normal es de 38°C a 40°C (Aeschbacher, 1995).

1.4 Presión arterial sistólica (PAS)

1.4.1 Análisis de la variación de la presión arterial sistólica en el tiempo (Figura 4)

Se presentaron diferencias significativas entre los valores registrados de la presión arterial sistólica en los individuos ($p = 0,0001$), pero no

hubo diferencias significativas con el transcurso del tiempo ($p = 0,6610$).

El promedio general de la PAS fue de 71 mmHg. El promedio más bajo se registró en el minuto 20 y el promedio más alto se registró en el minuto 15. Es necesario recordar que los valores normales están entre 80 y 95 mmHg (Aeschbacher, 1995).

Durante el episodio anestésico, la presión arterial sistólica se mantuvo muy estable, lo que indica que la asociación de la dexmedetomidina con la ketamina proporciona un umbral aceptable de presión arterial dado que en los pacientes no hubo problemas de recuperación, en las condiciones experimentales.

1.4.2 Análisis de la distribución del número de conejos según sus presiones arteriales sistólicas en el tiempo

La presión arterial sistólica no fue medida en el tiempo basal porque los conejos estaban al inicio del experimento muy agitados y era

imposible conectarles el equipo Doppler, por esto los registros parten del minuto 5 en adelante (Figura 4). La mayoría de las observaciones, en los diferentes tiempos, se concentraron dentro de los valores de 60 a 79 mmHg y de 80 a 99 mmHg. Los conejos mantuvieron su presión arterial sistólica dentro de un rango de valor esperado y cercano a los valores normales para el conejo, más aún para un episodio anestésico.

Pocos animales mostraron la presión arterial sistólica entre 50 a 59 mmHg, y solamente 2 conejos tuvieron esa variable bajo 49 mmHg, que siendo hipotensión marcada, se recuperó al final de la experiencia.

2. Análisis de las variables anestesiológicas

2.1 Dosis de inducción anestésica (DIA)

La dosis promedio de inducción con ketamina fue de 32,69 mg/kg. La dosis total máxima fue de 50 mg/kg y la mínima, de 13 mg/kg, con una variación de $\pm 4,58$ mg/kg.

La dexmedetomidina no mostró características de agente inductor anestésico como se esperaba; los pacientes se mantenían despiertos observando lo que pasaba a su alrededor. Sin embargo, si produjo tranquilización y un cierto grado de depresión motora.

2.2 Tiempo de inducción anestésica (TIA)

La ketamina se administró en el minuto 15 del ensayo anestésico. En promedio, el tiempo de inducción anestésica fue de 18,46 segundos, con un tiempo mínimo de 10 y un tiempo máximo de 27 segundos, variando $\pm 4,48$ segundos.

2.3 Tiempo de anestesia quirúrgica (TAQ)

El tiempo de anestesia quirúrgica, fue en promedio de 23,19 minutos; con valores que fluctuaron entre 17 y 37 minutos, con una variación de $\pm 4,72$ minutos.

El tiempo de anestesia quirúrgica obtenido, es adecuado para someter al paciente a exámenes minuciosos o intervenciones no complejas, que no ocupen períodos de tiempo demasiado largos.

2.4 Tiempo de depresión motora post anestésica (TDMPA)

En promedio, el primer movimiento se

observó a partir del minuto 37,77. El intervalo de TDMPA fue desde los 32 a los 48 minutos. La variación del promedio fue de $\pm 3,37$ minutos (Anexo 3).

2.5 Tiempo de anestesia total (TAT)

El tiempo de anestesia total, en promedio, fue de 51,23 minutos, con un mínimo de 45 minutos y un máximo de 58 minutos. La variación estándar fue de $\pm 3,88$ minutos.

3. Análisis de la relación entre la dosis de inducción anestésica (DIA) y signos de recuperación del episodio anestésico (primer movimiento, cabeza erguida y estación del animal)

Se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson para determinar si había asociación entre las variables anestesiológicas entre sí. Se observó que no hubo correlación entre la DIA de la ketamina y el peso corporal ($r = 0,11$; $p > 0,05$). Esto es, la correlación es muy cercana a cero, lo que indica que la dosis usada para la inducción del paciente no tenía una relación estrecha con el peso corporal de animal. Lo mismo se observó entre la DIA y el TIA ($r = 0,12$; $p > 0,05$), o bien, entre la DIA y el TAQ ($r = 0,05$; $p > 0,05$), es decir, no hay relación entre la DIA, TIA y TAQ.

Con relación a la dosis de inducción anestésica y el primer movimiento observado (TDMPA), hubo una baja correlación positiva entre estas dos variables anestesiológicas. No hay correlación entre la dosis que se usa para la inducción y el primer movimiento del animal.

4. Efectos secundarios

No se observaron reacciones colaterales durante el ensayo.

REFERENCIAS

- 1.- AESCHBACHER G. 1995. Rabbit Anesthesia. Compendium Continuing Education of the Practicing Veterinarian (17): 1004-1011.
- 2.- BOL CJG, DANHOF M, STANSKI DR, MANDEMA JW. 1997. Pharmacokinetic-pharmacodynamic characterization of the cardiovascular, hypnotic, EEG and ventilatory responses to dexmedetomidine in the rat. J Pharmacol Exp Ther 283(3): 1051-1058.

- 3.- COCHRAN WG. 1963. Sampling Techniques. 2^o edición. John Wiley and Sons. New York. p. 413.
- 4.- JOO G, HORVATH G, KLIMSCHA W, KEKESI G, DOBOS I, SZIKSZAY M, BENEDEK G. 2000. The effects of ketamine and its enantiomers on the morphine- or dexmedetomidine-induced antinociception after intrathecal administration in rats. *Anesthesiology* 93(1): 231-241.
- 5.- LEVANEN J, MAKELA ML, SCHEININ H. 1995. Dexmedetomidine premedication attenuates ketamine-induced cardiostimulatory effects and postanesthetic delirium. *Anesthesiology* 82(5): 1117-1125.
- 6.- MACDONALD E, SCHEININ M, SCHEININ H, VIRTANEN R. 1991. Comparison of the behavioural and neurochemical effects of the two optical enantiomers of medetomidine, a selective alpha-2 adrenoceptor agonist. *J Pharm Exp Ther* 259(2): 848-854.
- 7.- MATO M, PÉREZ A, OTERO J, TORRES LM. 2002. Dexmedetomidina, un fármaco prometedor. *Rev Esp Anestesiol Reanim* 49(8): 407-420.
- 8.- MIRSKÍ MA, ROSSELL LA, MCPHERSON RW, TRAYSTMAN RJ. 1994. Dexmedetomidine decreases seizure threshold in a rat model of experimental generalized epilepsy. *Anesthesiology* 81(6): 1422-1428.
- 9.- MIYAZAKI Y, ADACHI T, KURATA J, UTSUMI J, SHICHINO T, SEGAWA H. 1999. Dexmedetomidine reduces seizure threshold during enflurane anaesthesia in cats. *Br J Anaesth* 82(6): 935-937.
- 10.- PEDEN CJ, CLOOTE AH, STRATFORD N, PRYSE-ROBERTS C. 2001. The effect of intravenous dexmedetomidine premedication on the dose requirement of propofol to induce loss of consciousness in patients receiving alfentanil. *Anaesthesia* 56(5): 408-413.
- 11.- SAVOLA MK, MACIVER MB, DOZE VA, KENDIG JJ, MAZE M. 1991. The alpha 2-adrenoceptor agonist dexmedetomidine increases the apparent potency of the volatile anesthetic isoflurane in rats *in vivo* and in hippocampal slice *in vitro*. *Brain Res* 548(1-2): 23-28.
- 12.- SCHEININ B, LINDGREN L, RANDELL T, SCHEININ H, SCHEININ M. 1992. Dexmedetomidine attenuates sympathoadrenal responses to tracheal intubation and reduces the need for thiopentone and preoperative fentanyl. *Br J Anaesth* 68(2): 126-131.
- 13.- SEGAL IS, VICKERY RG, MAZE M. 1989. Dexmedetomidine decreases halothane anesthetic requirements in rats. *Acta Vet Scand Suppl* 85: 55-59.
- 14.- VICKERY RG, SHERIDAN BC, SEGAL IS, MAZE M. 1988. Anesthetic and hemodynamic effects of the stereoisomers of medetomidine, an alpha-2 adrenergic agonist, in halothaneanesthetized dogs. *Anesth Analg* 67: 611-615.
- 15.- VILLELA NR, NACIMENTO PJR. 2003. Uso de dexmedetomidina em anestesiologia. In: *Revista Brasileira de Anestesiologia*. Campinas, Brasil. Vol. 53 N^o1. 97-113.

Trabajos Originales

Respuesta productiva de pollos Broiler a la inclusión de poroto de soya extruido y tostado en sus dietas

JOSÉ POKNIAK R.¹, M.V., GASTÓN CASSUS B.¹, M.V., M.Sc. y SERGIO CORNEJO V.¹ M.V, M.S.

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Departamento de Fomento de la Producción Animal.

ABSTRACT

PRODUCTIVE PERFORMANCE OF BROILERS FED ROASTED OR EXTRUDED SOYBEANS

An assay was carried out to evaluate the productive performance of broiler chickens fed soybean roasted or extruded. 165 male Ross-308 broilers were raised and fed from day 1 of age up to 42 days. At day one, the chickens were randomly assigned to three treatments: control, roasted soybean (RSB) and extruded soybean, both products were included at 18 and 20% of the initial and final diets, respectively. At the end of the experiment live weight, feed intake, feed conversion, mortality (%) and abdominal fat pad were not different ($P \geq 0,05$) among treatments, but live weight gain was less ($P \leq 0,05$) in RSB treatment than in the others. The same was observed for the economic measures of gross margin derived from live weight, feed cost and weight gain. All diets were oxidatively stable measured by TBARS and peroxide values that were less than the maximum allowed by quality standards. Under the experimental conditions used, the results obtained showed that extruded or toasted soybeans can be incorporated in the feed for broiler chickens, taking into account their price and availability.

Key words: Broilers, soybean, productive performance.

RESUMEN

Se realizó un ensayo para evaluar la respuesta productiva de pollos broilers cuando el poroto soya extruido o tostado fue incorporado en sus dietas. Se criaron 165 machos Ross-308 desde un día de edad hasta los 42 días. Las aves fueron asignados al azar a tres tratamientos: control; poroto soya tostado (PST) y poroto soya extruido. Al término del ensayo el peso vivo, consumo de alimento, conversión de alimento, mortalidad (%) y grasa abdominal no fueron significativamente diferentes ($P \geq 0,05$) entre los tratamientos, pero la ganancia diaria fue menor ($P \leq 0,05$) en PST que en los otros tratamientos. Lo mismo fue observado para el margen bruto derivado del peso vivo, costo alimentario y ganancia de peso. Además, las dietas mostraron una apropiada estabilidad a la oxidación, puesto que los valores de TBARS y de peróxido fueron menores que los permitidos por los estándares de calidad. Bajo las condiciones en que se desarrollo el ensayo, los resultados alcanzados permiten concluir que

E-mail: jpokniak@uchile.cl

ambas formas de presentación del poroto soya, tostado o extruido, pueden ser incorporados a las dietas de pollos broiler, teniendo presente dos condiciones cruciales su disponibilidad y precio.

Palabras clave: Broilers, poroto soya, respuesta productiva.

INTRODUCCIÓN

La producción de carne de aves en Chile, constituida especialmente por pollos broiler, ha mostrado en las últimas dos décadas, un crecimiento explosivo, tanto en la producción como en el consumo por persona (APA, 2008). Esta elevada actividad productiva del sector, conlleva la necesidad de disponer de alimentos de uso avícola de alto valor biológico y a precios competitivos, ya que no menos del 70% de los costos variables en la producción del broiler, corresponden a la alimentación. El poroto soya (POSOY) es una de las cosechas más antiguas del hombre, producto del procesamiento del POSOY, se obtiene harina de soya, y ésta, es la principal fuente de proteína para alimentar aves en el mundo (Aburto y col., 1998). Por otra parte, los estudios referentes al uso de POSOY en la alimentación de aves de corral, recién comienzan a fines de los años 60 e inicios de los 70 (Aburto y col., 1998). Todos ellos demostraron la necesidad del tratamiento térmico del recurso, antes de incluirlo en las dietas, ya que el POSOY crudo contiene factores antinutricionales que generan problemas en las aves, algunos son termolábiles, por lo que son removidos por acción del calor (Aburto y col., 1998). El empleo de POSOY entero ha aumentado proporcionalmente en las dietas avícolas por condiciones coyunturales de mercado, entre ellas la disminución del uso de harina de pescado (HAPES) por menor disponibilidad de este recurso y por su mayor precio. Dentro de este nuevo marco económico y tecnológico en que se desenvuelve la industria avícola mundial, existe un marcado interés por parte de los productores avícolas para comprar, procesar y utilizar el POSOY (Buitrago, 1992). El POSOY entero es un insumo muy completo para la alimentación de aves (Tabla 1, Buitrago, 1992; Paniagua, 1999; Dale, 2000). Su proteína es de calidad aceptable, con buen aporte de lisina, pero relativamente bajo en metionina (Dale, 2000). Además, posee una alta proporción de ácidos grasos poliinsaturados, entre ellos el linoleico, y un bajo nivel de ácidos grasos libres

(Rojas y Gómez, 1988; Klasing, 1998). Al ser tratado con calor se desactivan sus factores antinutricionales, mejorando la digestibilidad de la proteína (Gill, 1988; Frank, 1988; Mateos y col., 1995; Leeson y col., 2000; Liener, 2000), así se obtiene POSOY integral (SI o full-fat soybean). Si el SI es correctamente tratado (extruido, tostado y otros procesos, Mateos y col., 1996), puede ser usado en dietas comerciales de pollos broiler hasta en un 35% sin afectar negativamente los indicadores productivos o la calidad de la canal de los pollos (Buitrago, 1992; Bos y Flikweert, 1995; Mateos y col., 1996). La extrusión húmeda parece tener ventajas sobre el tostado u otros procesamientos en seco, cuando se consideran la denaturación de las proteínas, destrucción de

Tabla 1. Composición Nutricional del Grano de Soya crudo, procesado y como afrecho

| | Grano de Soya | | |
|---------------------------------------|---------------|-----------|----------|
| | Crudo | Procesado | Afrecho |
| Materia seca % | 90 | 90 | 90 |
| Energía metabolizable, aves (Mcal/kg) | 3,2 | 3,4-3,8 | 2,25 |
| Grasa % | 17,5 | 17,5 | 1,5 |
| Proteína % | 37,5 | 37,5 | 45,5 |
| Fibra % | 5,5 | 5,5 | 3,4 |
| Metionina % | 0,5 | 0,5 | 0,65 |
| Metionina + Cistina % | 1,08 | 1,08 | 1,34 |
| Lisina % | 2,34 | 2,34 | 2,9 |
| Triptofano % | 0,52 | 0,52 | 0,61 |
| Treonina % | 1,43 | 1,43 | 1,78 |
| Isoleucina % | 1,86 | 1,86 | 2,21 |
| Histidina % | 0,91 | 0,91 | 1,12 |
| Valina % | 1,62 | 1,62 | 2,02 |
| Leucina % | 2,7 | 2,7 | 3,39 |
| Arginina % | 2,72 | 2,72 | 3,28 |
| Fenil + Tirosina % | 3,24 | 3,24 | 3,84 |
| A. Linoleico % | 8,5 | 8,5 | 0,7 |
| Lecitina % | 2 | 2 | 0,1 |
| Calcio % | 0,26 | 0,26 | 0,3 |
| Fosforo % | 0,61 | 0,61 | 0,64 |
| Índice de ureasa | 2-3,0 | 0,02-0,5 | 0,02-0,1 |
| Inhibidor de Tripsina | 75-80 | <0,10 | <0,10 |

Fuente: Buitrago, 1992.

ciertos factores antinutricionales, ruptura de las paredes celulares, remoción de grasas intracelulares, esterilización del alimento, deshidratación, cambios en la textura, palatabilidad, mejor aporte energético y estabilidad del producto final (Buitrago, 1992; Kohlmeier, 1996). Otros investigadores indicaron que la peletización de la dieta o pasar el poroto tostado por un rodillo puede producir una ruptura de las células y hacer más disponibles los nutrientes (Mitchell y col., 1972; Kohlmeier, 1996). Localmente la tecnología de cocción-extrusión está poco desarrollada y aprovechada; se han hecho esfuerzos para fomentar su empleo (Estévez y col., 1992). Según Buitrago (1992), es importante conocer algunos indicadores de la calidad de la SI procesada. Así,

la determinación de la actividad de la ureasa se ha convertido en el estándar de los programas de control de calidad del procesamiento térmico efectuado, como también se recomienda la solubilidad de la proteína en hidróxido de sodio al 2% (Dale, 2000; Leeson y col., 2000). Los efectos del inadecuado procesamiento térmico se manifiesta con depresión en la ganancia de peso y aumento en el peso relativo del páncreas (Leeson y col., 2000). Así, con los antecedentes biológicos comentados y teniendo presente la necesidad de generar información experimental nacional, se programó este estudio con el objetivo de evaluar los rendimientos productivos de pollos broiler al incluir POSOY con diferentes procesamientos en las dietas de estas aves.

Tabla 2. Composición y aporte nutritivo de las dietas empleadas en el estudio

| Insumos % | Dietas 4 - 25 días | | | Dietas 26 - 42 días | | |
|--|--------------------|------------------|------------------|---------------------|------------------|------------------|
| | TTO ₁ | TTO ₂ | TTO ₃ | TTO ₁ | TTO ₂ | TTO ₃ |
| Maíz, grano | 53,38 | 54,56 | 53,22 | 59,82 | 51,41 | 54,24 |
| Soya, afrecho | 35,12 | 20,38 | 20,85 | 28,5 | 18,2 | 19,26 |
| Trigo, afrechillo | / | / | / | / | 4,62 | 0,64 |
| POSOY, tostado | / | 18 | / | / | 20 | / |
| POSOY, extruido | / | / | 18 | / | / | 20 |
| Salmón, harina | 4 | 4 | 4 | 4,32 | / | / |
| Aceite vegetal | 4,62 | 0,25 | 1,10 | 5 | 3 | 3 |
| Vitaminas (1) | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 |
| Lisina | 0,08 | 0,03 | 0,07 | 0,08 | 0,04 | 0,08 |
| Metionina, DL | 0,24 | 0,22 | 0,22 | 0,21 | 0,23 | 0,23 |
| Minerales (2) | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 | 0,05 |
| Sal | 0,17 | 0,18 | 0,17 | 0,11 | 0,11 | 0,15 |
| Conchuela | 0,72 | 0,75 | 0,7 | 0,66 | 0,7 | 0,7 |
| Fosbic * | 1,50 | 1,46 | 1,51 | 1,14 | 1,53 | 1,54 |
| Antioxidante | 0,02 | 0,02 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| Precio/kg(\$) | 135,82 | 133,89 | 136,45 | 132,5 | 125,76 | 127,93 |
| Aporte nutritivo % determinado** y calculado*** de las dietas. | | | | | | |
| EMAn (Mcal/kg)*** | 3 | 3 | 3 | 3,1 | 3,1 | 3,1 |
| Proteína** | 21,6 | 21,8 | 21,8 | 19,7 | 19,7 | 19,8 |
| Lisina*** | 1,3 | 1,3 | 1,3 | 1,15 | 1,15 | 1,15 |
| Met+Cis*** | 0,93 | 0,93 | 0,93 | 0,86 | 0,86 | 0,86 |
| Calcio*** | 1 | 1 | 1 | 0,85 | 0,85 | 0,85 |
| Fósforo disponible*** | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,38 | 0,38 | 0,38 |
| Sodio*** | 0,19 | 0,2 | 0,2 | 0,17 | 0,19 | 0,18 |
| Cloro*** | 0,16 | 0,18 | 0,18 | 0,16 | 0,16 | 0,16 |
| Metionina*** | 0,57 | 0,57 | 0,57 | 0,53 | 0,52 | 0,53 |
| Extracto etéreo** | 9,1 | 9,2 | 8,2 | 8,7 | 8,9 | 8,6 |
| Fibra cruda** | 2,15 | 2,71 | 2,7 | 2,93 | 3,52 | 3,27 |
| Ácido Linoleico*** | 3,4 | 3,08 | 3,49 | 3,32 | 4,63 | 4,64 |

(1) Vitaminas aporte por kilo de dieta: Vit. A: 10.000 U.I.; D3: 3.500 U.I.; E: 50 U.I.; K₁: 2 mg; B₁: 2 mg; B2: 8 mg; B₆: 4 mg; B₁₂: 0.015 ng; Niacina: 40 mg; Ác.Pantotenico: 15 mg; Biotina: 0,13 mg; Ác. Fólico: 1,5 mg; Cloruro de colina: 400 mg. (2) Minerales aporte por kilo de dieta: Cu=8 mg.;Zn=80 mg.;Fe=80 mg.; Mn=100mg.; I=1 mg.;Se=0,25 mg. (*) Fosbic: fosfato dicalcico monohidratado, Química del Pacífico, Lima, Perú.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se criaron 165 pollos broiler Ross machos hasta los 42 días de edad en baterías de crianza y de recría con ambiente controlado con agua y alimento a voluntad y un régimen de luz de 24 hr. Para mantener la densidad por metro cuadrado, según recomendación de la línea genética, se alojaron 11 pollos por corral durante la primera etapa y 9 durante la segunda. Los pollos fueron asignados al azar a cada uno de los siguientes tratamientos: TTO 1: control; TTO 2: POSOY tostado; TTO 3: POSOY extruido, cada uno con 5 repeticiones. Las dietas empleadas (Tabla 2), se suministraron la primera entre el día 4 al 25 y la segunda del 26 al 42, siendo formuladas isoenergéticas e isoproteicas y a mínimo costo, sus aportes nutritivos siguieron las recomendaciones del NRC (1994). Cada dieta fue sometida a un análisis químico proximal de acuerdo a AOAC (1995). Se llevaron los siguientes registros: peso vivo (días: 4 - 25 y 42, por repetición), ganancia de peso (a los 25 - 42 y total del ensayo), consumo alimento (semanal), conversión de alimento (ganancia/consumo, a los 25 - 42 días y total del ensayo), peso de los panículos grasos peri-viscerales (perigástrica y pericloacal, Cordeiro, 1989), y porcentaje de mortalidad (registro diario). Además, se realizó una evaluación económica de los tratamientos por medio del margen bruto (Corno y col., 2008). Los resultados se analizaron por medio de la varianza (ANDEVA) de acuerdo a un diseño completamente al azar de efectos fijos (Sokal y Rohlf, 1981), empleando el programa SAS (1985), las diferencias entre medias se evaluaron con la prueba de Tukey (Sokal y Rohlf, 1981).

Tabla 3. Indicadores de estabilidad oxidativa de las dietas empleadas en cada etapa productiva y de los porotos empleados en el estudio

| Muestra TTO | TBARS Nmol/g lípidos | Peróxidos meq/kg lípidos |
|----------------|-------------------------|-----------------------------|
| 1 B.I. | 2,34 ± 0,07 | 1,61 ± 0,09 |
| 1 B.F. | 2,54 ± 0,04 | 1,53 ± 0,14 |
| 2 B.I. | 2,30 ± 0,10 | 3,23 ± 0,05 |
| 2 B.F. | 2,02 ± 0,05 | 1,93 ± 0,11 |
| 3 B.I. | 2,76 ± 0,08 | 2,26 ± 0,10 |
| 3 B.F. | 1,60 ± 0,07 | 3,50 ± 0,16 |
| POSOY tostado | 2,02 ± 0,08 | 4,46 ± 0,10 |
| POSOY extruido | 1,15 ± 0,10 | 1,05 ± 0,03 |

TTO = Tratamiento; B = Broiler; I = Inicial; F = Final.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó la estabilidad oxidativa de las dietas y del POSOY tostado y extruido (Tabla 3), utilizando la determinación de los compuestos reactivos con el ácido tio-barbitúrico (TBARS) y el índice de peróxidos. Las muestras analizadas no presentaron signos de deterioro oxidativo, puesto que los valores encontrados se alejaron notoriamente de los máximos permitidos, que en el caso de TBARS alcanza a 15nmol^{-g}, y para los peróxidos a 10meq^{-kg} (Reglamento Sanitario de los Alimentos, 2002).

Los indicadores productivos del estudio se presentan en la Tabla 4. Los valores iniciales de peso se registraron al cuarto día de vida, puesto que hasta ese momento existe una gran presencia de vitelo que condiciona la ingesta de alimento, junto a un proceso de adaptación a las baterías y una eventual mortalidad, causada generalmente

Tabla 4. Indicadores productivos del ensayo. Promedios ± desviación estándar

| Indicadores | TTO 1(AS) | TTO 2(PST) | TTO 3(PSE) |
|--|----------------|---------------|---------------|
| Peso vivo inicial g | 73 ± 0,32 | 72 ± 0,63 | 72 ± 1,12 |
| Peso vivo final g | 2.611 ± 301 | 2.441 ± 161 | 2.573 ± 212 |
| Consumo alimento g | 4.116 ± 133 | 4.120 ± 208 | 4.090 ± 225 |
| Ganancia de peso | 2.538* a ± 110 | 2.369 b ± 105 | 2.501 ab ± 79 |
| Conversión de alimento | 1,62 ± 0,06 | 1,74 ± 0,70 | 1,64 ± 0,07 |
| Mortalidad % | 7,00% | 5,20% | 6,60% |
| Costo alimentario de la ganancia de peso | \$ 217,34 | \$ 225,90 | \$ 216,79 |
| Margen Bruto | \$ 1.327 | \$ 1.222,62 | \$ 1.311,03 |

* Promedios con diferente letra superíndice, indican diferencias significativas (p < 0,05).

por infecciones umbilicales derivadas de la planta de incubación; por otra parte, se facilita la homogenización de las repeticiones al permitir el reemplazo de los pollos muertos. La uniformidad del material biológico utilizado queda de manifiesto al observar la similitud de los pesos vivos entre tratamientos ($P \geq 0,05$), a los cuatro días de edad. Al término del ensayo, 42 días de edad, el TTO 2 (POSOY tostado) mostró la menor ganancia de peso ($P < 0,05$) siendo los otros estadísticamente semejantes. Sin embargo, los restantes indicadores productivos evaluados no presentaron diferencias estadísticas ($P \geq 0,05$), mostrando, una vez más, y en forma general, que los tres tratamientos se comportaron en forma parecida; aunque, el TTO3 que incluía POSOY extruido en sus dietas fue siempre superior al TTO 2 (POSOY tostado) y levemente inferior al TTO1 control que alcanzó un rendimiento productivo global muy alto. Cabe destacar los extraordinarios valores de conversión obtenidos por los 3 tratamientos, que también se ve reflejado en el costo alimentario de la ganancia de peso.

El margen bruto (MB, en base a precios a la fecha de realización del trabajo), derivado de los valores de peso vivo, costo alimentario (el precio del alimento se obtuvo del promedio de los valores del periodo inicial y final) y ganancia de peso, fue menor para el TTO2 y muy semejantes para los TTO 1 y 3, pero mayor para TTO1 control.

Las cifras globales de mortalidad (entre 2,2% y 7%) fueron, en general, representativas de las mortalidades alcanzadas por este tipo de crianzas en la industria del broiler comercial local. Además, la mayor proporción de las muertes fue por "problemas de patas", que se acentuaron por su crianza en baterías y el peso logrado por las

aves, sin duda que en una crianza en piso este problema disminuiría notablemente.

Los resultados de peso vivo, consumo de alimento y conversión, logrados por los tres tratamientos al término de este estudio, se comparan muy favorablemente, con los indicadores referenciales de la línea genética Ross-308, para pollos broiler machos (Tabla 5). Por otra parte, son coincidentes con los resultados informados por Campabadal y col. (1985), Buitrago (1992), Bos y Flikweert (1995), Mateos y col. (1996) y Popescu y Criste (2003).

Una de las características negativas que presenta el pollo broiler moderno asociada a su gran voracidad es el acumulo de grasa en los depósitos retroabdominales, viscerales y pericloacales. La adiposidad de las aves, a los 42 días de edad (Tabla 6), no mostró diferencias entre los tratamientos ($P \geq 0,05$), aunque el TTO1 control alcanzó, tanto en peso total como porcentaje del peso vivo, un mayor panículo adiposo que los otros tratamientos. Podría esperarse que la grasa de infiltración (en pechuga y muslo) fuese de buena calidad en todos los TTOs y especialmente en los TTOs 2 y 3, que incluían POSOY integral, por la presencia de ácidos grasos insaturados aportados por estos insumos, aunque no determinados en este estudio, si lo fue en el trabajo de Popescu y Criste (2003).

Los resultados alcanzados por las aves permiten afirmar que la incorporación tanto de POSOY tostado como extruido a las dietas de pollos broiler comerciales no afecta su respuesta productiva, permitiendo excluir a proteínas de origen animal en la dieta a partir de los 26 días de edad. Además, posibilita disminuir la participación del maíz y de una fuente energética

Tabla 5. Comparación entre los indicadores productivos del ensayo y los estándares de la línea genética

| Indicadores | TTO1 (AS) | TTO2 (PST) | TTO3 (PSE) | Línea ROSS |
|----------------------|-----------|------------|------------|------------|
| Peso vivo g | 2.611 | 2.441 | 2.573 | 2.616 |
| Consumo alimento g | 4.116 | 4.120 | 4.090 | 4.353 |
| Conversión alimentos | 1,62 | 1,74 | 1,64 | 1,66 |

Tabla 6. Indicadores de adiposidad de los pollos al término del ensayo. Promedios \pm desviación estándar

| Indicadores | TTO 1(AS) | TTO 2(PST) | TTO 3(PSE) |
|--|-----------------|------------------|-----------------|
| Peso de panículo adiposo g | 45,6 \pm 12,8 | 38,1 \pm 10,69 | 36,9 \pm 6,08 |
| Peso del panículo adiposo como % del peso vivo | 1,72 \pm 0,46 | 1,53 \pm 0,38 | 1,45 \pm 0,26 |

vegetal, que eventualmente podría rebajarse o eliminarse si el nivel de inclusión del POSOY integral fuese superior al empleado en este trabajo. En dietas comerciales, sin duda que además de las ventajas nutricionales de los insumos evaluados, lo que condiciona la participación de ellos es su disponibilidad y precio en el mercado.

REFERENCIAS

- 1.- APA. Asociación Productores Avícolas de Chile. AG. 2008. <http://www.apa.cl>. (consulta 05/05/08).
- 2.- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY. (A.O.A.C). 1995. Oficial methods of analysis. 16° ed. Editada por Patricia Cunniff. Washington D.C., E.E.U.U.
- 3.- ABURTO A, VAZQUEZ M, DALE NM. 1998. Strategies for utilizing over-processed soybean meal: 1. Amino acid supplementation, choline content and metabolizable energy. *Journal Applied Poultry Research* 7(2): 189-195.
- 4.- BOS C, FLIKWEERT S. 1995. Effect on broiler performance on increasing amounts of fullfat soybean in the diet. *In: Proceedings Arkansas Nutrition Conference 1995, Arkansas, USA* pp. 266-275.
- 5.- BUITRAGO J. 1992. Soya integral en alimentación de aves. Asociación Americana de Soya. Santa Fe de Bogota, D.C., Colombia, 27 p.
- 6.- CAMPADABAL C, VAQUERO M, LEDESMA R. 1985. Utilización de la soya integral en la alimentación de pollos de engorde. *Agronomía Costarricense* 9 (1): 29-35.
- 7.- CORNEJO S, HIDALGO H, ARAYA J, POKNIAK J. 2008. Suplementación de dietas de gallinas de postura comercial con aceites de pescado de diferentes grados de refinación. Efectos productivos en las aves y en la calidad organoléptica de los huevos. *Arch Med Vet* 40: 45-50.
- 8.- CORDEIRO A. 1989. Manejo de la relación energía-proteína en machos broiler: efecto en los rendimientos productivos en el engrasamiento de la carcasa y en los indicadores del metabolismo lipídico. Tesis postgrado. Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. pp. 22-23.
- 9.- DALE, N. 2000. Use of soy bean meal in poultry feeds: current perspectives. *In: VII Seminario Internacional de Patología y Producción Avícola. Valdivia, Chile. 24-26 Mayo 2000. Univ. Austral de Chile. Asoc. Médicos Vet. Especialistas en Avicultura (AMEVEA-CHILE).* pp 22-27.
- 10.- ESTÉVEZ AM, ESCOBAR B, CASTILLO E. 1992. Desarrollo de productos extruidos de fácil consumo utilizando materias primas de importancia regional. Departamento de Agroindustria y Enología, Universidad de Chile; INTEC Chile; DIPA Ltda.
- 11.- FRANK G. 1988. How to improve the quality of fullfat soybeans an other legumes by hydrothermal treatment. *Feed Magazine international. Nov-Dec* pp 42-42.
- 12.- GILL C. 1988. Commitment to full fat soya?. *Feed International* 10(9): 12-16.
- 13.- KLASING KC. 1998. Comparative Avian Nutrition. Ed. Cab International. London. Reino unido. 1ª ed. Capítulo 7 pp. 171-200, 350 p.
- 14.- KOHLMEIER RH. 1996. Quality aspects of soybean meal and fullfat soya research findings and recommendations for quality control. Edt. ASA, Bruselas, Bélgica.
- 15.- LEESON S, SUMMERS JD, DÍAZ GJ. 2000. Nutrición Aviar Comercial. S.e. Santa fe de Bogota, D.C., Colombia. pp 47-51.
- 16.- LIENER IE. 2000. Non- Nutritive factors and bioactive compounds in soy. *In: Drackley, J.K. (Ed.). Soy in animal Nutrition. Federation of Animal Science Societies. Savoy, Illinois, USA.* pp. 13-45.
- 17.- MATEOS G, GARCÍA P, MEDEL P. 1995. The use of fullfat soybean in diets of poultry. *In: Proceedings Arkansas nutrition. Conference 1995, Arkansas, USA.* pp. 324-330.
- 18.- MATEOS GG, GARCÍA P, MEDEL P. 1996. The use of fullfat soybeans in diets for poultry. p.p. 324-337. *In: 2nd Int. Fullfat Soya Conference. Edt. ASA. Budapest, Hungary.*
- 19.- MITCHELL RJ, WALDROUP PW, HILLARD CM, HAZE KR. 1972. Effects of pelleting and particle size on the utilization of roasted soybeans by broilers. *Poultry Science* 51: 506-510.
- 20.- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1994. Nutrient Requiriments of Domestic Animals. Nutrient Requiriments of Poultry. 9° ed. rev. National Academy of Science Press. Washington, D.C., USA. 155 p.
- 21.- PANIAGUA RM. 1999. Evaluación de un proceso de expansión de alimentos en dietas comerciales para pollos broiler. Memoria de Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 50 p.
- 22.- POPESCU A, CRISTE R. 2003. Using fullfat soybean in broiler diets and its effect on the production and economic efficiency of fattening. *Journal of Central European Agriculture* 4; (2): 167-174.
- 23.- REGLAMENTO SANITARIO DE LOS ALIMENTOS. 2002. Ministerio de Salud Decreto Supremo N° 977 (Publicado en el Diario Oficial de 13 de mayo de 1997) Título X de las grasas y aceites comestibles. Capítulo X.
- 24.- ROJAS SW, GÓMEZ JA. 1988. Empleo de soya integral cruda en dietas de gallinas ponedoras. *Informaciones Avícolas* 119: 17-18.
- 25.- SAS INSTITUTE. 1985. SAS® User's guide: Statistics. Version 5ª Edition. SAS Institute Inc. Cary N.C. pp. 97.
- 26.- SOKAL R, ROHLF FJ. 1981. Biometry. The principles and practice of statistic in biological research. 2° ed. Freeman and Company. New York, USA. 859 p.

Trabajos Originales

Determinación de nitrito en suero sanguíneo y líquido sinovial de articulación carpal equina con inflamación aguda y con daño crónico reagudizado

HÉCTOR ADARMES A.¹, M.V., Mg., BQ., MAURICIO QUEZADA C.¹, M.V., ARNALDO CROXATTO A.², M.V., ANDREA MÜLLER S.¹ M. V., y MARCO GALLEGUILLOS C.¹ BQ., Mg BQ.

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

² Hipódromo Chile. Av. Hipódromo Chile 1715 Independencia, Santiago.

ABSTRACT

NITRATE DETERMINATION IN BLOOD SERUM AND SYNOVIAL FLUID OF EQUINE CARPAL JOINT WITH ACUTE INFLAMMATION AND IN CHRONIC DAMAGE WITH INFLAMMATORY REACUTNESS

Osteoarthritis (OA) is the most common chronic joint disease in horses, wick striking feature is fibrillation and loss of articular cartilage. Nitric oxide (NO·) has been implicated as an important biological mediator of OA and its production from chondrocytes is significantly higher in OA cartilage compared with that in controls. NO· shows increased content in the serum and synovial fluid with OA. Endogenously produced NO·, reduces the synthesis of cartilagenous matrix and induces condrocytes apoptosis in articular cartilage. NO· production is indirectly determined by measuring nitrite as stable end product by Griess reaction. The purpose of this study was to compare the nitrite average in synovial fluid and blood serum between equine groups with acute and chronic with reacute inflammatory joint profiles, to establish if the coger amount of cartilage in chronic cases translates into a lower nitrite concentration in synovial fluid and serum. Synovial fluid and serum samples were obtained from equines with acute inflammatory profile of the carpal joint (n = 10), most of them with chip fracture or synovitis diagnosed by X-ray and/or clinically diagnosed, and from equines whith chronic profile at the moment of obtaining the sample (n = 15). The synovial fluid protein concentration was similar in both groups and indicate inflammatory processes: 26,1 ± 6,2 g/L in acute and 25,2 ± 8,1 g/L in chronic conditions. Synovial fluid nitrite concentration showed no significant difference between these groups, and only a tendency to be higher in acute group (95,1 ± 41,4 µmol/L) compared with chronic group (75,8 ± 21,2 µmol/L). In all cases, serum nitrite concentration was higher than synovial fluid, but no significant difference was found between acute (471,4 ± 115,4 µmol/L) and chronic group (427,9 ± 101,9 µmol/L). These results suggest that lost of articular cartilage in the chronic damage group during inflammatory reacute, do not affect synovial fluid and serum nitrite concentrations compared with acute inflammatory process.

Key words: Nitric oxide, equine, joint.

Proyecto DID I - 14 - 2/2001. Universidad de Chile.

Santa Rosa 11.735 La Pintana, Santiago. Fax 9785526, E-mail: mgallegu@uchile.cl, casilla 2 correo 15, Santiago.

RESUMEN

La osteoartritis constituye la enfermedad articular crónica más frecuente en los caballos, que se caracteriza por fibrilación y pérdida de cartilago articular. El óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) se ha considerado como un mediador biológico importante de la OA, ya que su síntesis por condrocitos de cartilago OA es mayor que los controles normales y se ha descrito, que su concentración aumenta en el suero y líquido sinovial de pacientes osteoarthríticos. El $\text{NO}\cdot$ reduce la síntesis de matriz cartilaginosa e induce apoptosis de condrocitos en el cartilago articular. La producción de $\text{NO}\cdot$ se determinó indirectamente a través del contenido de nitrito como producto final estable, utilizando la reacción de Griess. El objetivo de este estudio fue comparar la concentración promedio de nitrito en el líquido sinovial (LS) de articulación carpal y suero sanguíneo de equinos Fina Sangre de Carrera con cuadros articulares inflamatorios agudos y crónicos reagudizados, para establecer si la menor cantidad de cartilago articular en el caso de los cuadros crónicos que cursan con reagudización, se traduce en una menor concentración de nitrito, tanto en el LS como en el suero sanguíneo. Los cuadros inflamatorios agudos ($n = 10$) correspondieron principalmente a fractura en esquirola y/o sinovitis diagnosticada clínica y/o radiológicamente al momento de obtener la muestra, mientras que los cuadros crónicos reagudizados ($n = 15$) correspondieron a cuadros de enfermedad degenerativa articular diagnosticada clínica y/o radiológicamente. Con el objetivo de caracterizar la naturaleza inflamatoria de ambos cuadros clínicos, se determinó la concentración de proteínas del LS y no se encontraron diferencias significativas entre el grupo agudo ($26,1 \pm 6,2$ mg/mL) y el crónico reagudizado ($25,2 \pm 8,1$ mg/mL). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la concentración de nitrito tanto en el LS entre los grupos agudo ($95,1 \pm 41,4$ $\mu\text{mol/L}$) y crónico reagudizado ($75,8 \pm 21,2$ $\mu\text{mol/L}$) como en el suero con valores de $471,4 \pm 115,4$ $\mu\text{mol/L}$ para el cuadro agudo y de $427,9 \pm 101,9$ $\mu\text{mol/L}$ en el cuadro crónico reagudizado. Se encontró que el contenido de nitrito del suero sanguíneo es significativamente mayor con respecto al LS. Sin embargo, no se encontró diferencias significativas en la concentración de nitrito en el LS y en el suero entre los grupos agudo y crónico reagudizado, lo que indicaría que la pérdida de cartilago en el cuadro crónico no se refleja en una menor síntesis de $\text{NO}\cdot$ en este caso y sugiere que la concentración de nitrito no constituye un marcador molecular de la pérdida de cartilago durante el proceso inflamatorio.

Palabras clave: Líquido sinovial, suero sanguíneo, nitritos.

INTRODUCCIÓN

La cojera constituye uno de los problemas clínicos más frecuentes en los equinos de competencia, que se origina habitualmente por traumas agudos. Esta cojera puede hacerse crónica debido al deterioro del cartilago articular, junto a cambios en el hueso subcondral y de los tejidos blandos de la articulación, que caracterizan a la osteoartritis o enfermedad degenerativa articular (EDA) (McIlwraith 1996, Goldring 2000, Notoya y col., 2000, Sandell y Aigner 2001).

El trauma articular provoca ruptura celular y activación de fagocitos, fenómenos que conducen al incremento de especies reactivas del oxígeno (ROS) que exacerban el daño articular iniciado por el trauma. Además, el aumento de citoquinas proinflamatorias como interleuquina- 1β ($\text{IL-1}\beta$),

interferón gamma ($\text{INF}\gamma$) y $\text{TNF}\alpha$ (factor de necrosis tumoral α), inducen la síntesis de óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$) (Bird y col., 2000) que constituye un mensajero molecular que inhibe la síntesis de proteoglicanos (Taskiran y col 1994, Goodstone y Hardingham, 2002), aumenta la actividad de metaloproteinasas en el cartilago (Murrell y col 1995), induce la apoptosis de condrocitos tanto en el cartilago (van't Hof y col., 2000) como en condrocitos aislados (Blanco y col 1995). Así el $\text{NO}\cdot$ participaría en la patogenia de muchas enfermedades que incluyen la EDA en especies como el hombre, el perro y el equino, debido a que es sintetizado por condrocitos y sinoviocitos como consecuencia del estímulo de las citoquinas proinflamatorias (von Rechenberg y col., 2000, Davis y col., 2001, Spreng y col., 2001, Goodstone y Hardingham, 2002, Tung y

col., 2002).

El NO \cdot se sintetiza a partir de la L-arginina, por una familia de enzimas conocida como óxido nítrico sintasa (NOS) con tres isoformas, NOS-I, NOS-II y NOS-III (Moshage 1997, Clancy y col 1998, Stichtenoth y Frölich 1998; Ersoy y col 2002). La NOS-I y la NOS-III anteriormente descritas como NOS constitutivas (cNOS), actualmente se describe que su expresión puede ser modificada por diversos factores, que incluyen al ejercicio y la hipoxia, entre otros (Föstermann y col 1998). Por otro lado, la NOS-II se expresa en células estimuladas por citoquinas proinflamatorias y al no ser regulada su actividad por la concentración de Ca²⁺ intracelular, produce niveles mucho más altos de NO \cdot en comparación con la NOS-I y la NOS-III (Stichtenoth y Frölich 1998, Davis y col., 2001). Se ha descrito *in vitro*, que el condrocito es capaz de sintetizar NO \cdot al ser inducido por citoquinas y lipopolisacáridos (Stadler y col., 1991) y que además, activa metaloproteinasas en el cartílago articular (Murrell y col., 1995).

La cuantificación de NO \cdot es difícil en medios biológicos, debido a su corta vida media (de 6 a 10 segundos) y a sus bajas concentraciones. Sin embargo, se puede cuantificar a través de sus metabolitos estables: nitrito y nitrato (Moshage y col., 1995, Moshage 1997, Stichtenoth y Frölich 1998, Miranda y col., 2001, Spreng y col., 2001, Ersoy y col., 2002). El nitrito es el único producto estable resultante de la autooxidación del NO \cdot en soluciones acuosas como líquido cefalorraquídeo y líquido sinovial. El nitrato en cambio, se forma por la reacción entre el NO \cdot y la oxihemoglobina, lo que implica que el nitrato existe en mayor proporción en plasma y suero. Se ha establecido una alta correlación entre la producción de NO \cdot y los niveles de nitrato o nitrito en plasma, suero y orina, y su medición permitiría estimar la producción real de NO \cdot *in vivo* (Stichtenoth y Frölich 1998, Miranda y col., 2001, Ersoy y col., 2002).

Se han encontrado altos niveles de nitrito + nitrato en el suero y en el líquido sinovial de pacientes humanos con artritis reumatoidea (RA), EDA y en animales con EDA inducida experimentalmente o con artritis autoinmune (Ersoy y col., 2002). Además, se encontró que el nitrito está más concentrado en el líquido sinovial que en el suero, lo que indicaría la síntesis intraarticular de NO \cdot (Stichtenoth y Frölich 1998). En

ratas osteoartíticas se ha visto incremento de la expresión de NOS II y del contenido de nitrito (Grabowsky y col., 1997, Castro y col., 2006). Un resultado similar se observó en condrocitos osteoartíticos humanos sometidos a estrés mecánico (Lee y col 2002).

En este estudio se intentó establecer si la concentración de nitrito del líquido sinovial tiene relación con la concentración en suero sanguíneo de equinos, utilizando un modelo articular inflamatorio *in vivo* y espontáneo. Se busca establecer si la eventual alteración del cartílago en el cuadro crónico reagudizado, disminuye la concentración de nitrito tanto en el líquido sinovial como en el suero equino (van't Hof y col., 2000, Kim y col., 2003), comparado con el cuadro agudo sin antecedentes de EDA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico. Se obtuvo sangre sin anticoagulante por venipuntura yugular y líquido sinovial (LS) por artrocentesis aséptica, previa a la artroscopia, tanto de carpo con inflamación aguda como de carpo con daño crónico reagudizado, de equinos FSC del Hipódromo Chile. Los cuadros agudos correspondieron a sinovitis y/o fracturas en esquirola (n = 10), sin antecedentes anamnésticos de lesión previa ni signos radiológicos compatibles con cuadros crónicos, al momento de obtener la muestra. Los casos de daño crónico con reagudización (n = 15) incluyeron principalmente cuadros de EDA reagudizados de carpo, diagnosticados radiológicamente y también algunos animales que sin tener un diagnóstico radiológico, poseían antecedentes clínicos de cronicidad del cuadro.

Las muestras de suero y de líquido sinovial se centrifugaron a 1.000 x g durante 15 minutos. Los sobrenadantes fueron alicuotados y conservados a -20°C hasta su procesamiento.

Determinación de proteínas. En los sobrenadantes de las muestras de suero sanguíneo y de LS, se determinó la concentración de proteínas por el método espectrofotométrico de Lowry y col (1951) utilizando seroalbúmina de bovino (BSA) como estándar. El objetivo de establecer la concentración de proteínas en el líquido sinovial se relaciona con caracterizar el proceso inflamatorio (Adames y col., 2008) y además,

para ambas muestras, verificar la ausencia de proteínas posterior a la dilución con etanol, en la determinación de nitrito.

Determinación de nitrito. En las muestras de LS y suero sanguíneo se determinó la concentración de nitrito utilizando la reacción de Griess (Miranda y col 2001), que detecta específicamente nitrito y no nitrato (Moshage y col., 1995, Moshage 1997, Miranda y col., 2001). Dicha reacción se basa en la formación de un cromóforo por la reacción de sufanilamida con nitrito en medio ácido, seguido de un acoplamiento con aminas bicíclicas tales como el N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro.

Sin embargo, esta reacción se podría afectar por las proteínas del medio y por eso, las muestras de LS y suero se desproteinizaron (Miranda y col., 2001) por dilución 1:7 con etanol. Las proteínas precipitadas se separaron por centrifugación a 1.700 x g durante 15 minutos y se determinó la ausencia de proteínas en el sobrenadante por el método de Lowry y col., (1951).

A 300 µL de sobrenadante desproteinizado se agregó 300 µL de agua destilada y 300 µL del reactivo de Griess, el cual se preparó usando una relación 1:1 de N-1-(naftil) etilendiamina dihidrocloruro (NEDD) 0,1% p/v, y sulfanilamida (SULF) 2% p/v, en HCl al 5%. Esta mezcla se homogeneizó e incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos y se determinó su absorbancia a 540 nm. Se preparó una curva estándar con NaNO₂ 0,1 mM en volúmenes desde 9 hasta 100 µL (entre 0,069 µg y 0,69 µg de NaNO₂) utilizando como blanco agua destilada y reactivo de Griess. La concentración se expresó como µmoles de nitrito/L.

Análisis estadístico. Los valores promedio de nitrito, tanto del LS como del suero se compararon entre los grupos analizados, estableciéndose el nivel de significancia ($p < 0,05$) a través de un análisis de varianza y posteriormente por la prueba de Tukey Alfa (InfoStat 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las edades de los ejemplares fueron similares para ambos grupos, según los registros del Hipódromo. Así, la edad para el grupo agudo (n = 10) fue $3,8 \pm 1,1$ años y para el grupo crónico

reagudizado (n = 15) fue $4,6 \pm 1,6$ años (Tabla 1). Este antecedente se debe considerar, puesto que se ha descrito la disminución de la síntesis de NO· por los condrocitos a través de la edad (van der Harst y col., 2006).

La concentración de proteínas en el LS del cuadro agudo fue $26,1 \pm 6,6$ g/L, mientras que en el cuadro crónico reagudizado fue $25,2 \pm 8,1$ g/L, antecedente que indicaría la naturaleza inflamatoria de ambas condiciones (Tabla 1). Estos valores coinciden con lo detectado Adarmes y col. (2008), para cuadros de fractura en esquirola en equinos FSC del Hipódromo Chile y son mayores a los detectados en carpo macroscópicamente normal de equinos de matadero, utilizando la misma técnica espectrofotométrica en que se obtuvo una concentración de proteínas de $9,05 \pm 5,1$ g/L (Adarmes y col., 2008).

Al comparar la concentración de nitrito de LS de carpo equino en ambas condiciones clínicas, no muestran diferencias significativas, con valores promedio de $95,1 \pm 41,4$ µmol/L para el grupo agudo y de $75,8 \pm 21,2$ µmol/L para el grupo crónico reagudizado (Tabla 1). Sólo se aprecia una tendencia a la disminución del contenido de nitrito en el grupo crónico reagudizado con respecto al grupo agudo, lo que podría estar relacionado con la pérdida de cartílago y por ende, de condrocitos responsables de la mayor producción de NO· en la articulación (Studler y col., 1999). Se indica que los condrocitos de la capa superficial del cartílago constituyen una fuente importante de NO· (Hayashi y col., 1997), y por lo tanto, serían los más afectados por el daño del cartílago. Además, el incremento de NO· se relaciona con un incremento de la apoptosis de condrocitos en cartílagos osteoartroticos de equinos (Kim y col., 2003). Sin embargo, por otro lado se plantea que tanto el cartílago como los condrocitos obtenidos de articulaciones con OA, son las que producen mayor cantidad de NO·. Posiblemente en esos estudios *in vitro*, al considerar cantidades equivalentes de cartílago o de condrocitos para realizar la comparación entre el cartílago normal y el osteoartrotico, no se reflejaría la síntesis total de NO· en la articulación como ocurre en este estudio *in vivo*. Otro factor que podría influir corresponde a la edad de los ejemplares, ya que se ha descrito que la concentración de nitrito se incrementa significativamente en cartílago y hueso subcondral de caballos jóvenes comparado con caballos maduros (van der Harst y col., 2006).

Tabla 1. Edad promedio de los grupos analizados con su respectivo tamaño muestral. Concentración de proteínas (mg/mL) y de nitrito ($\mu\text{mol/L}$) en el líquido sinovial de la articulación carpal equina y en el suero sanguíneo de los mismos animales. Average age of analyzed groups with its. Protein (mg/mL) and nitrite ($\mu\text{mol/L}$) concentrations in synovial fluid of equine carpal joint and serum of the same animals

| Grupos | n | Edad Promedio (años) | Proteínas mg/mL | | Nitrito $\mu\text{mol/L}$ | |
|-------------|----|----------------------|-----------------|--|---------------------------|-------------------|
| | | | LS | | LS | Suero |
| Agudo | 10 | 3,8 \pm 1,1 | 26,1 \pm 6,6 | | 95,1 \pm 41,4 | 471,4 \pm 115,4 |
| Crónico | | | | | | |
| Reagudizado | 15 | 4,6 \pm 1,6 | 25,2 \pm 8,1 | | 75,8 \pm 21,2 | 427,9 \pm 101,9 |

Para descartar el efecto de la edad, en este trabajo se seleccionaron ejemplares de edades similares.

A diferencia de lo descrito por Stichtenoth y Frölich (1998), se encontró que la concentración de nitrito fue significativamente mayor ($p < 0,05$) en el suero con respecto al líquido sinovial. Posiblemente esta discrepancia se podría asociar a que los mediadores proinflamatorios como la IL- 1β , podrían ejercer su acción no sólo en la articulación afectada, sino que podrían estimular la actividad de la iNOSII en otros tejidos extraarticulares. Sin embargo, la concentración de nitrito sérico no demostró diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos agudo ($471,4 \pm 115,4 \mu\text{mol/L}$), y el crónico reagudizado ($427,9 \pm 101,9 \mu\text{mol/L}$) (Tabla 1). Entre el grupo agudo y el crónico reagudizado se aprecia una tendencia semejante a la observada en el líquido sinovial. La ausencia de diferencias significativas en la concentración de nitrito, tanto en el líquido sinovial como en el suero sanguíneo entre ambos grupos analizados, permitiría concluir que esta variable analizada no constituiría un predictor adecuado del daño del cartilago en el proceso osteoartítico durante su reagudización inflamatoria.

REFERENCIAS

- ADARMES H, VÁSQUEZ F, GALLEGUILLOS, M, GONZÁLEZ E. 2008. Detección de glicosaminoglicanos de la matriz del cartilago articular en el líquido sinovial de carpo equino con fractura en esquirra. Arch Med Vet 40: 77-81.
- BIRD JLE, MAY S, BAYLISS MT. 2000. Nitric oxide inhibits aggrecan degradation in explant cultures of equine articular cartilage. Equine Vet J 32: 133-139.
- BLANCO FJ, OCHS RL, SCHWARZ RL, LOTZ M. 1995. Chondrocyte apoptosis induced by nitric oxide. Am J Pathol 146: 75-85.
- CASTRO RR, CUNHA FG, SILVA FS, ROCHA FAC. 2006. A quantitative approach to measure joint pain in experimental osteoarthritis-evidence of a role for nitric oxide. Osteoarthritis Cartilage 14: 769-776.
- CLANCY RM, AMIN AR, ABRAMSON SB. 1998. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. Arthritis Rheum 2: 1141-1151.
- DAVIS KL, MARTIN E, TURKO IV, MURAD F. 2001. Novel Effects of nitric oxide. Annu Rev Pharmacol Toxicol 41: 203-236.
- ERSOY Y, ÖZEROL E, BAYSAL Ö, TEMEL I, MACWALTER RS, MERAL Ü, ALTAY ZE. 2002. Serum nitrite levels in patients with rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, and osteoarthritis. Ann Rheum Dis 61: 76-78.
- FÖRSTERMANN U, BOISSEL J, KLEINERT H. 1998. Expressional control of the 'constitutive' isoforms of nitric oxide synthase (NOS I and NOS II). Faseb J 12: 773-790.
- GOLDRING MB. 2000. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. Arthritis Rheum 43: 1916-1926.
- GOODSTONE NJ, HARDINGHAM TE. 2002. Tumor necrosis factor α stimulates nitric oxide production more potently than interleukin 1- β in porcine articular chondrocytes. Rheumatology 41: 883-891.
- GRABOWSKI PS, WRIGTH PK, VAN'T HOF RJ, HELFRICH MH, OSHIMA H, RALSTON SH. 1997. Immunolocalization of inducible nitric oxide sintase in synovium and cartilage in rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Br J Rheumatol 36: 651-655.
- HAYASHI T, ABE E, YAMATE T, TAGUCHI Y, JASIN HE. 1997. Nitric oxide production by superficial and deep articular chondrocytes. Arthritis Rheum 40: 261-269.
- HÉRAUD F, HERAÚD A, HARMAND M-F. 2000. Apoptosis in normal and osteoarthritic human articular cartilage. Ann Rheum Dis 59: 959-965.
- INFOSTAT. 2004. Infostat, versión 2004. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- KIM DY, TAYLOR HW, MOORE RM, PAULSEN DB, CHO D-Y. 2003. Articular chondrocyte apoptosis in equine osteoarthritis. Vet J 166: 52-57.
- LEE MS, TRINDALE MCD, IKENOUE T, SCHURMAN DJ, GOODMAN SB, SMITH RL. 2002. Effects of shear stress on nitric oxide and matrix protein gene expression in human osteoarthritic chondrocytes in vitro. J Orthop Res 20: 556-561.

- 17.- LOWRY OH, ROSEBROUGH NJ, FARR AL, RANDALL RJ. 1951. Protein measurement with the Folin's phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- 18.- MCILWRAITH CW. 1996. General pathobiology of the joint and response to injure. In: McIlwraith CW, Trotter GW. *Joint disease in the horse*. WB Saunders, Philadelphia, USA. Pp. 40-70.
- 19.- MIRANDA KM, ESPEY MG, WINK DA. 2001. A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* 5: 62-71.
- 20.- MOSHAGE H, KOK B, HUIZENGA JR, JANSEN PLM. 1995. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* 41: 892-896.
- 21.- MOSHAGE H. 1997. Nitric Oxide Determinations: Much Ado About NO - Thing? *Clin Chem* 43: 553-556.
- 22.- MURRELL GAC, JANG D, WILLIAMS RJ. 1995. Nitric oxide activates metalloproteinase enzymes in articular cartilage. *Biochem Biophys Res Commun* 206: 15-21.
- 23.- NOTOYA K, JOVANOVIC DV, REBOUL P, MARTEL-PELLETIER J, MINEAU F, PELLETIER JP. 2000. The induction of cell death in human osteoarthritis chondrocytes by nitric oxide is related to the production of prostaglandin E₂ via the induction of cyclooxygenase-2. *J Immunol* 165: 3402-3410.
- 24.- SANDELL LJ, AIGNER T. 2001. Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res* 3: 107-113.
- 25.- SPRENG D, SIGRIST N, SCHWEIGHAUSER A, BUSATO A, SCHAWALDER P. 2001. Endogenous Nitric Oxide Production in Canine Osteoarthritis: Detection in urine, serum and synovial fluid specimens. *Vet Surg* 30: 191-199.
- 26.- STADLER J, STEFANOVIC-RACIC M, BILLIAR TR, CURRAN RD, MCINTYRE LA, GEORGESCU HI, SIMMONDS RL, EVANS CH. 1991. Articular chondrocytes synthesize nitric oxide in response to cytokines and lipopolysaccharide. *J Immunol* 147: 3915-3920.
- 27.- STUDER R, JAFFURS D, STEFANOVIC-RACIC M, ROBBINS PD, EVANS CH. 1999. Nitric oxide in osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage* 7: 377-379.
- 28.- STICHTENOTH DO, FRÖLICH JC. 1998. Nitric oxide and inflammatory joint disease. *Br J Rheumatol* 37: 146-257.
- 29.- TASKIRAN D, STEFANOVIC-RACIC M, GEORGESCU H, EVANS C. 1994. Nitric oxide mediates suppression of cartilage proteoglycan synthesis by interleukin-1. *Biochem Biophys Res Commun* 200: 142-148.
- 30.- TOMITA M, SATO EF, NISHIKAWA M, YAMANO Y, INOUE M. 2001. Nitric oxide regulates mitochondrial respiration and functions of articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 44: 96-104.
- 31.- TUNG JT, VENTA J, CARON JO. 2002. Inducible nitric oxide expression in equine articular chondrocytes: effects of antiinflammatory compounds. *Osteoarthritis Cartilage* 10: 5-12.
- 32.- VAN DER HARST M, BULL S, BRAMA PA, BARNEVELD AB, VAN WEEREN PR, VAN DE LEST C. 2006. Nitrite and nitrotyrosine concentrations in articular cartilage, subchondral bone, and trabecular bone of normal juvenile, normal adult, and osteoarthritic adult equine metacarpophalangeal joints. *J Rheumatol* 33: 1662-1667.
- 33.- VAN'T HOF RJ, HOCKING L, WRIGHT PK, RALSTON SH. 2000. Nitric oxide is a mediator of apoptosis in the rheumatoid joint. *Rheumatology* 39: 1004-1008.
- 34.- VONRECHENBERG B, MCILWRAITH CW, AKENS MK, FRISBIE DD, LEUTENEGGER C, AUER JA. 2000. Spontaneous production of nitric oxide (NO), prostaglandin (PGE₂) and neutral metalloproteinases (NMPs) in media of explant cultures of equine synovial membrane and articular cartilage from normal and osteoarthritic joints. *Equine Vet J* 32: 140-150.

Trabajos Originales

Adenoma de la glándula del tercer párpado en el perro

ESTEFANÍA FLORES P.¹, M.V., GINO CATTANEO U.¹, M.V., ANDRÉS BASTÍAS P.¹, M.V., CARLOS M. GONZÁLEZ R.¹, M.V., PhD., FRANCISCA BAHAMONDES G.¹, Lic. M.V. y DENISE GRIMAU C.¹ M.V.

¹ Facultad de Cs Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

ADENOMA OF THE THIRD EYELID IN A DOG

The third eyelid (Nictitating Membrane) is located in the medial edge of the eye. It is a conjunctiva fold with a T-shaped cartilaginous skeleton, with a seromucous gland that envelops the base of the cartilage. The inner surface of the conjunctiva presents a cluster of lymphoid follicles. The gland is seromucous and has been described that produces 30% of the aqueous tear film. The 3rd eyelid may be affected by congenital abnormalities, such as dermoid and eversion of the cartilage, and acquired diseases, such as prolapse or protrusion of the gland, follicular conjunctivitis and neoplasia. The protrusion of the gland over the free edge of the third eyelid is described by its macroscopic form as “cherry eye” (Haws syndrome) and may correspond to inflammatory hyperplasia, displacement or prolapse of the gland, or neoplasm. The gland is “Prolapsed” when it exceeds the bands of connective tissue that fixed to the periorbital tissue. It describes the case of a male dog, Cocker spaniel, 5 years old, patient treated in Surgery, School of Veterinary Science, University of Chile. In the medial edge of the right eye showed a congestive increase in volume, conjunctivitis, blepharospasm and epiphora. The diagnosis, rule out prolapse of the gland because of hyperplasia inflammatory, by the age of the patient, because this is more common in younger individuals, and responds to local medical therapy. The gradual course from 3 years to 5 years, guided to a chronic disease, neoplasia, as the most likely. It was decided to perform the excision of the affected gland, under a protocol of general anesthesia composed of Atropine, Propofol, and Isoflurano. Escisional biopsy, with histopathological examination (hematoxylin-eosin staining), showed an sebaceous gland epithelium; highly differentiate, with moderate vascularization. The not encapsulated growth has well-defined edges, with surgical free margins. Histopathological diagnosis: Sebaceous gland adenoma.

Key words: Canine ophthalmology, Third eyelid, ocular neoplasia.

RESUMEN

El tercer párpado (membrana nictitante) se sitúa en el canto medial del ojo. Es un repliegue de conjuntiva con esqueleto cartilaginoso en forma de T, en relación al cual se ubica una glándula

Santa Rosa 11735, La Pintana. Casilla 2, correo 15, La Granja.
E-mail: eflores@uchile.cl

seromucosa envolviendo la base del cartílago. La cara interna de la conjuntiva presenta gran número de folículos linfoides en superficie. La glándula es sero-mucosa y se ha descrito que produce el 30% de la película lagrimal acuosa. Existen razas en las que por conformación anatómica hay una protrusión parcial continua, perros de ojos muy expuestos y párpados inferiores caídos (Cocker, Basset, Beagle y otros). El tercer párpado puede ser afectado por enfermedades congénitas, como dermoides y eversión del cartílago, y por enfermedades adquiridas, como la protrusión o prolapso de la glándula, conjuntivitis folicular y neoplasias. Las condiciones que significan protrusión de la glándula sobre el borde libre del tercer párpado son denominadas por su forma macroscópica como “ojo de cereza” (síndrome de Haws) y pueden corresponder a hiperplasia inflamatoria, desplazamiento o prolapso de la glándula, o neoplasias. La glándula se “prolapsa” cuando sobrepasa las bandas de tejido conectivo que la fijan a los tejidos periorbitales. Se describe el caso de un perro, macho, de raza Cocker de 5 años, paciente atendido en el Servicio de Cirugía de la Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En el canto medial del ojo derecho presentaba un aumento de volumen congestivo, conjuntivitis, y epifora. El diagnóstico diferencial, por la edad del paciente, descartó la hiperplasia inflamatoria, más frecuentes en los individuos jóvenes, de pocos meses, que responde a terapia médica local. El curso paulatino desde los 3 años a los 5 años, orientó a una patología crónica, neoplasia, como el más probable. Se decidió realizar la exéresis de la glándula afectada, bajo un protocolo de anestesia general compuesto de Atropina, Propofol, e Isoflurano. La biopsia escisional, al examen histopatológico, (tinción Hematoxilina-Eosina), mostró un epitelio glandular sebáceo sin atipia; altamente diferenciado, con vascularización moderada, un crecimiento no encapsulado, pero bien definido, de bordes quirúrgicos libres. Diagnóstico histopatológico: Adenoma de glándula sebácea.

Palabras clave; Oftalmología canina, tercer párpado, neoplasias oculares.

INTRODUCCIÓN

El tercer párpado o membrana nictitante (MN) (Figura 1, MN) es un repliegue de conjuntiva con esqueleto cartilaginoso en forma de T (Figura 1, Ct), cuya cara interna esta cubierta por la continuación de la conjuntiva bulbar, y la cara externa por la continuación de la conjuntiva palpebral, siendo el trazo horizontal de dicha T paralelo al borde libre de la MN. Sobre el trazo vertical del cartílago en T, se ubica una glándula sero-mucoide (Figura 1, Gl), histológicamente descrita como similar a la glándula lagrimal, que lo cubre tanto en su cara bulbar como en la externa o conjuntival. La superficie bulbar de la conjuntiva esta cubierta de folículos linfoides, que se ubican sobre la glándula. No existen estructuras musculares entre la MN y el párpado inferior y el globo ocular, y la mayor o menor protrusión de su borde libre dependerá de la posición del globo ocular (GO), que a su vez es determinada por la acción del músculo Retractor del ojo. Si se contrae el músculo, el globo ocular es retraído en la órbita y el borde libre aparece mas elevado; si se relaja el músculo, el GO se exteriorizará y

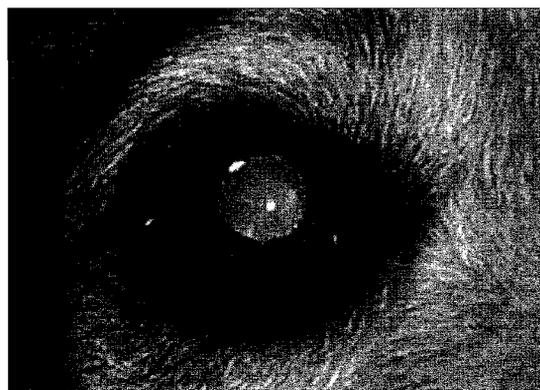


Figura 1. Esquema del tercer párpado, cartílago en T y glándula.

la MN se observará como un reborde mínimo. La base o parte más profunda de glándula estaría fijada al margen ventro-medial de la órbita sólo por bandas de tejido conectivo. La función de la MN es proteger el ojo cuando es retraído por un reflejo defensivo; además distribuye en la superficie ocular la película precorneal, importante en particular cuando hay defectos físicos que impi-

den el correcto cierre de los párpados superior e inferior, por conformación anormal o por daño de las ramas palpebrales del nervio aurículo-palpebral, que produce parálisis del músculo Orbicular Ocular. La glándula de la MN contribuye a la producción del estrato acuoso de la película lagrimal precorneal, en un % que es variable de un perro a otro, por lo que su extracción quirúrgica puede afectar la producción de lagrimas en un % variable, imposible de predecir, que puede significar una querato-conjuntivitis sicca aguda, post extracción, o de aparición a largo plazo, si la producción de lagrimas es comprometida por otras patologías al avanzar en edad. Las enfermedades quirúrgicas que pueden afectar la glándula son inflamación, hiperplasia, prolapso y neoplasias; y su síntoma común es la protrusión glandular (ojo de cereza). Para su diagnóstico diferencial se debe considerar edad, raza, tiempo de presentación y curso. La citología es de resultados variables y la confirmación definitiva es histológica. La inflamación responde a terapia local; el prolapso puede ser quirúrgicamente reducido y fijado en posición normal, la lesión tumoral debe ser enucleada y enviada a estudio histopatológico. Los procesos malignos son de pronóstico reservado; por sus condiciones de irrigación y ubicación es insegura la eficacia de una quimioterapia endovenosa, se investiga la aplicación de radiación controlada. La exéresis de la glándula elimina el factor irritante y proporciona el espécimen para diagnóstico definitivo. El eventual desarrollo de una Keratoconjuntivitis sicca secundaria es tratable.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Reseña:

Un canino, macho, mestizo Cocker, de 5 años, con peso corporal de 15 Kg, solicitó atención en el Servicio de Cirugía, del Departamento Ciencias Clínicas, de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile; como caso de oftalmología.

Anamnesis:

Hacia 2 años había comenzado con un cuadro de irritación y secreción serosa en el ojo derecho, que al progresar el grado de congestión ocular, se hizo mucosa. Fue tratado con colirios y pomadas oftálmicas con antibiótico, de aplicación local,

pero siguió progresando, proyectándose el tercer párpado o membrana nictitante sobre la superficie corneal, para culminar en al desarrollo de un aumento de volumen manifiesto en la cara interna de la estructura, que finalmente sobrepasó el borde, quedando expuesta al ambiente. No siendo eficiente la terapia local aplicada por más de un mes, decidieron concurrir a la Facultad.

Examen clínico:

A la inspección, su estado general era bueno, la cubierta corporal brillante, estaba alerta y activo y los valores de las constantes fisiológicas estaban dentro del rango considerado normal para la especie. Sólo presentaba una alteración evidente en su ojo derecho.

Examen oftalmológico

Se observaba en el canto medial del ojo un aumento de volumen con protrusión de tejido de la cara interna del tercer párpado, congestivo e inflamado, conjuntivitis y epifora (Figura 2).

Prediagnósticos:

La protrusión glandular (ojo de cereza), es el síntoma común a varias condiciones: inflamación, hiperplasia, prolapso y neoplasias.

El diagnóstico diferencial, al considerar la edad del paciente, eliminaba la hiperplasia inflamatoria, propia de los individuos más jóvenes, incluso de pocos meses, que responden a terapia médica local, ya aplicada sin respuesta se-



Figura 2. Tercer párpado aumentado de volumen (ojo de cereza), epifora, secreción mucosa.



Figura 3. Glándula tumoral en la cara interna de la membrana nictitante (MN). Se observan folículos linfoides.

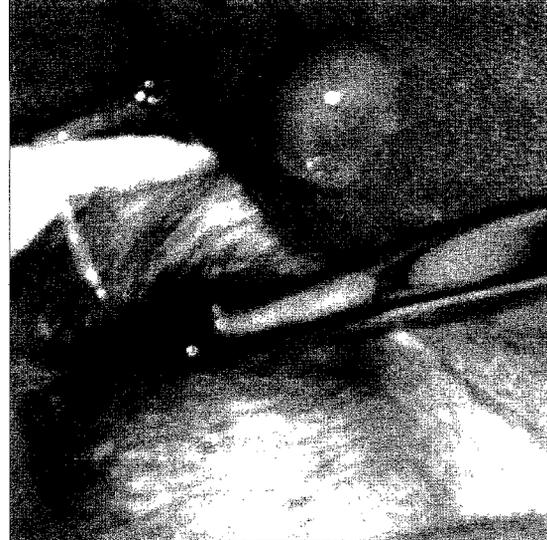


Figura 4. Glándula seccionada, hemostasis con pinza en la superficie conjuntival cortada.

gún anamnesis; y el prolapso de la glándula, que también es propio de los individuos jóvenes.

El curso paulatino desde los 3 años a los 5 años, orientó el prediagnóstico a una patología crónica, neoplasia, como el más probable.

Decisión terapéutica:

Considerando como más probable que se tratara de un proceso neoproliferativo, se decidió realizar la exéresis de la glándula afectada, bajo anestesia general.

Procedimiento anestésico:

Según la evaluación preanestésica, se trataba de un paciente adulto joven, clínicamente sano, sometido a un procedimiento quirúrgico programado (ASA1). El protocolo incluyó preanestesia con atropina, 0,04 mg/Kg PC, inducción con Propofol, y mantención anestésica con Isoflurano.

Técnica quirúrgica:

En el paciente colocado en la mesa de operaciones en decúbito lateral izquierdo, se aisló el campo operatorio mediante un paño de campo fenestrado, dejando expuesto el ojo derecho. Se procedió a sujetar el borde libre del tercer párpado con una pinza, facilitando la eversión de la masa que se asentaba en su cara interna (Figura 3). Se realizó, mediante una tijera fina de oftal-

mología, un corte en la base de implantación de la glándula, separándola mediante disección cuidadosa, haciendo hemostasis por pinzado de los vasos seccionados (Figura 4). Se verificó la hemostasis en la superficie medial del tercer párpado extendido mediante pinzas oftálmicas (Figura 5). El post operatorio consideró la protección del ojo operado mediante el uso continuo de collar isabelino por siete días, administración de colirio con antibiótico, cuatro veces al día, y de pomada

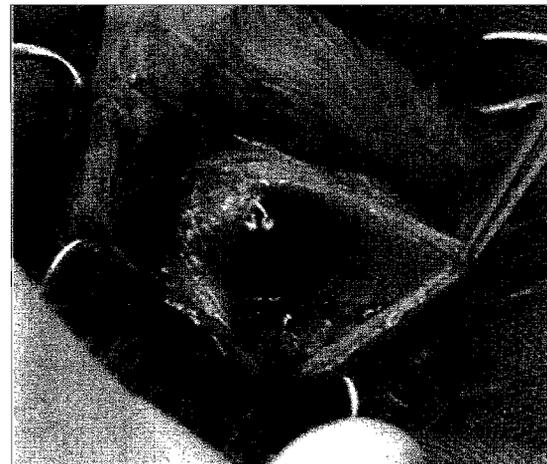


Figura 5. Blefarostato mantiene los párpados separados, superficie medial de la MN extendida mediante con pinzas para controlar hemostásis.

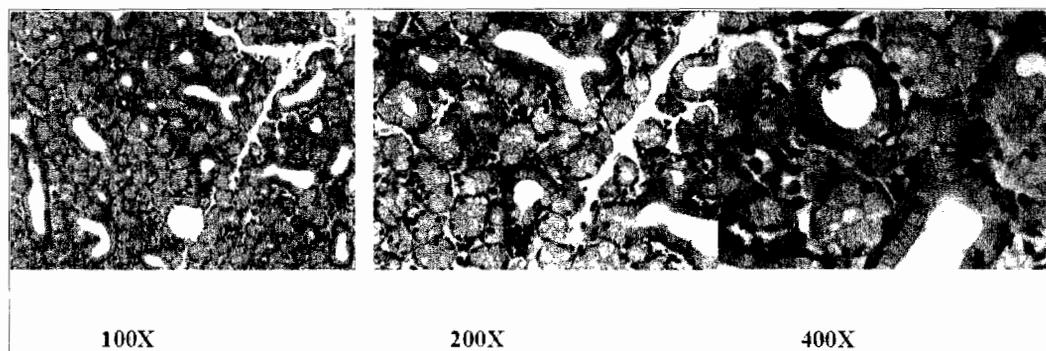


Figura 6. Estudio histopatológico: Tinción: Hematoxilina-Eosina. Tipo Celular Predominante: Epitelio glandular sebáceo sin atipia; en acinos formando masas lobulillares, con numerosos conductos quísticos, rodeados de escasas fibras colágenas. Descripción: Grado de diferenciación alto; índice miótico no apreciable; vascularización moderada; no hay necrosis ni inflamación neutrofílica: hay infiltración linfocitaria focal diseminada. El crecimiento no está encapsulado, pero si bien definido, con bordes quirúrgicos libres. Conclusión: Adenoma de glándula sebácea.

de igual composición en la noche. A la semana se controló y se dio de alta, con un control programado para seis meses después.

Diagnóstico histopatológico:

Adenoma de glándula sebácea (Figura 6).

DISCUSIÓN

La exéresis de la glándula es bastante discutida, se argumenta que su extracción favorecería la aparición de *queratitis sicca*, y su conservación prevendría su desarrollo. La decisión terapéutica de realizarla fue tomada basándose en la edad del paciente y los antecedentes anamnésticos; que aseguraban que ya había sido tratado con colirio y ungüentos oftálmicos por tiempo prolongado. Era dudoso que fuera un prolapso de la glándula, que en la gran mayoría de los casos es propio de animales jóvenes y finalmente, el tiempo de crecimiento paulatino relatado, hacía pensar en una neoplasia, que es una patología asociada a una mayor edad. Se pudo pensar en una citología preoperatoria, pero la citología es de resultados variables y va a requerir de la confirmación histológica, que fue la que se realizó, ya que la exéresis es una biopsia escisional. Si se hubiera tomado una citología previa, y obtenido un diagnóstico de neoplasia benigna, tampoco hu-

bera sido aconsejable dejarla en lugar, fijándola como en los prolapsos, dado que no hay ninguna seguridad que un cambio celular que lleva a una proliferación localizada, no metastazante, no pueda ser seguido o complicado con cambios malignos. La exéresis de la glándula afectada, como técnica era racionalmente radical y segura para cualquier neoplasia, si se compara con la extracción completa del tercer párpado, que mutila la estructura y no es aconsejable de realizar, por el alto riesgo de tener secuelas derivadas de la función mecánica y protectora del tercer párpado. Si la extracción de la glándula favorece una *queratitis sicca*, esta es tratable y no constituye amenaza vital a corto plazo, como sería una neoplasia maligna.

REFERENCIAS

- 1.- ANDRADE AL, FERNÁNDES MAR, BIAZZONO L, LUVIZZOTO MCR, CORREA C, SANTOSA A. Clinical Trial with ⁹⁰Strontium Low Radiation for Treatment of Third Eyelid Neoplasms in Dogs. 2003. In: Modiano J. F. (Ed.), *Genes, Dogs and Cancer: 3rd Annual Canine Cancer Conference, 2003 - Seattle, WA, USA*. Ithaca: International Veterinary Information Service (www. ivis.org), 2003; Document No. P3028.0903.
- 2.- BROOKS D. 1999. Current Concepts in veterinary ophthalmology. University of Florida. Gainesville.
- 3.- GELATT KN. 1991. *Veterinary Ophthalmology*. 2nd Edition, Lea & Febiger. Philadelphia. London.

***Corynebacterium pseudotuberculosis*: Una breve actualización**

FELIPE CHEUQUEPÁN V.^{1,2}, MARCO RÍOS C.^{1,2}, PEDRO ABALOS P.¹, M.V., M.Sc. y
PATRICIO RETAMAL M.¹, M.V., MSc., PhD.

¹ Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

² Alumno tesista.

ABSTRACT

CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS: A BRIEF UPDATE

Corynebacterium pseudotuberculosis is the causal agent of caseous lymphadenitis of sheep and goats (LAC), generating further cutaneous abscesses and granulomas in horses and cattle. LAC is a chronic, insidious and cosmopolitan disease. The infection has an endemic level in Chile, increasing its incidence during the dry season. However, the diagnosis is generally made by clinical signs usually being presumptive in nature. The aim of this paper is to present a brief review about the current state of infection, describing characteristics of the agent, the epidemiology and the alternatives for disease diagnosis.

Key words: *Corynebacterium, pseudotuberculosis*, review, caseous lymphadenitis.

RESUMEN

Corynebacterium pseudotuberculosis es el agente casual de la linfadenitis caseosa del ovino y caprino (LAC), generando además abscesos y granulomas cutáneos en equinos y bovinos. LAC es una enfermedad crónica, insidiosa y cosmopolita. La infección se encuentra a nivel endémico en nuestro país y es capaz de generar enfermedad y pérdidas económicas significativas principalmente en las épocas estivales, cuando es de mayor incidencia. Sin embargo, el diagnóstico se realiza generalmente por signos clínicos siendo generalmente de carácter presuntivo. El objetivo de este trabajo presentar una breve revisión del estado actual de la infección, considerando aspectos del agente, de la epidemiología y del diagnóstico de la enfermedad.

Palabras clave: *Corynebacterium, pseudotuberculosis*, revisión, linfadenitis caseosa.

El agente

Corynebacterium pseudotuberculosis es el agente causal de la linfadenitis caseosa del ovino (LAC), enfermedad crónica insidiosa, cosmopolita, que causa pérdidas productivas cuantiosas. La enfermedad afecta también al caprino con características epidemiológicas y patogénicas semejantes. La bacteria produce abscesos pectorales en equinos y granulomas cutáneos ulcerativos en bovinos. Las cepas que infectan a equinos tienen características fenotípicas diferentes a las que afectan a los pequeños rumiantes (Dorella y col 2006b, Baird y Fontaine 2007).

Por la constitución de su pared celular (polímero de peptidoglicano, arabinogalactano y ácidos micólicos) y de su ácidos nucleicos (alto contenido de G+C), *C. pseudotuberculosis* está integrado en el grupo denominado CMN, junto a micobacterias, rhodococcus y nocardias. En las extensiones para análisis microscópico tiene una disposición clásica de “letras chinas”, siendo Gram +, de crecimiento anaerobio facultativo rápido en medios adicionados con suero, cuyas colonias son de color pálido, secas, opacas y friables. En placas de agar-sangre las colonias presentan una delgada banda de beta-hemólisis a las 24 a 48 h de incubación, producida por la fosfolipasa D. En medios líquidos se desarrollan formando grumos, como consecuencia de sus ácidos micólicos. Las propiedades bioquímicas entre cepas son variables, especialmente ante la fermentación de fuentes de carbono, aunque todas las cepas que acidifican los medios no producen gas. La mayor diferencia entre cepas de pequeños rumiantes y las aisladas desde equinos, es que las primeras no reducen nitratos a nitritos. Los bovinos pueden infectarse con ambos tipos de cepas (Dorella y col 2006b, Baird y Fontaine 2007).

Los determinantes genéticos de virulencia de *C. pseudotuberculosis* no han sido muy estudiados, a pesar del impacto económico que genera esta infección en los planteles (Dorella y col 2006b). La mayoría de esos factores codifican o modifican la expresión de genes relacionados a virulencia, por lo que pueden ser utilizados como blancos potenciales para el desarrollo de vacunas, de fármacos quimioterapéuticos o en ensayos de diagnóstico del agente infeccioso. Entre estos factores se pueden mencionar:

- Fosfolipasa D. Corresponde a una exotoxina

que altera la permeabilidad vascular y afecta la función de los neutrófilos en la respuesta inflamatoria (D'Afonseca y col 2008). Debido a su inmunogenicidad se ha estudiado como potencial antígeno en vacunas. Además, se ha utilizado como blanco de amplificación en ensayos de PCR múltiple para discriminar entre aislados de *C. pseudotuberculosis* y *C. ulcerans*, una especie genotípicamente muy relacionada (Pacheco y col 2007). El análisis bioinformático de las secuencias *pld* indica la existencia de un 68% de identidad nucleotídica entre *C. pseudotuberculosis* y *C. ulcerans*.

- RecA. Es una proteína altamente conservada entre distintos géneros bacterianos, ya que participa en funciones básicas como recombinación homóloga, reparación del DNA y respuesta SOS (D'Afonseca y col 2008). Mutantes *C. pseudotuberculosis recA* han demostrado ser atenuadas e inmunógenas al ser incorporadas en vacunas (Pogson y col 1996).
- RpoB. Corresponde a la subunidad β de la RNA polimerasa, y su secuencia codificante se ha utilizado para estudios filogenéticos de algunos géneros bacterianos (Dorella y col 2006b, D'Afonseca y col 2008). A través de su secuencia también se han identificado especies de *Corynebacterium* (Khamis y col 2004, 2005).
- 16S rDNA. Como secuencia codificante del RNA ribosomal 16S, se ha utilizado en ensayos previos tanto para el diagnóstico como para el análisis filogenético del Género *Corynebacterium* (Khamis y col 2005). Con estudios realizados sobre la secuencia nucleotídica de este gen y de *rpoB* se ha determinado que *C. pseudotuberculosis* tiene una cercana relación filogenética con *C. ulcerans* (Khamis y col 2005, Dorella y col 2006b).

Patogenia

C. pseudotuberculosis produce en pequeños rumiantes la formación de piogranulomas en los nódulos linfáticos. La infección se inicia con el ingreso de la bacteria a través de lesiones generadas en el manejo de los ovinos, como la esquila y en menor medida los cortes de cola, marcaje y castraciones. Los baños sanitarios también contribuyen a la infección de pequeñas escoriaciones

de la piel cuando se han contaminado por abscesos abiertos. En caprinos, el consumo de forraje espinoso que lesiona la mucosa oral también es fuente de infección.

Cuando la bacteria esta dentro de la célula, la exotoxina fosfolipasa D produce la degeneración y destrucción de esta. Al mismo tiempo la bacteria invade otras células, principalmente macrófagos, que es el medio por el cual se disemina en el organismo. Sus lípidos de pared celular le confieren resistencia a las enzimas hidrolíticas de las células fagocíticas, permitiendo su supervivencia y proliferación en el ambiente intracelular (Dorella y col 2006b).

Esto genera la forma más corriente de presentación de la enfermedad correspondiente a la abscedación de nódulos linfáticos superficiales, debido al traslado del agente vía linfática hasta el linfonódulo regional. La otra forma de la enfermedad afecta nódulos linfáticos internos, especialmente del pulmón e hígado, como consecuencia de diseminación hematógena desde el conducto eferente de los nódulos linfáticos abscedados. Las lesiones de equinos y bovinos se producen por infección de heridas superficiales y también por la intervención de insectos hematófagos (Pinochet 1992, Yeruham y col 2004, Gädicke y col 2008).

En equinos los cuadros en que se reconoce a *C. pseudotuberculosis* como agente causal son: abscesos subcutáneos profundos a nivel pectoral y abdominal ventral siendo la presentación más frecuente, linfangitis ulcerativa, foliculitis y furunculosis (Baird y Fontaine 2007, Gädicke y col 2008).

En bovinos se describe la presentación de abscesos subcutáneos profundos, cuadros de mastitis e incluso casos de dermatitis necrótica del talón (Baird y Fontaine 2007).

Epidemiología

Los productores ovinos acostumbran a convivir con LAC. Sin embargo, en los últimos años ha aumentado la incidencia en países con endemia y aparecido en otros donde era considerada exótica, como en el Reino Unido. Su presentación se asocia a manejos específicos o bien al consumo de forraje seco, por lo que las temporadas estivales tienden a ser de mayor riesgo para la presentación de la enfermedad. Las pérdidas económicas se deben a la disminución en la condición corporal de los animales enfermos,

al pobre desarrollo del vellón, a la disminución en la producción de leche, desórdenes reproductivos, eliminación de animales infectados prematuramente y principalmente por la reducción en la producción de lana, aumento de los costos de inspección y decomisos de canales en matadero (Paton y col 1994, Cetinkaya y col 2002). En lesiones características de LAC de pequeños rumiantes, *C. pseudotuberculosis* puede recuperarse con una frecuencia de un 70 a 80%. Este porcentaje es aun mayor para equinos y bovinos, considerando abscesos pectorales y granulomas subcutáneos abscedativos, respectivamente (Yeruham y col 2004, Tadich y col 2005, Baird y Fontaine 2007). *C. pseudotuberculosis* también causa linfadenopatías purulentas en camélidos sudamericanos domésticos, lo que incidiría en la calidad y valor del pelo de estas especies (Braga 2007).

En el ser humano la infección es esporádica, especialmente como riesgo ocupacional en esquiladores, trabajadores de mataderos, carniceros, etc. Es de buen pronóstico, cediendo a los tratamientos con antibacterianos (Baird y Fontaine 2007).

Diagnóstico

Se han descrito diversas pruebas serológicas para el diagnóstico de LAC, pero estas tienen el inconveniente de una baja eficiencia diagnóstica y de ser incapaces de discriminar entre animales previamente expuestos de aquellos que mantienen el estado de portador (Pacheco y col 2007).

El diagnóstico de la infección se realiza principalmente con un examen clínico de las lesiones y la identificación de *C. pseudotuberculosis* mediante pruebas fenotípicas y bioquímicas (Cetinkaya y col 2002, Dorella y col 2006a, Dorella y col 2006b, D'Afonseca y col 2008).

La identificación por pruebas bioquímicas es a menudo problemático debido a la gran variabilidad en las características bioquímicas del patógeno. Además, este método no siempre es ventajoso o posible de realizar, ya que la punción de un linfonodo abscedado para obtener material purulento como muestra para el cultivo y aislamiento, puede convertirse en una potencial fuente de infección para otros animales debido a la descarga de contenido desde el absceso. Por otra parte las lesiones externas crónicas fibrosadas contienen escaso pus y pocos organismos viables (Cetinkaya y col 2002, Dorella y col 2006b,

D'Afonseca y col 2008).

Debido a la variabilidad fenotípica que tienen algunas cepas de *C. pseudotuberculosis* se ha sugerido que el PCR simplificaría la identificación de los cultivos de esta especie bacteriana (Cetinkaya y col 2002).

Al respecto, existen estudios previos que han reportado la utilidad del PCR para el diagnóstico rápido de *C. pseudotuberculosis* en aislados obtenidos directamente desde muestras de abscesos. Entre las secuencias utilizadas se encuentra la subunidad 16S del RNA ribosomal para el diagnóstico de la bacteria en caprinos y ovinos (Cetinkaya y col 2002), pero tiene el inconveniente de ser incapaz de discriminar entre *C. pseudotuberculosis* y *C. ulcerans*, ya que el 16S rDNA es un gen altamente conservado entre especies de un género (Khamis y col 2005). Para superar esta limitante, Pacheco y col (2007) reportaron el uso de un ensayo de PCR múltiple para la detección de *C. pseudotuberculosis* desde cultivos puros y desde muestras clínicas. Como blancos de amplificación incluyeron las secuencias 16S rDNA, *pld* y *rpoB*, obteniendo un método de alta sensibilidad, reproducibilidad y eficacia en el diagnóstico de la bacteria.

Situación Nacional

En Chile hay antecedentes de ocurrencia de LAC en ovinos desde los años 30 y se han realizado investigaciones en diagnóstico y vacunación, con resultados limitados tanto en sensibilidad y especificidad de las pruebas, como en protección de las vacunas, respectivamente (Pinochet 1992). En los últimos años se ha reconfirmado la enfermedad en ovinos con prevalencias altas en la Región de Aysén (Tadich y col 2005) y en nuestro laboratorio hemos venido aislando con mayor frecuencia el agente causal en abscesos pectorales de equinos. Además, por primera vez en nuestro país hemos logrado identificar la bacteria en abscesos subcutáneos de bovinos (datos no publicados).

Por otra parte, el díptero *Haematobia irritans* o comúnmente denominado "mosca de los cuernos", es un factor de riesgo epidemiológico que en los últimos años ha incidido en la transmisión de *C. pseudotuberculosis* entre animales durante los periodos estivales (Gädicke y col 2008). Las lesiones de LAC son corrientes de encontrar en ovinos y caprinos, ya sea en forma clínica o en mataderos de todo el país. En Chile, no existen

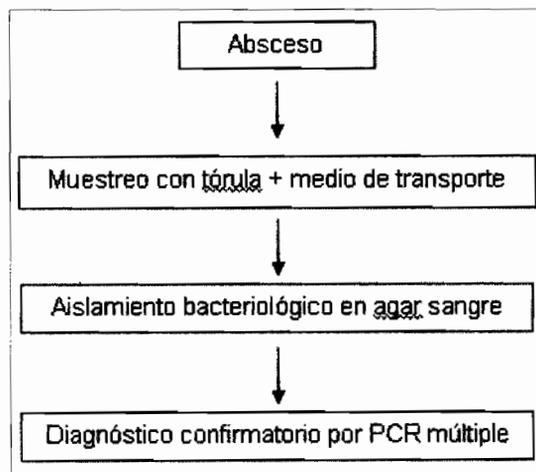


Figura 1. Etapas para el diagnóstico confirmatorio de *C. pseudotuberculosis*.

estudios sobre las características fenotípicas, genotípicas ni sobre los factores de patogenicidad de las cepas que afectan a las especies domésticas y el diagnóstico se realiza generalmente por los signos clínicos. Por este motivo, en nuestro laboratorio estamos realizando investigaciones que permitan generar mayor conocimiento de la enfermedad, especialmente en el ámbito epidemiológico y en el diagnóstico molecular de la infección. Como resultado de este trabajo sugerimos un procedimiento eficiente para la identificación directa del agente (Figura 1), implementado actualmente en nuestro laboratorio.

Finalmente, recomendamos a los veterinarios desarrollar un diagnóstico etiológico de los abscesos en sus animales, para facilitar sus procedimientos de control y mejorar el conocimiento epidemiológico que existe de *C. pseudotuberculosis* en nuestro país.

Agradecimientos: A los investigadores Consuelo Borie y José Pizarro, en cuyos laboratorios se han realizado algunos procedimientos experimentales. A los veterinarios Juan Lazo, Richard Arancibia, Enrique Pinto, Rigofredo Veneros y Marcela Gómez, que han participado en los muestreos de terreno.

REFERENCIAS

- 1.- BAIRD GJ, FONTAINE MC. 2007. *Corynebacterium*

- pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. J Comp Pathol 137: 179-210.
- 2.- BRAGA WU. 2007. Protection in alpacas against *Corynebacterium pseudotuberculosis* using different bacterial components. Vet Microbiol 119: 297-303.
 - 3.- CETINKAYA B, KARAHAN M, ATIL E, KALIN R, T DE BAERE, VANECHOUTTE M. 2002. Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. Vet Microbiol 88: 75-83.
 - 4.- D'AFONSECA V, MORAES PM, DORELLA FA, PACHECO LG, MEYER R, PORTELA RW, MIYOSHI, AZEVEDO V. 2008. A description of genes of *Corynebacterium pseudotuberculosis* useful in diagnostics and vaccine applications. Genet Mol Res 7: 252-60.
 - 5.- DORELLA FA, FACHIN MS, BILLAULT A, DIAS NETO E, SORAVITO C, OLIVEIRA SC, MEYER R, MIYOSHI A, AZEVEDO V. 2006a. Construction and partial characterization of a *Corynebacterium pseudotuberculosis* bacterial artificial chromosome library through genomic survey sequencing. Genet Mol Res 5: 653-63.
 - 6.- DORELLA FA, PACHECO LG, OLIVEIRA SC, MIYOSHI A, AZEVEDO V. 2006b. *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical properties, pathogenesis and molecular studies of virulence. Vet Res 37: 201-18.
 - 7.- GÁDICKE P, AZÓCAR G, OCAÑA M. 2008. Descripción de casos de absceso pectoral crónico y análisis de algunas variables asociadas a su presentación en equinos de la Provincia de Ñuble, Chile. Arch Med Vet 40: 39-44.
 - 8.- KHAMIS A, RAOULT D, LA SCOLA B. 2004. rpoB gene sequencing for identification of *Corynebacterium* species. J Clin Microbiol 42: 3925-31.
 - 9.- KHAMIS A, RAOULT D, LA SCOLA B. 2005. Comparison between rpoB and 16S rRNA gene sequencing for molecular identification of 168 clinical isolates of *Corynebacterium*. J Clin Microbiol 43: 1934-6.
 - 10.- PACHECO LG, PENA RR, CASTRO TL, DORELLA FA, BAHIA RC, CARMINATI R, FROTA NM, OLIVEIRA CS, MEYER R, ALVES FS, MIYOSHI A, AZEVEDO V. 2007. Multiplex PCR assay for identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from pure cultures and for rapid detection of this pathogen in clinical samples. J Med Microbiol 56: 480-6.
 - 11.- PATON MW, ROSE IR, HART RA, SUTHERLAND SS, MERCY AR, ELLIS TM, DHALI WAL JA. 1994. New infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* reduces wool production. Aust Vet J 71: 47-9.
 - 12.- PINOCHET L. 1992. Linfadenitis caseosa: un problema aún sin solución. Monografías de Medicina Veterinaria 14.
 - 13.- POGSON CA, SIMMONS CP, STRUGNELL RA, HODGSON AL. 1996. Cloning and manipulation of the *Corynebacterium pseudotuberculosis* recA gene for live vaccine vector development. FEMS Microbiol Lett 142: 139-45.
 - 14.- TADICH N, ÁLVAREZ C, CHACON T, GODOY H. 2005. Linfadenitis Caseosa (LAC) enovinos en la XI Región, Chile. Arch Med Vet 37: 161-167.
 - 15.- YERUHAM I, FRIEDMAN S, PERL S, ELAD D, BERKOVICH Y, KALGARD Y. 2004. A herd level analysis of a *Corynebacterium pseudotuberculosis* outbreak in a dairy cattle herd. Vet Dermatol 15: 315-20.

Artículos Generales

Bioequivalencia e intercambiabilidad de medicamentos de uso veterinario

DANIELA IRAGÜEN C.¹, M.V., Ph.D. (c), MARIO ACUÑA B.¹, M.V., ROSARIO TORO C.¹, CHERYL TELTING L.¹ y FRANCISCO RUBILAR B.¹

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

BIOEQUIVALENCE AND SWITCHABILITY OF VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS

Bioavailability studies are intended to determine bioequivalence among different pharmaceutical formulations, often involving the original and a newly introduced one in the pharmaceutical market. They allow estimating whether the velocity and magnitude of the absorbed principle are similar. The fact that two or more formulations are bioequivalent ensures a pharmacokinetic behavior similarity, which implies their switchability, therefore allowing the practitioner to choose the use of one or another with no impact on therapy success. Several international studies have shown that not every generic commercial pharmaceutical formulation is bioequivalent to its corresponding original product. This situation has motivated several governments to establish bioequivalence study regulations, whose fulfillment is mandatory for any registry and commercialization approval requested by pharmaceutical laboratories. Up to date, concerns about bioequivalence in our country have only reached the field of human medicine and are lacking in veterinary medicine. Consequently, there is no official available bioequivalence and switchability information for already registered and commercially available veterinary medicinal products. The aim of this review is to illustrate the importance of bioequivalence among veterinary pharmaceutical formulations and international policies. An outlook of the present local situation is also presented.

Key words: Medicinal veterinary product, bioavailability, bioequivalence, switchability.

RESUMEN

Los estudios de biodisponibilidad están destinados a determinar la bioequivalencia entre formas farmacéuticas similares, generalmente entre una formulación nueva y la original o innovadora en el mercado farmacéutico. Permiten estimar si la velocidad y magnitud a la que el principio activo es absorbido es similar. Al ser dos o más formulaciones farmacéuticas bioequivalentes, son además

Fuente de Financiamiento: Fondo de Investigación en Veterinaria FIV N° 1201401.902.001 Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

Av. Santa Rosa 11735, La Pintana, Santiago, Chile. Correo 2, Casilla 15, La Granja. Fono: 56-02-9785638. Fax: 56-02-9785613.

intercambiables, permitiendo al profesional utilizar indistintamente cualquiera de ellas sin afectar el éxito del tratamiento. Diversos estudios realizados a nivel internacional han demostrado que no todas las formulaciones farmacéuticas que son comercializadas como genéricas presentan dicha característica. Esta situación ha motivado a que los países establezcan normativas para realizar estudios de bioequivalencia, cuyo cumplimiento es de carácter obligatorio para que los laboratorios farmacéuticos soliciten el registro y la aprobación de comercialización de nuevas formulaciones farmacéuticas. A nivel nacional, la preocupación por la bioequivalencia entre medicamentos opera solamente en la medicina humana, donde actualmente hay regulaciones por parte del Ministerio de Salud que obligan a los laboratorios farmacéuticos a realizar estudios de bioequivalencia en unos pocos medicamentos. Por el contrario, en la medicina veterinaria no existe tal exigencia. En consecuencia, no hay información oficial que asegure la bioequivalencia y, por consiguiente, la intercambiabilidad de los medicamentos registrados para uso veterinario que son actualmente comercializados en el país. El objetivo de esta revisión es presentar la importancia de conocer la bioequivalencia entre formas farmacéuticas en la medicina veterinaria, las políticas actualmente vigentes y la situación nacional en la medicina veterinaria.

Palabras clave: Medicamento veterinario, biodisponibilidad, bioequivalencia, intercambiabilidad de medicamentos.

INTRODUCCIÓN

Un medicamento veterinario corresponde a toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades curativas o preventivas con respecto a las enfermedades animales. Se consideran también medicamentos veterinarios todas las sustancias composiciones que puedan administrarse al animal con el fin de establecer un diagnóstico médico o de restablecer, corregir o modificar las funciones fisiológicas del animal (Europa, 2001).

Un medicamento está compuesto por principios activos y excipientes. Un principio activo corresponde a la sustancia o mezcla de ellas dotadas de efecto farmacológico específico, o bien, que sin poseer actividad farmacológica, al ser administrada al organismo adquieren dicha propiedad. Los excipientes corresponden a cualquier materia prima utilizada en la manufactura de los medicamentos. Comúnmente, los medicamentos se expenden como formas farmacéuticas (FF), correspondiendo éstas al estado físico o forma en la cual se presenta un medicamento para facilitar su fraccionamiento, dosificación o empleo (Chile. Ministerio de Agricultura, 2005).

El rol que cumplen los excipientes en la FF, entre otros, es determinar el comportamiento farmacocinético del principio activo en términos de absorción, es decir, puede determinar el grado de disolución del principio activo desde la FF (La-

nusse y col., 1997; Lifschitz y col., 1999b; McKellar y Gokbulut, 2000; González col., 2009), entre otras consecuencias. Si el excipiente no permite la liberación del principio activo, éste verá su efecto terapéutico limitado o incluso anulado, haciendo la terapia inefectiva, perpetuando el cuadro clínico e incluso agravándolo. Por el contrario, es posible que la liberación del principio activo sea más rápida que la esperada, existiendo el riesgo que su concentración en plasma sea superior al rango terapéutico (Toutain y Bousquet-Melou, 2004), causando intoxicaciones con un curso clínico aún más complicado que la patología original.

Biodisponibilidad y Bioequivalencia

La biodisponibilidad (BD) de un fármaco corresponde a la velocidad y cantidad total (extensión) del principio activo que llega a la circulación general y, por lo tanto, al receptor a partir de la FF administrada (CPMP, 2001). La información de los estudios de BD para un determinado principio activo entrega una estimación de la fracción de la dosis administrada que alcanza la circulación sistémica al compararla con otras formas de administración del mismo principio activo. Provee información farmacocinética relacionada con la distribución, eliminación, efectos de los nutrientes en la absorción de la droga y el

tipo de cinética que tiene el fármaco, pudiendo ser ésta saturable o no (US-FDA, 2003). En estos estudios, la fisiología del animal (edad, sexo, ingesta de alimento) y las posibles patologías (sistemas afectados, severidad) toman importancia al ser factores que pueden afectar la BD de una droga.

Se entiende por bioequivalencia (BE) a la ausencia de diferencias estadísticamente significativas en la velocidad y magnitud a la que la molécula activa (principio activo) contenida en formas farmacéuticas similares ya sean éstas equivalentes farmacéuticos o en alternativas farmacéuticas, se encuentra disponible en el sitio de acción una vez administradas en el mismo sujeto a la misma dosis bajo condiciones similares en un estudio apropiadamente diseñado para ello (US-FDA, 2003). Cabe destacar en esta definición 2 conceptos: los equivalentes farmacéuticos corresponden a aquellas FF que contienen la misma cantidad de molécula activa, en la misma vía de dosificación que un estándar, las que no necesariamente son bioequivalentes ya que pueden contener excipientes diferentes. Las alternativas farmacéuticas, contienen el mismo principio activo, pero el fármaco puede ser diferente (sal, éster) o la dosis contenida en el medicamento es diferente (CPMP, 2001). Un estudio de BE tiene por objetivo establecer la equivalencia terapéutica de dos o más FF o entre dos vías de administración.

El producto de referencia o estándar es el medicamento innovador u original, al ser el primero que alcanzó el mercado luego del registro otorgado por la autoridad sanitaria correspondiente, sobre la base de estudios preclínicos y clínicos, farmacocinéticos, farmacodinámicos, de toxicidad, entre otros, que demostraron las tres características antes mencionadas. Un producto genérico corresponde a la formulación de un producto farmacéutico distinta a la del innovador, con el mismo principio activo y que puede comercializarse a menor precio, pero debe demostrar que la velocidad y magnitud a la que se absorbe, es similar a la del producto de referencia (Bavestrello, 2003).

La BE entre medicamentos se determina mediante estudios de biodisponibilidad (BD). Los estudios de BE o BD relativa corresponden a una medida comparativa de la calidad de una FF entre un producto nuevo con el estándar, en términos de la velocidad y la cantidad de principio

activo que entrega (Gaete col., 2003), siendo su objetivo final establecer la equivalencia terapéutica entre diferentes FF asegurando entonces su intercambiabilidad (Midha col., 1998; Toutain y Bousquet Melou, 2004). Dos o más formas farmacéuticas son intercambiables cuando demuestran BE y cumplen con los mismos estándares de calidad, eficacia y seguridad que el producto de referencia (Chile. Ministerio de Salud, 2005b), siendo posible realizar el cambio entre medicamentos genéricos o entre genéricos y el innovador.

Criterios para determinar bioequivalencia entre formas farmacéuticas

La "Food and Drug Administration" de los Estados Unidos de América (US-FDA) recomienda que para considerar bioequivalentes a dos productos farmacéuticos, éstos deben poseer la misma concentración de principio activo y la misma formulación (comprimidos, jarabe, cápsulas, suspensión, etc.). Sin embargo, más importante aún es que los parámetros farmacocinéticos concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) y área bajo la curva (ABC) obtenidos con ambos productos y expresados en forma logarítmica deben ser similares (US-FDA, 2003).

Cuando dos productos farmacéuticos tienen una BD comparable reflejada por una ABC y $C_{\text{máx}}$, dentro de rangos muy definidos, se considera que ellos son bioequivalentes. De esto se deduce que son alternativas farmacéuticas intercambiables y bajo las recomendaciones de la comisión de expertos en medicamentos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la copia debe recibir el nombre de producto genérico (Arias, 1999).

Con respecto a los límites de aceptación, se señala que en los estudios para determinar BE después de administrar una dosis única se deben analizar los parámetros de ABC y $C_{\text{máx}}$. Los resultados obtenidos para los dos parámetros mencionados deben ubicarse en un rango de similitud con el innovador entre 80 y 125%, fijando un intervalo de confianza de 90% (CVMP, 2001).

En el caso de los productos con estrecho margen terapéutico puede ser necesario estrechar el intervalo de aceptación, al ser productos con riesgo de diferencias clínicamente relevantes en eficacia o seguridad entre FF aún cuando

los criterios convencionales de BE (intervalo de confianza de 90% para la proporción del producto de prueba/producto de referencia para ABC y C_{\max} entre 80-125%) sean conocidos. En estos casos, generalmente se acepta un intervalo entre 90-111% (CVMP, 2001).

Normativas en bioequivalencia

En Europa, de acuerdo a lo indicado por el CVMP, los estudios de BE se exigen para los medicamentos veterinarios que contienen principios activos ya comercializados por otros laboratorios y que tengan o no la intención de ser comercializados como genéricos, así como también para medicamentos que quieren ser comercializados y que son administrados por una vía distinta al original (CVMP, 2001). En este último caso, se considera que dos vías de administración son BE cuando las concentraciones plasmáticas son similares.

Pese a lo anterior, la Unión Europea señala que existen algunas situaciones excepcionales en las cuales no es necesario demostrar bioequivalencia. Algunas de estas situaciones incluyen (1) medicamentos en solución para administración intravenosa que contiene la misma sustancia activa que en una solución intravenosa aprobada; (2) el medicamento será administrado por vía parenteral u oral y corresponde a una solución que contiene la misma sustancia activa y excipientes en la misma concentración que el medicamento previamente aprobado para la especie de destino; (3) FF idénticas; (4) medicamentos administrados por vía oral que no son absorbibles y (5) los anestésicos inhalatorios (CVMP, 2001).

La ejecución de los estudios de bioequivalencia también está regulada por el CVMP. Las recomendaciones entregadas por este organismo en las Guías para la Realización de Estudios de Bioequivalencia para Productos Veterinarios (CVMP, 2001) incluyen la selección del producto de referencia con el que se comparará el de estudio, los animales que deben ser utilizados, las dosis a estudiar, el tipo de muestra y los intervalos en los que éstas deben ser obtenidas, el diseño experimental y el análisis de los datos obtenidos.

En los Estados Unidos de América, la US-FDA regula los estudios de BD y BE que deben realizar los laboratorios que deseen incorporar

dichos estudios a las solicitudes de fármacos administrados por vía oral, ya sean éstas solicitudes para drogas nuevas con propósitos de investigación o drogas con el propósito de comercialización. En términos generales, la guía entrega, en términos generales, información relacionada con los estudios que se pueden realizar para demostrar BD y BE, como los estudios farmacocinéticos, farmacodinámicos, estudios clínicos comparativos y estudios *in vitro* (US-FDA, 2003). Además, señala los criterios que se deben adoptar para establecer una correcta comparación de los datos de BD para establecer correctamente la BE, los efectos que puede tener la presencia de alimento en la BD y/o BE y las consideraciones para estudiar drogas con prolongadas vidas de eliminación. Para fármacos que tienen estrecho margen de seguridad como teofilina, warfarina, digoxina entre otros, la US-FDA recomienda pruebas o controles adicionales que aseguren la calidad de los medicamentos que contienen dichos principios activos, con el objetivo de asegurar la intercambiabilidad entre los medicamentos con este tipo de principios activos.

Al analizar la situación en Chile en relación a la BE, el esfuerzo realizado por los organismos competentes evidencia la preocupación que merece esta característica en los medicamentos, al menos en la medicina humana. Las normas del Ministerio de Salud demuestran acciones secuenciales para lograr que la BE de los medicamentos sea una actividad obligatoria en el país. En el año 2005, mediante Resolución Exenta 726/05 (Chile. Ministerio de Salud, 2005a) se publicó la lista de 52 principios activos contenidos en productos farmacéuticos que deben establecer equivalencia terapéutica mediante estudios comparativos *in vivo* o *in vitro*, de los cuales 36 deben demostrar BE mediante estudios comparativos realizados *in vivo* (Chile. Ministerio de Salud, 2008b).

Siendo necesario entonces definir los procedimientos por los cuales se debía determinar la BE, en el año 2005 mediante Resolución Exenta 727/05 (Chile, Ministerio de Salud, 2005b) aprobó la norma que define los criterios destinados a establecer equivalencia terapéutica en productos farmacéuticos en Chile. Posteriormente, inició la exigencia de los estudios de BE, primero mediante la Resolución Exenta 3225 del 19 de mayo del 2008, en la que se estableció la fecha de vigencia para la exigencia de BE de productos farmacéu-

ticos que contienen en su formulación carbamazepina y clorfenamina maleato, estableciéndose el 2 de julio del 2008 la fecha a partir de la cual todos los productos farmacéuticos que soliciten registro y que contengan los principios activos antes mencionados, deberán presentar los protocolos de los estudios de BE respectivos (Chile. Ministerio de Salud, 2008a). De la misma manera, la Resolución Exenta 728 del 19 de febrero del 2009 publicada en el Diario Oficial de la República de Chile establece la fecha de vigencia para la exigencia de estudios de BE a productos farmacéuticos monodroga que contienen ciclosporina, diclofenaco (sódico y potásico), cloxacilina (sódica) y zidovudina, estableciéndose el 2 de abril del 2009 la fecha de inicio de exigencia de estudios de BE para los medicamentos que opten al registro y que contengan los principios activos recién mencionados (Chile. Ministerio de Salud, 2009).

En la medicina veterinaria no existe tal exigencia en relación a la bioequivalencia, agravándose esta situación con la amplia disponibilidad de productos farmacéuticos para un mismo principio activo. No hay estudios disponibles publicados que comparen el comportamiento farmacocinético de dos o más medicamentos veterinarios, por lo que no hay antecedentes disponibles que permitan al médico veterinario seleccionar entre una y otra FF presentes en el país tomando en cuenta la bioequivalencia. Por lo anterior, se desconocen las consecuencias de utilizar una u otra forma farmacéutica disponibles en el mercado al momento de instaurar una terapia.

El Servicio Agrícola y Ganadero proporciona un sistema de búsqueda en línea de medicamentos veterinarios que tienen registro para comercialización, al que se puede acceder desde la página web www.sag.gob.cl. El sistema de búsqueda informa de 13 FF de ivermectina oral para equinos, 34 de ivermectina (como principio activo único o asociado) parenteral para bovinos, 13 de fenbendazol para bovinos, 15 de enrofloxacin oral para caninos, 6 de amoxicilina sola o asociada con ácido clavulánico para caninos, entre muchos otros ejemplos (Chile. Servicio Agrícola y Ganadero, 2009). Respecto a lo anterior, cabe formular la interrogante siguiente: ¿estas formas farmacéuticas presentan un comportamiento farmacocinético similar entre ellas, o bien, en relación a un estándar y en consecuencia, se esperaría de ellas una similar eficacia clínica?. La

respuesta al menos daría cabida a la duda, ya que los antecedentes disponibles en la literatura nacional e internacional, no serían completamente satisfactorios.

Estudios de bioequivalencia en animales

Los estudios farmacocinéticos realizados en animales a nivel internacional fundamentan la importancia que la BE tiene al momento de seleccionar una FF. Lifschitz y col., (1999a) realizaron un estudio farmacocinético comparativo de dos formulaciones inyectables de ivermectina administradas por vía subcutánea en bovinos. Al analizar los parámetros farmacocinéticos área bajo la curva (ABC), tiempo en alcanzar la concentración máxima (tmáx), concentración máxima en plasma (Cmáx), vida media de eliminación ($t_{1/2}$) y tiempo medio de residencia (TMR) entre la formulación en estudio y la de referencia, éstos no presentaron variaciones superiores a las aceptadas para considerar a dos FF como bioequivalentes, siendo éstas -20% a +25% en relación a la de referencia (CVMP, 2001; USFDA, 2003). Por lo anterior, la FF estudiada pudo ser considerada bioequivalente e intercambiable. Lo contrario se evidenció en otro estudio realizado en el año 2004 por los mismos autores (Lifschitz y col., 2004) evaluando esta vez cuatro formulaciones de ivermectina administradas por vía subcutánea en terneros, considerando la FF de referencia Ivomec® del laboratorio Merial. Al analizar los mismos parámetros farmacocinéticos, los autores evidenciaron que las formulaciones de ivermectina que eran comercializadas como genéricas no cumplían dicha característica, al constatar importantes diferencias en los procesos de absorción entre las formulaciones.

Al evaluar la bioequivalencia en los antiparasitarios, diferencias en la biodisponibilidad sistémica y en la disposición de la droga en el organismo entre las FF puede afectar la eficacia y la persistencia de la actividad antiparasitaria en los fármacos endectocidas. La relación entre el tiempo de permanencia de las concentraciones del antiparasitario y la eficacia prolongada sobre los parásitos ya había sido estudiada con anterioridad por Goudie y col (1993) y Wicks y col (1993), quienes relacionaron las concentraciones plasmáticas con la actividad de ivermectina frente a *Cooperia oncophora*. Por otro lado, la efica-

cia más prolongada contra *Psoroptes ovis* en bovinos había sido demostrada utilizando una formulación oleosa de ivermectina 1% comparada con otras formulaciones de endectocidas (Brida y col., 2001; Rehbein y col., 2002), confirmando además el rol de los excipientes o vehículos en el comportamiento farmacocinético.

Los antimicrobianos son otro grupo de fármacos cuya BE ha sido estudiada en la medicina veterinaria. Enrofloxacino es uno de los antimicrobianos utilizados con mayor frecuencia en la práctica clínica. Sumano y col (2001a) compararon tres FF de enrofloxacino con la de referencia proveniente del laboratorio Bayer, en aves, constatando que ninguna de ellas podía considerarse bioequivalente con el fármaco de referencia.

El mismo año, Sumano y col (2001b) evaluaron la BE en nueve FF de enrofloxacino disponibles en el comercio para bovinos. Los resultados obtenidos indicaron que sólo una FF presentó una C_{max} similar a la fórmula de referencia, mientras que el ABC de la concentración sérica de enrofloxacino y sus metabolitos fueron diferentes en todas las FF estudiadas. El t_{max} y la vida media de eliminación ($t_{1/2}$) de las nueve FF consideradas genéricas presentaron diferencias significativas en comparación con la FF de referencia.

El Korchi y col (2001), evidenciaron la BE en dos FF comerciales de oxtetraciclina de larga acción en cerdos. Lo contrario fue lo señalado por Chong y col (2002) al evaluar otras dos FF del mismo antimicrobiano en conejos.

La existencia de FF no bioequivalentes para los principios activos analizados en los párrafos anteriores puede tener consecuencias para los animales, los sistemas productivos y los consumidores. Si bien es cierto, la mayoría de los antimicrobianos y antiparasitarios tienen un amplio margen de seguridad, la administración de FF no bioequivalentes puede determinar que las concentraciones plasmáticas sean menores que las necesarias para lograr un tratamiento eficiente. El empleo de antiparasitarios en dosis menores a las terapéuticamente efectivas seleccionaría rápidamente los parásitos resistentes. También se ha sugerido la supervivencia de heterocigotos y homocigotos resistentes, contribuyendo al establecimiento de una mayor población resistente en las siguientes generaciones de parásitos, lo que aún no ha sido demostrado. Por el contrario, existe también la posibilidad que los excipientes

presentes en la FF permita la liberación temprana del principio activo, alcanzando concentraciones más elevadas que el producto de referencia. En estos casos, las reacciones de toxicidad pueden ser poco frecuente, pero aún así es una situación que debe evitarse (Eddi y col., 2002).

Los sistemas productivos pueden verse afectados ya que la utilización de fármacos ineficientes obligará a realizar nuevos tratamientos, con los costos que ello significa en términos monetarios. Por otro lado, los animales afectados por bacterias resistentes perpetúan la enfermedad, siendo necesario aplicar nuevos tratamientos. Adicionalmente, las FF no bioequivalentes pueden presentar diferencias además en los procesos farmacocinéticos que dan cuenta de la eliminación del fármaco, constituyendo entonces un riesgo para los consumidores al estar expuestos a alimentos que podrían contener residuos de medicamentos. En este caso, además de considerar la BE como una característica clave para determinar la intercambiabilidad de medicamentos, también debe insistirse en que los períodos de resguardo deben ser determinados para cada formulación disponible en el mercado en cada una de las especies de destino que tenga el medicamento.

CONCLUSIÓN

Dentro de los muchos factores que determinan el éxito de una terapia, los antecedentes presentados evidencian la importancia que tiene contar con la información que señale la BE entre las formas farmacéuticas similares de un principio activo disponibles en el mercado. Sin embargo, se debe reconocer que generar esta información no es una tarea simple. La exigencia de la BE debe nacer de organismos gubernamentales, lo que implica la dictación de normas o decretos que obliguen a los laboratorios farmacéuticos a realizar los estudios de BE para solicitar el registro de las nuevas formulaciones y faculte a los organismos que otorgan el registro de exigirlos. De la misma manera, las normativas deben también regular el correcto diseño de los estudios a realizar, las consideraciones éticas al utilizar animales experimentales, tanto en número como en los procedimientos a los que son sometidos, los laboratorios en los que se analizarían las muestras obtenidas, los criterios necesarios para un

correcto análisis de datos que permita obtener conclusiones apropiadas para determinar la BE entre medicamentos.

Puede parecer muy ambicioso esperar que estas nuevas exigencias fueran efectivas para todos los medicamentos de uso veterinario. Al igual que en la medicina humana, éstas podrían iniciarse cubriendo un espectro reducido de fármacos que incluya, por ejemplo, algunos antimicrobianos para evitar el desarrollo de resistencia bacteriana, o incluir fármacos a los que se les reconoce un estrecho margen de seguridad para evitar cuadros de toxicidad o ineficacia terapéutica. En ambos casos, la bioequivalencia terapéutica tiene consecuencias graves para los pacientes.

REFERENCIAS

- 1.- ARIAS T. 1999. OPS/Glosario de Medicamentos: desarrollo, evaluación y uso. 1: 1-225.
- 2.- BAVESTRELLO L. 2003. Bioequivalencia: ¿Debemos exigirla? *Rev Chil Infect* 20 (Supl 1): 38-40.
- 3.- BRIDA A, CARVALHO L, CRAMER L, BARRICK R. 2001. Efficacy of a long formulation of ivermectin against *Psoroptes ovis* (Hering 1838) on cattle. *Vet Parasitol* 97: 277-283.
- 4.- CHILE. MINISTERIO DE AGRICULTURA. 2005. Reglamento de Productos Farmacéuticos de uso Exclusivamente Veterinario. 37 p.
- 5.- CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2005a. Resolución Exenta N° 726/05. Listas de principios activos contenidos en productos farmacéuticos que deben establecer equivalencia terapéutica mediante estudios *in vivo* o *in vitro*. 5 p.
- 6.- CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2005b. Resolución Exenta N° 727/05. Aprueba norma que define los criterios destinados a establecer equivalencia terapéutica en productos farmacéuticos en Chile. 53 p.
- 7.- CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2008a. Instituto de Salud Pública. Resolución Exenta 3225 del 19 de mayo del 2008. Establece fecha de vigencia para la exigencia de estudios de bioequivalencia de productos farmacéuticos monodroga que contienen clorfenamina maleato y carbamazepina. 2 p.
- 8.- CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2008b. Resolución Exenta N° 934. Modifica Resolución 726/05, que determina las listas de principios activos contenidos en productos farmacéuticos que deben establecer equivalencia terapéutica mediante estudios "*in vivo*" o "*in vitro*". 3 p.
- 9.- CHILE. MINISTERIO DE SALUD. 2009. Resolución Exenta N° 728. Establece fecha de vigencia para la exigencia de estudios de bioequivalencia a productos farmacéuticos monodroga que contienen ciclosporina, diclofenaco (sódico y potásico), cloxacilina (sódica) y zidovudina. 3 p.
- 10.- CHILE. SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO. 2009. Sistema en línea de búsqueda de medicamentos veterinarios autorizados por el SAG. [en línea]. http://laima.sag.cl/AppSag/public/medicamentos/medicamentos_B.jsp. [consulta: 30-03-2009].
- 11.- CHONG W, KIM Y, KIMS S, HAN S, RYU P. 2002. Lack of bioequivalence of two oxytetracycline formulations in the rabbit. *J Vet Sci* 3: 25-30.
- 12.- CPMP. Committee for Proprietary Medicinal Products. 2001. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence. CPMP/EWP/QWP/1401/98. 18 p.
- 13.- CVMP. Committee for Veterinary Medicinal Products. 2001. Guidelines for the conduct of bioequivalence studies for veterinary medicinal products. EMEA/CVMP/016/00-corr-FINAL. 11 p.
- 14.- EDDI C, CARACONSTANTOLOGO J, ENTROCASSO C, PEÑA M. Uso racional de antiparasitarios. Manejo de resistencia. Sección II. In: Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Botana, L.M., Landoni, F., Martín-Jiménez, T. (eds). McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. 559-570.
- 15.- EL KORCHI G, PRATS C, ARBOIX M, PÉREZ B. 2001. Disposition of oxytetracycline in pigs after i.m. administration of two long-acting formulations. *J Vet Pharmacol Therap* 24: 247-250.
- 16.- EUROPA. 2001. DIRECTIVA 2001/82/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de noviembre de 2001 por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos veterinarios. Diario Oficial de las Comunidades Europeas. 66 p.
- 17.- GAETE L, SOLÍS J, VENEGAS P, CARRILLO M, SCHATLOFF O, SAAVEDRA I. 2003. Estudio de biodisponibilidad comparativa de dos formulaciones de risperidona existentes en el mercado chileno. *Rev Med Chile* 131: 527-534.
- 18.- GONZÁLEZ A, SAHAGÚN AM, DIEZ MJ, FERNÁNDEZ N, SIERRA M, GARCÍA J. 2009. The pharmacokinetics and metabolism of ivermectin in domestic animal species. *Vet J* 179: 25-37.
- 19.- GOUDIE A, EVANS N, GRATON K, BISHOP B, GIBSON S, HOLDOM K, KAYE B, WICKS S, LEWIS D, WEATHERLY A, BRUCE C, HERBERT A, SEYMOUR D. 1993. Doramectin, a potent novel endectocide. *Vet Parasitol* 49: 5-15.
- 20.- LANUSSE C, LIFSCHITZ A, VIRKEL A, ÁLVAREZ L, SÁNCHEZ S, SUTRA JF, GALTIER P, ALVINERIE M. 1997. Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *J Vet Pharmacol Therap* 20: 91-99.
- 21.- LIFSCHITZ A, PIS A, ÁLVAREZ L, VIRKEL G, SÁNCHEZ S, SALLOWITZ J, KUJANEK R, LANUSSE C. 1999a. Bioequivalence of ivermectin formulations in pigs and cattle. *J Vet Pharmacol Therap*. 22: 27-34.
- 22.- LIFSCHITZ A, VIRKEL G, PIS A, IMPERIALE F, SÁNCHEZ S, ÁLVAREZ L, KUJANEK R, LANUSSE C. 1999b. Ivermectin disposition kinetics after subcutaneous and intramuscular administration of an oil-based formulation to cattle. *Vet Parasitol* 86: 203-21.
- 23.- LIFSCHITZ A, SALLOWITZ J, IMPERIALE F, PIS A, JAUREGUI LORDA J, LANUSSE C. 2004.

- Pharmacokinetic evaluation of four ivermectin generic formulations in calves. *Vet Parasitol* 119: 247-257.
- 24.- MCKELLAR QA, GOKBULUT C. 2000. Recent development on antihelmintic therapy for horses. *J Vet Pharmacol Ther* 23 (Suppl 1): 5.
- 25.- MIDHA K, RAWSON M, HUBBARD J. 1998. Bioequivalence: Switchability and scaling. *European J Pharm Sci* 6: 87-91.
- 26.- REHBEIN S, VISSER M, WINTER R, MACIEL A. 2002. Efficacy of a new long acting formulation of ivermectin and other injectable avermectins against induced *Psoroptes ovis* infestation in cattle. *Parasitol Res* 88: 1061-1065.
- 27.- SUMANO L, GUTIÉRREZ O, ZAMORA M. 2001a. Bioequivalence of four preparations of enrofloxacin in poultry. *J Vet Pharmacol Therap* 24: 309-313.
- 28.- SUMANO L, OCAMPO C, GUTIÉRREZ O. 2001b. Non-bioequivalence of various trademarks of enrofloxacin and Baytril in cows. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 108: 311-314.
- 29.- TOUTAIN PL, BOUSQUET-MÉLOU A. 2004. Bioavailability and its assessment. *J Vet Pharmacol Therap* 27: 455-466.
- 30.- US-FDA. Food and Drug Administration. 2003. Guidance for Industry. Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products - General Considerations. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 23 p.
- 31.- WICKS S, KAYE B, WEATHERLY A, LEWIS D, DAVISON E, GIBSON S, SMITH D. 1993. Effect of formulation on the pharmacokinetics and efficacy of doramectin. *Vet. Pharmacol.* 49: 17-26.

Artículos Generales

Efecto del estrés sobre el sistema nervioso central

RICARDO OLIVARES P-M.¹, CLAUDIA TOLEDO G.¹, YENNY VERA M.¹,
HERNÁN PÉREZ T.² y FRANCISCO ABOITIZ D.³

¹ Depto. Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Universidad de Chile.

² Laboratorio de Nutrición y Regulación Metabólica, INTA, Universidad de Chile.

³ Depto. de Psiquiatría y CIM, Facultad de Medicina, PUC.

ABSTRACT

EFFECTS OF STRESS ON THE NERVOUS CENTRAL SYSTEM

Stress is any unusual physical or psychological demand that impinges on the organism, producing an anxious state. In most of the cases, stress appears as a consequence of environmental demands imposed on the organism. It has been found that stress has a deep effect on the morphology and function of diverse structures of the nervous central system (SNC), a system that relates the individual with the environment and supports homeostasis. This review, collects evidence of the diverse effects of stress on certain structures of the SNC, with their functional and behavioral consequences.

Key words: Stress, Nervous central system.

RESUMEN

Se entiende por estrés toda demanda física o psicológica fuera de lo habitual y bajo presión que se le haga al organismo, provocándole un estado ansioso. En la mayor parte de los casos, el estrés aparece debido a las grandes demandas que se le imponen al organismo. Se ha observado que el estrés tiene un profundo efecto sobre la morfología y función de diversas estructuras del sistema nervioso central (SNC), sistema encargado de relacionar al individuo con su entorno y mantener la homeostasis de éste. El objetivo de esta revisión es entregar antecedentes de cómo determinados tipos de factores estresantes pueden afectar determinadas estructuras del SNC, con las alteraciones funcionales y conductuales subsecuentes.

Palabras clave: Estrés, Sistema nervioso central.

INTRODUCCIÓN

La palabra Estrés (stress, en inglés), se deriva del griego Stringere, que significa provocar tensión. El estrés, se define como una respuesta general del organismo ante demandas externas o internas, inicialmente amenazantes, que consiste en movilizar recursos fisiológicos y psicológicos para poderlas afrontar. Es decir, será el desequilibrio entre las demandas del organismo y la capacidad de éste para sobrellevarlas, lo que caracteriza una situación estresante, el mantenimiento de esta situación caracteriza al estrés crónico o diestrés (Montoro y col., 2009).

El sistema nervioso central (SNC), es aquella parte del sistema nervioso que se encuentra protegido por un estuche óseo: el encéfalo (en el cráneo) y la médula espinal (en el canal vertebral); a su vez el encéfalo se subdivide en tres estructuras: cerebro, tronco encefálico y cerebelo (Afifi y Bergman, 1998).

Es así como, al estrés se le considera otro factor ambiental que tiene un profundo efecto sobre la morfología y función de diversas estructuras del SNC. Estudios experimentales, fundamentalmente en roedores demuestran que la organización final del sistema nervioso depende de factores no genéticos y que factores estresantes tales como la desnutrición, el deterioro del medioambiente o la supresión de estímulos visuales, pueden provocar efectos deletéreos sobre la morfología y función del SNC (Soto-Moyano y col., 1999).

Efecto del estrés sobre algunos componentes del SNC

Estudios en modelos animales de estrés crónico y hormonal, han demostrado que el estrés induce remodelación dendrítica de las neuronas piramidales de CA3 (Figura 1), caracterizado por un acortamiento reversible y desramificación de las dendritas apicales; disminuyendo en el adulto la neurogénesis en el giro dentado y reduciendo el volumen hipocampal total (Conrad y col., 1996; McEwen, 1999; Czéh y col., 2001). Todas estas alteraciones son reversibles post-estrés. Mas recientemente, se ha observado en ratas, que la amígdala y la corteza prefrontal (Figura 2), son también morfológicamente afectadas por estrés (Wellman, 2001; Vyas y col., 2002; Radley y col., 2004). El estrés induce alteraciones morfológicas en hipocampo, amígdala y corteza prefrontal, estructuras que están relacionadas con el aprendizaje, memoria y respuestas emocionales. Por otro lado, el complejo basolateral de la amígdala es esencial en la respuesta de aversión, inducida por el estrés (Shors y Mathew, 1998).

En humanos con depresión, estudios de neuroimágenes han evidenciado atrofia del volumen hipocampal, reducción de la sustancia gris y blanca en la corteza prefrontal y disminución del volumen amigdalino (Sheline y col., 1996; McEwen y Chattarji, 2004). Estudios *postmortem* en cerebros de pacientes con depresión mayor, mostraron reducción del tamaño neuronal y/o disminución de la densidad de la células

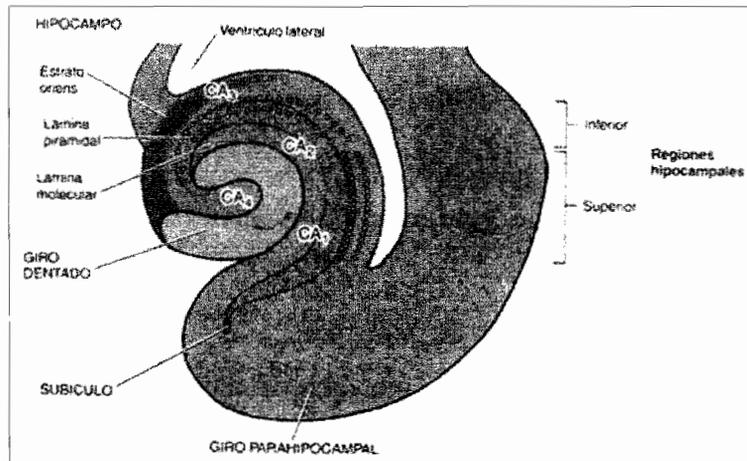


Figura 1. Esquema del hipocampo y sus regiones (Afifi y Bergman, 1998).

gliales en la corteza orbitofrontal, dorsolateral y prefrontal (Rajkowska y col., 1999; Manji y col., 2003).

El efecto del estrés, la depresión y la acción de drogas antidepresivas, ha sido ampliamente estudiado en el hipocampo (Mc Ewen, 1999). Estudios de imágenes en humanos, han revelado una reducción del volumen hipocampal, en pacientes con estrés relacionado a desórdenes neuropsiquiátricos, tales como la depresión (Sheline y col., 1996). Dentro de la formación hipocámpica, el giro dentado (Figura 1), es una de las pocas estructuras donde se produce formación de nuevas neuronas aún en el mamífero adulto (Eriksson y col., 1998). Un factor que potencialmente suprime la proliferación de células granulares adultas en el hipocampo, es el estrés (Gould y col., 1997).

Czéh y col., (2001), estudiaron en musarañas de árbol (*Tupaia belangeri*), el efecto del antidepresivo tianeptina en el agua de bebida. Durante los primeros 7 días, la actividad del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA), fue medido por los niveles de cortisol en la orina. Durante esa etapa, los animales de los grupos estrés y estrés más tianeptina, fueron sometidos todos los días a conflictos psicosociales, mediante la competición de dos animales sobre un mismo territorio. Posteriormente, dicho factor de estrés continuó por 28 días, período en el cual fue administrado el antidepresivo al grupo correspondiente. Mediante inmunohistoquímica se cuantificó la proliferación celular en el giro dentado. Es así como, se evidenció una significativa reducción en el número celular en el grupo estresado versus el control y por otro lado y a pesar de los elevados niveles de cortisol urinario, se encontró un significativo incremento celular y un mayor volumen hipocampal en el grupo estresado más tianeptina, al compararlo con el grupo estresado.

Vyas y col., (2002), estudiaron en ratas, el efecto de dos tipos de modelos de estrés crónico sobre la morfología del hipocampo y la amígdala. Un modelo consistió en un estrés crónico impredecible y el otro de inmovilización, el primero consistió en exponer a los animales a varios tipos de estresores por 10 días, los cuales iban variando día a día (nado forzado, estímulos luminosos durante el período de oscuridad y vice-versa, frío, aislamiento social, privación de agua y comida, etc.), y el segundo consistió en una completa restricción física del

animal en cajas *ad-hoc*, 2 horas diarias también por 10 días. Este último modelo produjo una significativa disminución del largo y el número de las ramas dendríticas basales y apicales en las neuronas piramidales CA3 hipocámpicas y al contrario, produjo un significativo aumento en el largo dendrítico de las neuronas piramidales del complejo basolateral amigdalino, en relación a los respectivos controles. Además, el porcentaje de ganancia de peso después de los 10 días, fue significativamente menor, en ambos modelos de estrés; sin embargo sólo en el modelo de inmovilización, se evidenció una hipertrofia adrenal y un aumento de la ansiedad, medida esta última en una prueba de laberinto.

El estrés crónico por inmovilización, también afecta en ratas, áreas cerebrales que reciben información sensorial, es así como, se ha observado atrofia dendrítica en neuronas del colículo inferior (CI), pero no produjo alteraciones neuronales en el colículo superior; quince días post-estrés las neuronas del CI presentaron su estructura dendrítica totalmente restaurada. También, los animales presentaron un mayor deterioro de la conducta auditiva que la visual, sin compromiso de la actividad motora espontánea, medidas en una prueba de laberinto (Dagnino-Subiabre y col., 2005). Además, se evidenció descamación de la superficie epitelial e inflamación inespecífica de la mucosa gástrica, lo cual se relaciona con lesiones ulcerativas crónicas. También, se observó una significativa reducción del porcen-

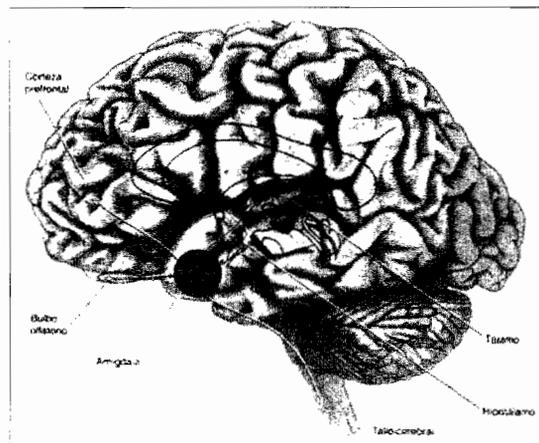


Figura 2. Esquema de la amígdala y sus conexiones aferentes (Afifi y Bergman, 1998).

taje de aumento de peso corporal e hipertrofia de las glándulas adrenales, indicando lo anterior, la realización de un adecuado protocolo de estrés (Dagnino-Subiabre y col., 2005).

El CI es la principal estructura del sistema nervioso auditivo central y está relacionado con conductas de aversión responsables del miedo y la ansiedad en el animal (Brandao y col., 1994; Pollak y col., 2003). La interpretación emocional del estímulo auditivo, es mediado por áreas límbicas, como la amígdala, que recibe indirectamente proyecciones desde los colículos superiores e inferiores, vía el núcleo talámico posterior (Aboitiz y col., 2003).

Por otro lado, la corteza visual puede ser afectada por factores estresantes, ya que después del nacimiento las exposiciones a los *inputs* visuales modulan el desarrollo cortical, induciendo numerosos cambios en todos los componentes de este tipo de corteza. Es así como, ratas de 60 días de edad, aisladas (estrés), *versus* ratas criadas en ambientes estimulados, han demostrado que éstas últimas experimentan un aumento en el número, diámetro y extensión de los capilares sanguíneos y un incremento en el número de mitocondrias en respuesta a las mayores demandas metabólicas (Black y col., 1991). Además, ratas criadas en oscuridad (factor de estrés) *versus* animales criados con ciclos de luz-oscuridad, presentan menor densidad vascular en la capa IV de la corteza visual (Argandoña y Lafuente, 2000).

Factores nutricionales

Se ha demostrado en ratas, que la malnutrición prenatal resulta en un incremento en la concentración y liberación de noradrenalina central, un neurotransmisor que es un importante regulador de los eventos de regresión normales tales como la poda axonal y la eliminación sináptica (Soto-Moyano y col., 1998). La malnutrición prenatal puede inducir alteraciones del crecimiento y desarrollo cerebral por la afeción de variados procesos celulares, entre ellos la reducción en el número de células, el retraso o bloqueo en el crecimiento celular, la perturbación o desincronización de la migración celular, etc. (Morgane y col., 1993).

Por otro lado, la desnutrición postnatal en los animales, marca una reducción significativa en la arborización basal de las dendritas de las

células piramidales de la capa V de la corteza cerebral. Se ha demostrado, producto de la malnutrición, un incremento en el número de neuronas piramidales orientadas atípicamente con dendritas apicales sumamente cortas. Por lo tanto, se puede inferir que la desnutrición puede perturbar críticamente el desarrollo del cerebro postnacimiento temprano, por la alteración de factores intrínsecos y de las señales moleculares que guían y regulan el crecimiento de las dendritas apicales de las células piramidales grandes de la neocorteza (Cordero y col., 2003).

En la misma línea, ratas sometidas a una desnutrición oculta (hipoproteica-isocalórica), desde la gestación hasta los 22 días de edad, presentaron en la corteza cerebral occipital, una densidad neuronal mayor, que los animales controles y los rehabilitados, durante la lactancia (Soto-Moyano y col., 1999). Ratas malnutridas prenatalmente y durante la lactancia con una dieta isocalórica e hipoproteica, presentaron un cuerpo calloso más pequeño, a los 45-52 días de edad. En cambio aquellos animales rehabilitados durante la lactancia con una dieta alta en proteínas, mostraron normalidad en el peso cerebral y en el desarrollo de los tercios medio y posterior del cuerpo calloso. Sin embargo, el cuerpo calloso anterior, que conecta áreas corticales frontales, es particularmente afectado por este tipo de malnutrición, a pesar de una rehabilitación dietaria postnatal (Olivares y col., 2002). Mediante microscopía electrónica de transmisión (MET), ratas de 60-62 días de edad, malnutridas prenatalmente con una dieta isocalórica y baja en proteínas, presentaron un significativo menor diámetro axonal promedio en el esplenio callosal (segmento callosal que interconecta las cortezas visuales), que los animales eutróficos, tanto de las fibras mielínicas como amielínicas; también se observó una mayor densidad axonal promedio, con respecto a los controles (Olivares y col., 2007).

Efecto del estrés sobre el desarrollo del SNC

Adicionalmente, se puede indicar que también se ha demostrado el rol del estrés en el periodo prenatal, sobre eventuales alteraciones en la morfología cerebral y en funciones cognitivas, emocionales y conductuales (Lemaire y col., 2000). En los últimos años, varios estudios

indican que largos periodos de estrés afectan la plasticidad sináptica, la morfología dendrítica y neurogénesis (Weinstock 2001). Por otro lado, se ha implicado a la sobre producción de óxido nítrico vía expresión de la óxido nítrico sintetasa, en la patogenia del estrés sobre el cerebro (Olivenza y col., 2000). Otras moléculas relacionadas con la proliferación y daño celular, tales como factores de crecimiento y citokinas, han sido implicadas en la neuropatogenia del estrés (Pacák y Palkovits 2001). Por último se puede señalar, que se ha analizado el efecto del estrés crónico por inmovilización, sobre el desarrollo embriológico del cerebro anterior en fetos de ratas preñadas. El análisis morfométrico estereológico, demostró que en los fetos de 12 días de gestación de madres estresadas, muestran un aumento del tamaño de la vesícula telencefálica. El perímetro y el espesor del cerebro anterior demostraron diferencias significativas en relación a los controles, pero no así en su forma. Este efecto de estrés crónico se podría considerar reversible en los estadios gestaciones subsecuentes (Mugnaini y col., 2006).

Hembras preñadas, de la especie *Macaca mulatta*, que poseen un período de gestación de 164 días, fueron sometidas a un estrés acústico diario durante 10 minutos desde los 90 a 140 días de gestación, al realizarles resonancia magnética a sus crías entre los 7-11 meses de edad, se demostró que las alteraciones en la morfología del cuerpo calloso afectaron de diferente manera a machos y hembras, teniendo los machos una menor área callosal total que las hembras. Estos resultados, nos indican que factores prenatales pueden influenciar el desarrollo del cuerpo calloso, afectando posiblemente la comunicación interhemisférica (Coe y col., 2002).

Factores neuroendocrinos

Existen evidencias que indican un rol crítico de la amígdala en el miedo, ansiedad y la activación del eje HPA (LeDoux, 1994). Estudios anatómicos indican que *inputs* límbicos inciden sobre el núcleo paraventricular del hipotálamo y de esa forma las neuronas GABAérgicas hipotálamicas, pueden ser excitadas por el hipocampo o inhibidas por la amígdala; esto implica que un aumento de los *inputs* hipocampales podrían suprimir el eje HPA y un aumento de los *inputs*

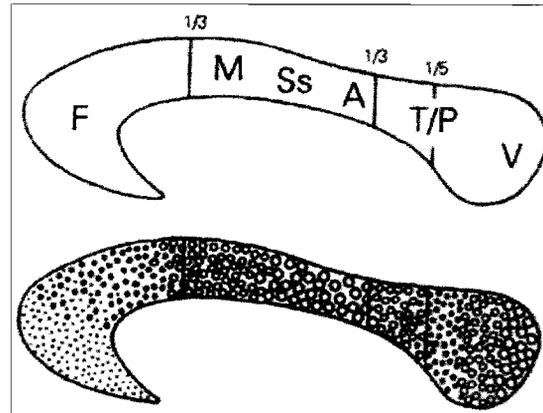


Figura 3. Sección transversal del cuerpo calloso humano, indicando la representación de las distintas regiones corticales y la diferenciación regional en la composición fibrilar (círculos grandes indican fibras de mayor diámetro). A: fibras auditivas; F: fibras frontales; M: fibras de corteza motora; Ss: Fibras somatosensoriales; T/P: Fibras temporoparietales; V: fibras visuales (Aboitiz y Montiel, 2003).

amigdaloides podría tener un efecto opuesto sobre dicho eje, ya que dichas neuronas son eminentemente inhibitorias (Herman y Cullinan, 1997).

El estrés crónico por inmovilización, también reduce la expresión de marcadores de la actividad simpática (tirosina hidroxilasa, receptor de la neurotrofina p75 y la alfa-tubulina), en la glándula pineal (epitálamo), e incrementa los niveles de melatonina circulante en ratas. La melatonina ha sido asociada con la regulación de procesos cognitivos y emocionales, tales como la memoria y la ansiedad; los receptores de melatonina están presentes en áreas cerebrales que participan en respuestas de estrés, tales como las glándulas adrenales y el hipocampo (Torres-Farfan y col., 2003; Hemby y col., 2003).

Estas alteraciones pueden afectar el proceso emocional y la capacidad de interpretar estímulos externos por el hipocampo y amígdala. Además, la glándula pineal podría funcionar como tejido blanco de glucocorticoides que la dañarían durante un período de estrés; con lo cual, las alteraciones de la secreción rítmica de melatonina podrían jugar un rol clave en el desarrollo de los desórdenes metabólicos ocasionados en el organismo (Dagnino-Subiabre y col., 2006).

COMENTARIO FINAL

En la actualidad y en el marco del proyecto FIV “Efecto del estrés por inmovilización, sobre la anatomía de la corteza cerebral occipital y el esplenio callosal”, los autores se encuentran estudiando en ratas adultas (3 meses de edad), el potencial efecto del estrés crónico por inmovilización descrito por Vyas y col. (2002), sobre la densidad neuronal de la corteza cerebral occipital, medida a través del disector óptico en cortes de 40 µm de grosor, incluidos en celoidina y teñidos con Nissl (cresyl violeta); y en la anatomía del cuerpo calloso a nivel macroscópico (área y perímetro), mediante un programa morfométrico (Scion Image for Windows); y microscópico (densidad y diámetro fibrilar), mediante MET (Figura 3).

REFERENCIAS

- 1.- ABOITIZ F, MONTIEL J. 2003. One hundred million years of interhemispheric communication: the history of the corpus callosum. *Braz J Med Biol Res* 36: 409-420.
- 2.- ABOITIZ F, MORALES D, MONTIEL J. 2003. The evolutionary origin of the mammalian isocortex: towards and integrated developmental and functional approach. *Behav Brain Sci* 26: 535-552.
- 3.- AFIFI A, BERGMAN R. 1998. Neuroanatomía funcional. Texto y atlas. 1ª ed. Interamericana McGraw - Hill, D. F. México. 727 pp.
- 4.- ARGANDOÑA E, LAFUENTE J. 2000. Influence of visual experience deprivation on the postnatal development of the microvascular bed in layer IV of the rat visual cortex. *Brain Res* 855: 137-142.
- 5.- BLACK J, ZELAZNY A, GREENOUGH W. 1991. Capillary and mitochondrial support of neural plasticity in adult rat visual cortex. *Exp Neurol* 111: 204-209.
- 6.- BRANDAO ML, CARDOSO SH, MELO LL, MOTTA V, COIMBRA NC. 1994. Neural substrate of defensive behavior in the midbrain tectum. *Neurosci Biobehav Rev* 18: 339-346.
- 7.- COE CL, LULBACH GR, SCHNEIDER ML. 2002. Prenatal disturbance alters the size of the corpus callosum in young monkeys. *Dev Psychobiol* 41: 178-185.
- 8.- CONRAD CD, GALEA LA, KURODA Y, McEWEN BS. 1996. Chronic stress impairs rat special memory on the Y maze and this effect is blocked by tianeptina pretreatment. *Behav Neurosci* 110: 1321-1334.
- 9.- CORDERO M, VALENZUELA C, RODRÍGUEZ A, ABOITIZ F. 2003. Dendritic morphology and orientation of pyramidal cells of the neocortex in two groups of early postnatal undernourished - rehabilitated rats. *Brain Res Dev Brain Res* 142: 37-45.
- 10.- CZÉH B, MICHAELIS T, WATANABE T, FRAHM J, DE BIURRUN G, VAN KAMPEN M, BARTOLOMUCCIA, FUCHS E. 2001. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12796-12801.
- 11.- DAGNINO-SUBIABRE A, TERREROS G, CARMONA-FONTAINE C, ZEPEDA R, ORELLANA JA, DÍAZ-VÉLIZ G, MORA S, ABOITIZ F. 2005. Chronic stress impairs acoustic conditioning more than visual conditioning in rats: Morphological and behavioural evidence. *Neurosci* 135: 1067-1074.
- 12.- DAGNINO-SUBIABRE A, ORELLANA J, CARMONA-FONTAINE C, MONTIEL J, DÍAZ-VELIZ G, SERRON-FERRE M, WYNEKEN U, CONCHA M, ABOITIZ F. 2006. Chronic stress decreases the expression of sympathetic markers in the pineal gland and increases plasma melatonin concentration in rats. *J Neurochem* 97: 1279-1287.
- 13.- ERIKSSON PS, PERFILIEVA E, BJORK-ERIKSSON T, ALBORN AM, NORDBORG C, PETERSON DA, GAGE FH. 1998. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4: 1313-1317.
- 14.- GOULD E, McEWEN BS, TANAPAT P, GALCA LA, FUCHS E. 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci.* 17: 2492-2498.
- 15.- HEMBY SE, TROJANOWSKY JQ, GINSBERG SD. 2003. Neuron-specific age-related decreases in dopamine receptor subtype mRNAs. *J Comp Neurol* 456: 176-183.
- 16.- HERMAN JP, CULLINAN WE. 1997. Neurocircuitry of stress. Central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 20: 78-84.
- 17.- LEDOUX JE. 1994. The amygdala: contributions to fear and stress. *Semin Neurosci* 6: 231-237.
- 18.- LEMAIRE V, KOEHL M, LE MOAL M, ABROUS DN. 2000. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 11032-11037.
- 19.- MANJI HK, QUIROZ JA, SPORN J, PAYNE JL, DENICOFF K, GRAY NA, ZARATE JR CA, CHARNEY DS. 2003. Enhancing neuronal plasticity and cellular resilience to develop novel, improved therapeutics for difficult-to-treat depression. *Biol Psychiatry* 53: 707-742.
- 20.- McEWEN BS. 1999. Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci* 22: 105-122.
- 21.- McEWEN BS, CHATTARJI S. 2004. Molecular mechanisms of neuroplasticity and pharmacological implications: the example of tianeptine. *Eur. Neuropsychopharmacol* 5: S497-S502.
- 22.- MONTORO J, MULLOL J, JAUREGUI I, DÁVILA I, FERRER M, BARTRA J, DEL CUVILLO A, SASTRE J, VALERO A. 2009. Stress and allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol* 19: 40-47.
- 23.- MORGANE P, AUSTIN-LAFRANCE R, BRONZINO J, TONKISS J, DÍAZ-CINTRA S, CINTRA L, KEMPER T, GALLER J. 1993. Prenatal malnutrition and development of the brain. *Neurosci Biobehav Rev* 14: 91-128.

- 24.- MUGNAINI MT, SOÑEZ CA, ROLANDO AN, ROMANINI MC, BOZZO AA, PASTORINO IC, GAUNA HF, PAZ DA. 2006. Maternal chronic stress induces premature telencephalic vesicles development. *Int J Morphol* 24: 525-530.
- 25.- OLIVARES R, SOTO-MOYANO R, HERNÁNDEZ A, ABOITIZ F. 2002. La malnutrición prenatal proteica leve afecta el desarrollo del cuerpo calloso anterior. *Rev Chil Anat* 20: 159-163.
- 26.- OLIVARES R, SOTO-MOYANO R, HERNÁNDEZ A, GIL J, GIMENO M, LABORDA J, ABOITIZ F. 2007. Efecto de la desnutrición oculta prenatal sobre la histología del esplenio callosal. *Int J Morphol* 25: 717-721.
- 27.- OLIVENZA R, MORO MA, LIZASOAIN I, LORENZO P, FERNÁNDEZ AP, RODRIGO J, BOSCA L, LEZA JC. 2000. Chronic stress induces the expresión of inducible nitric oxide synthase in rat brain cortex. *J Neurochem* 74: 785-91.
- 28.- PACÁK K, PALKOVITS M. 2001. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: Implications for stress-related disorders. *Endocrine Rev* 22: 502-48.
- 29.- POLLAK GD, BURGER RM, KLUG A. 2003. Dissecting the circuitry of the auditory system. *Trends Neurosci* 1: 33-39.
- 30.- RADLEY JJ, SISTI HM, HAO J, ROCHER AB, McCALL T, HOF PR, McEWEN BS, MORRISON JH. 2004. Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 125: 1-6.
- 31.- RAJKOWSKA G, MIGUEL-HIDALGO JJ, WEI J, DILLEY G, PITTMAN SD, MELTZER HY. 1999. Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol Psychiatry* 45: 1085-1098.
- 32.- SHELNEYI, WANGPW, GADOMH, CSERNANSKY JG, VANNIER MW. 1996. Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 3908-3913.
- 33.- SHORS TJ, MATHEW PR. 1998. NMDA receptor antagonism in the lateral/basolateral but not central nucleus of the amygdale prevents the induction of facilitated learning in response to stress. *Lear Mem* 5: 220-230.
- 34.- SOTO-MOYANO R, ALARCON S, BELMAR J, KUSCH P, PÉREZ H, RUIZ S, HERNÁNDEZ A. 1998. Prenatal protein restriction alters synaptic mechanisms of callosal connections in the rat visual cortex. *Int J Dev Neurosc* 16: 75-84.
- 35.- SOTO-MOYANO R, FERNÁNDEZ V, SANHUEZA M, BELMAR J, KUSCH C, PÉREZ H, RUIZ S, HERNÁNDEZ A. 1999. Effects of mild protein prenatal malnutrition and subsequent postnatal nutritional rehabilitation on noradrenaline release and neuronal density in the rat occipital cortex. *Dev Brain Res* 116: 51-8.
- 36.- TORRES-FARFAN C, RICHTER HG, ROJAS-GARCÍA P, VERGARA M, FORCELLEDO, ML, VALLADARES LE, TORREALBA F, VALENZUELA GJ, SERÓN-FERRÉ M. 2003. mt1 Melatonin receptor in the primate adrenal gland: inhibition of adrenocorticotropin-stimulated cortisol production by melatonin. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 450-458.
- 37.- VYAS A, MITRA R, SHAKARANARAYANA RAO BS, CHATTARJI S. 2002. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22: 6810-3818.
- 38.- WEINSTOCK M. 2001. Alterations induced by gestational stress in brain morphology and behavior of the offsprings. *Progress Neurobiol* 65: 427-51.
- 39.- WELLMAN CL. 2001. Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. *J Neurobiol* 49: 245-253.

Artículos Generales

Efecto de las hormonas sexuales en la audición

RIGOBERTO SOLÍS M.¹ Lic. Sc., MSc., DrSc.

¹ Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

EFFECT OF SEX HORMONES IN HEARING

Amphibian anurans (frogs and toads) widely use sound communication in social interactions. During breeding season males congregate in pools and ponds, where they emit an acoustic signal, named advertisement call that attracts females and indicates its presence to other males. Previously, it has been established that steroid hormones, along with some neuropeptides, can alter the sensory processing of these signals in the individual recipient, through its effect on nuclei and pathways of the central and peripheral auditory nervous system. One of the ways that hormones may alter the perception and response to acoustic signals of other conspecific males is modulating the intensity threshold of response to these signals. However, this possibility has not been explored in males of any species and there are only scarce data on changes in hearing thresholds of human females during the menstrual cycle, which have not been explained. Given the conserved organization of the nuclei and pathways involved in sound processing and distribution of steroid receptors in the brain of vertebrates, experiments and results obtained in anurans could be the basis for understanding other more complex systems of acoustic communication and social interaction in birds and mammals.

Key words: Perception, hearing, hormones, anurans, communication, acoustic signals.

RESUMEN

Los anuros (ranas y sapos) utilizan extensamente la comunicación por sonido en sus interacciones sociales. Durante la época reproductiva los machos se congregan en pozas y charcas, en las que emiten una señal acústica, denominada canto o llamada de advertencia, que atrae a las hembras e indica su presencia a otros machos. Previamente, se ha establecido que hormonas esteroidales, junto a algunos neuropéptidos, pueden modificar el procesamiento sensorial y producción de estas señales en el individuo receptor, a través de su efecto en núcleos y vías del sistema nervioso auditivo central y periférico. Una de las maneras en que estas hormonas podrían modificar la percepción y respuesta a las señales acústicas de otros machos coespecíficos, es modulando los umbrales de intensidad a los cuales responden a estas señales. Sin embargo, esta posibilidad no ha sido explorada en machos de ninguna especie y solo existen escasos antecedentes sobre cambios en los umbrales auditivos de hembras humanas durante el ciclo menstrual, que no han sido explicados. Dada la conservada organización de los sistemas de control y procesamiento auditivo y distribución de receptores esteroidales en el cerebro de los vertebrados, la experimentación y resultados obtenidos en anuros pueden servir de base para

Casilla 2 - Correo 15, La Granja. Santiago.

el entendimiento de otros sistemas más complejos de comunicación e interacción social, en aves y mamíferos.

Palabras clave: Percepción, audición, hormonas, anuros, comunicación, señales acústicas.

INTRODUCCIÓN

Las hormonas reproductivas juegan un rol preponderante en la iniciación y modulación de la conducta de apareamiento en una amplia variedad de taxa (Nelson, 2000). Las hormonas pueden cambiar la morfología de ornamentos utilizados para atraer hembras, la producción y probabilidad de responder a señales sexuales y a otras conductas de cortejo. También, pueden alterar la sensibilidad de los sistemas sensoriales o la manera en que las señales son percibidas (Solís y Penna, 1997; Cisneros y col., 2004). (Figura 1).

La influencia de las hormonas sexuales en el sistema auditivo es una de aquellas raras áreas de investigación, donde llegar a conocer “todo” lo que ha sido descubierto hasta la fecha es realmente posible (Canlon y Frisina, 2009). Evidencia de esta situación, es la muy reciente aparición de un número especial de la revista *Hearing Research*, que resume lo que se conoce actualmente acerca de cómo las hormonas pueden afectar la audición. Curiosamente, el potencial rol de las hormonas como moduladores de la percepción y emisión de vocalizaciones ha sido hasta ahora poco explorado (Al-Mana y col., 2008).

En humanos, las variaciones en los umbrales de sensibilidad auditiva que ocurren durante el ciclo menstrual aun no son explicados. No obstante, existe evidencia de cambios en los potenciales electroencefalográficos relacionados a eventos auditivos, correlacionados con los niveles de estradiol y progesterona, durante este ciclo (Walpurger y col., 2004). Actualmente, se sospecha que estos cambios en sensibilidad auditiva son consecuencia de fluctuaciones en hormonas que afectan las áreas superiores de procesamiento auditivo (Al-Mana y col., 2008).

Entre los mayores aportes al conocimiento en esta novedosa área de investigación, se encuentran aquellos derivados de estudios realizados en vertebrados inferiores. Recientemente, se han realizado algunos estudios en peces teleósteos y anfibios anuros, que demuestran como: i)

mecanismos neurofisiológicos, dependientes de andrógenos, afectan el ordenamiento espacio-temporal de los potenciales de acción de neuronas (“central pattern generators”) que coordinan la producción de vocalizaciones sociales (Bass y Remage-Healey, 2008) y que; ii) el estradiol modifica la sensibilidad auditiva a estas señales acústicas (Bass, 2007; Lynch y Wilczynski, 2008; Sisneros y col., 2004). En particular, los anfibios anuros han resultado excelentes modelos para el estudio del efecto de las hormonas en la percepción del sonido.

Relación entre hormonas y conducta vocal en anuros

La conducta reproductiva de los anfibios es afectada, como en otros vertebrados, por el sistema neuroendocrino. La influencia de hormonas esteroidales y neuropéptidos en la mantención y activación de conductas reproductivas ha sido demostrada en varias especies de urodolos y anuros, cuyos ciclos reproductivos están correlacionados con cambios estacionales en sus niveles hormonales (Moore, 1983). Diversos estudios indican que en los anfibios machos los esteroides testiculares; testosterona (T), dihidrotestosterona (DHT) y el neuropéptido argininasotocina (AVT), son los factores hormonales predominantes en la regulación de la conducta sexual (Moore y Deviche, 1988). Más aún, Moore (1978) ha mostrado que existe un efecto sinérgico entre estos factores.

En *Rana catesbeiana*, el inicio de la actividad vocal y el establecimiento de territorios se correlacionó positivamente con un incremento en los niveles de T y DHT, en un muestreo a nivel poblacional (Mendonca y col., 1985). Más recientemente, se ha determinado un efecto predominante de la T en la motivación de los machos a cantar (Solís y Penna, 1997) y un determinante rol modulador de la serotonina en la emisión de vocalizaciones de defensa territorial, en los machos de la rana *Eleutherodactylus coqui*

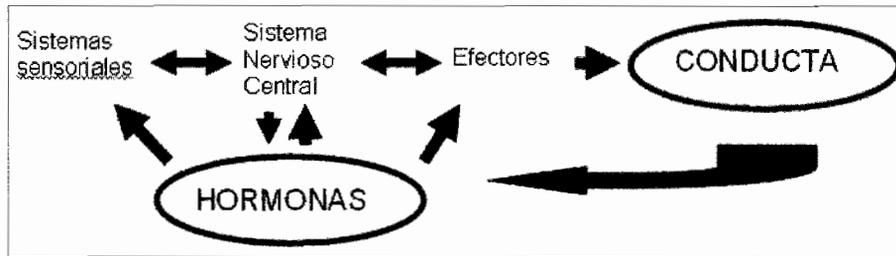


Figura 1. Efectos de las hormonas en la conducta.

(Ten Eyck, 2008). De acuerdo a esta información, los andrógenos tendrían un rol permisivo en la conducta vocal de los machos anuros, en tanto que, los neuropéptidos activarían estas conductas.

Por otra parte, la información disponible respecto al rol de la corticosterona (CORT) es limitada y contradictoria. En algunas especies de anuros, se ha determinado un efecto inhibitorio de la CORT en la producción vocal de anuros, es decir, opuesto al producido por la AVT, que se sabe es modulada por andrógenos en el cerebro (Burnmeister y col., 2001). Sin embargo, en otra especie (*Bufo woodhousii*), se constató una correlación positiva de los niveles de CORT y la actividad vocal (esfuerzo de canto) (Leary y col., 2008).

Sitios de acción de las hormonas en el cerebro de anuros

En anuros, los esteroides gonadales regulan las conductas sexuales a nivel de algunos núcleos del sistema nervioso central y en las vías sensoriales y motoras (Moore y Deviche, 1988). En anuros machos los factores hormonales (T, DHT y AVT) afectan la producción y percepción de señales acústicas (Penna y col., 1992). Estudios autorradiográficos indican que neuronas de áreas y núcleos cerebrales involucrados en la percepción y emisión de señales acústicas, concentran T y DHT (Kelley, 1980; Wetzel y Kelley, 1983).

Hormonas y percepción de sonido en anuros

El *torus semicircularis*, núcleo mesencefálico, homólogo del colículo inferior de los mamíferos y que constituye el principal centro de

integración y procesamiento auditivo en anuros, presenta poblaciones de neuronas que responden selectivamente a valores específicos de los componentes temporales (ej.: frecuencia de pulsos, duración de los pulsos) encontrados en la llamada de advertencia de los machos de *P. thaul* (Penna y col., 1997). Además, en un trabajo reciente (Penna y col., 2008), se determinó una similitud entre el valor mínimo de intensidad de sonido que evoca una respuesta vocal en los machos (umbral de respuesta vocal evocada; 43 dB RMS SPL) y aquel que produce descargas en neuronas del *torus semicircularis* (umbral auditivo; 46 dB RMS SPL). Es importante destacar que se apreció en este estudio una gran variabilidad interindividual en los umbrales de respuesta vocal evocada (rango: 31-52 dB RMS SPL), las que podrían ser una manifestación de diferencias de estado fisiológico entre los machos.

En la mayoría de los anuros, la fonotaxis, es decir, la orientación y movimiento hacia una fuente de sonido, es la primera manifestación de la conducta de apareamiento de las hembras receptoras, las cuales se aproximan a un macho que se encuentra vocalizando para iniciar el amplexo sexual. Recientemente se ha demostrado que esta conducta está correlacionada con los niveles plasmáticos de progesterona y estradiol. Además, el tratamiento conjunto de progesterona y prostaglandina no solo induce la fonotaxis, sino también influencia la calidad y frecuencia de esta conducta en las hembras (Gordon y Gerhardt, 2009).

Las hormonas reproductivas pueden modular la conducta vocal de los anuros, actuando en los sistemas neurales asociados con la motivación. Sin embargo, evidencia reciente sugiere que la modulación también ocurre a nivel del procesamiento sensorial. Mediante registros neurofisiológicos celulares unitarios y manipulación hor-

monal, se estudió la relación entre el sexo y los niveles de testosterona circulantes en la sensibilidad auditiva, determinándose una sensibilidad diferencial de las hembras por las vocalizaciones naturales y de los machos por un rango de bajas frecuencias. Estos resultados demuestran que las diferencias sexuales están limitadas a rangos de frecuencia que se relacionan con el procesamiento de las vocalizaciones naturales, que dependen del tipo de estímulo e indicarían que las hormonas reproductivas influyen las propiedades de filtro del sistema auditivo (Miranda y Wilczynski, 2009).

Sin duda, la influencia de las hormonas en la función auditiva y la comunicación entre las distintas especies, constituye un promisorio y aun inexplorado ámbito de investigación para la neurociencia sensorial e investigación biomédica.

Agradecimientos: Este artículo de revisión bibliográfica se realizó en el contexto del Proyecto FIV 12101401.9102.005 asignado a RS.

REFERENCIAS

- 1.- AL-MANA D, CERANIC B, DJAHANBAKHCH O, LUXON LM. 2008. Hormones and the auditory system: a review of physiology and pathophysiology. *Neuroscience* 153: 881-900.
- 2.- BASS AH. 2007. Steroid-dependent plasticity of vocal motor systems: novel insights from teleost fish. *Brain Res Rev* 57: 299-308.
- 3.- BASS AH, REMAGE-HEALEY L. 2008. Central pattern generators for social vocalization: androgen-dependent neurophysiological mechanisms. *Horm Behav* 53: 659-672.
- 4.- BURNMEISTER S, SOMES C, WILCZYNSKI W. 2001. Behavioral and hormonal effects of exogenous vasotocin and corticosterone in the green treefrog. *Gen Comp Endocr* 122: 189-197.
- 5.- CANLON B, FRISINA RD. 2009. Sex hormones and hearing: a pioneering area of enquiry. *Hearing Res* 252:1-2.
- 6.- GORDON N, GERHARDT HC. 2009. Hormonal modulation of phonotaxis and advertisement-call preferences in the gray treefrog (*Hyla versicolor*). *Horm Behav* 55: 121-127.
- 7.- KELLEY DB. 1980. Auditory and vocal nuclei in the frog brain concentrate sex hormones. *Science* 207: 553-555.
- 8.- LEARY CJ, GARCÍA AM, KNAPP R, HAWKINS DL. 2008. Relationships among steroid hormone levels, vocal effort and body condition in an explosive-breeding toad. *Anim Behav* 76: 175-185.
- 9.- LYNCH KS, WILCZYNSKI W. 2008. Reproductive hormones modify reception of species-typical communication signals in a female anuran. *Brain Behav Evolut* 71: 143-150.
- 10.- MENDONCA MT, LICHT P, RYAN MJ, BARNES R. 1985. Changes in hormone levels in relation to breeding behavior in male bullfrogs (*Rana catesbeiana*) at the individual and population levels. *Gen Comp Endocr* 58: 270-279.
- 11.- MIRANDA J, WILCZYNSKI W. 2009. sex differences and androgen influences on midbrain auditory thresholds in the green treefrog *Hyla cinerea*. *Hearing Res* 252: 79-88.
- 12.- MOORE FL. 1983. Behavioral endocrinology of amphibian reproduction. *BioScience* 33: 557-561.
- 13.- MOORE FL, DEVICHE P. 1988. Neuroendocrine processing of environmental information in amphibians. Pp.: 19-44. En: *Processing of environmental information in vertebrates*. Ed. Milton H. Stetson. Springer-Verlag, New York.
- 14.- NELSON RJ. 2000. *An introduction to Behavioral Endocrinology*. Sinauer Associates, Inc Publishers, Massachusetts.
- 15.- PENNA M, VELÁSQUEZ N, SOLÍS R. 2008. Correspondence between evoked vocal responses and auditory thresholds in *Pleurodem thaul* (Amphibia; Leptodactylidae). *J Comp Physiol A*. 194(4): 361-371.
- 16.- PENNA M, LIN W-Y, FENG AS. 1997. Temporal selectivity for complex signals by single neurons of the torus semicircularis of the *Pleurodema thaul* (Amphibia: Leptodactylidae). *J Comp Physiol A* 180: 313-328.
- 17.- PENNA M, SOLÍS R. 1992. Canto nupcial evocado en el sapo de cuatro ojos, *Pleurodema thaul*. IV congreso Nacional y I Iberoamericano de Etología. España. Resúmenes pp. 34.
- 18.- PENNA M, CAPRANICA RR, SOMERS J. 1992. Hormone-induced vocal behavior and midbrain auditory sensitivity in the green treefrog, *Hyla cinerea*. *J Comp Physiol A* 170: 73-82.
- 19.- PENNA M, VELOSO A. 1990. Vocal diversity in the frogs of the South American temperate forest. *J Herpetol* 24: 23-33.
- 20.- SISNEROS JA, FORLANO PM, DEITCHER DL, BASS AH. 2004. Steroid-dependent auditory plasticity leads to adaptive coupling of sender and receiver. *Science* 305: 404-407.
- 21.- SOLÍS R. 1994. Factores moduladores de las interacciones sociales acústicas del anuro *Pleurodema thaul*. Tesis de Doctorado, Universidad de Chile.
- 22.- SOLÍS R, PENNA M. 1997. Testosterone levels and evoked vocal responses in a natural population of the frog *Batrachyla taeniata*. *Horm Behav* 31: 101-109.
- 23.- TEN-EYCK GR. 2008. Serotonin modulates vocalizations and territorial behavior in amphibians. *Behav Brain Res* Doi:10.1016/j.bbr.2008.05.001.
- 24.- WALPURGER V, PIETROWSKY R, KIRSCHBAUM C, WOLF OT. 2004. Effects of the menstrual cycle on auditory event-related potentials. *Horm Behav* 46: 600-606.
- 25.- WETZEL DM, KELLEY DB. 1983. Androgen and gonadotropin effects on male mate calls in South African clawed frogs, *Xenopus laevis*. *Horm Behav* 17: 388-404.

Comparación anatómica de laringe de cerdos con laringe humana

ESTEFANIA FLORES P.¹, M.V., MINERVA FLÁNEGA P.¹, M.V., BEATRIZ RICO B.², M.D., LUIS ADARO³, M.V. y F. GINO CATTANEO U¹, M.V.

¹ Cirugía, Departamento de Ciencias Clínicas, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

² Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

³ Anatomía, Departamento de Ciencias Biológicas Animales, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile.

ABSTRACT

ANATOMICAL COMPARISON OF THE LARYNX OF PIGS WITH HUMAN LARYNX

In this paper the anatomical characteristics of swine and human larynx are described, with the purpose to homologize that. 10 swine larynx and human describe parameters were used. In general lines the results show similarities and differences. The cricothyroid and cricoarytenoid joint are seemed in both species. A similar situation is described with intrinsic and extrinsic muscles. The forms of epiglottis, cartilage thyroid and corniculate are the principal differences. The swine larynx can be used as model of phonosurgery practices according to the findings.

Key words: Swine, larynx, surgical anatomy model.

RESUMEN

En este trabajo se describen las características anatómicas de la laringe porcina y humana, con el objeto de homologar ambas estructuras. Se trabajó con 10 laringes de cerdos y parámetros descritos de laringe humana. Los resultados muestran similitudes y diferencias en líneas generales. Las articulaciones cricotiroides y cricoaritenoides son parecidas en ambas especies. Una situación similar se describe con los músculos extrínsecos e intrínsecos. Las principales diferencias son las formas de la epiglotis, cartílago tiroideo y corniculado. De acuerdo a los hallazgos la laringe de cerdo puede ser utilizada como modelo para prácticas de técnicas fonocirúrgicas.

Palabras clave: Cerdo, laringe, modelo anatómico quirúrgico.

Homologación de laringe de cerdo con laringe humana para uso en prácticas quirúrgicas.
Santa Rosa 11735, Comuna La Pintana, Santiago, Chile.

INTRODUCCIÓN

La voz es la principal forma de comunicación entre los seres humanos. Hoy en día cada vez existen más personas que dependen de su voz para trabajar, como son los cantantes, políticos, oradores y aquellas personas que ejercen distintos puestos de liderazgo.

La laringe establece la conexión entre la faringe y el árbol traqueobronquial (Dyce et al., 1998). Consiste de un número de cartílagos, articulados entre ellos y conectados por tejido muscular, fibroso y elástico. La laringe regula la entrada y salida del aire, la penetración de cuerpos extraños y es fundamental para la producción de sonidos diversos y en el ser humano la voz; este último papel debido a la presencia de dos láminas elásticas llamados pliegues vocales (cuerdas vocales), que son susceptibles de vibrar bajo la acción de la columna de aire espirado y luego transmiten las vibraciones a esta columna de aire, constituyendo la voz (Testut, 1965). La voz y sus patologías, tienen en los pliegues vocales el centro de atención, desde el punto de vista clínico y de la cirugía.

El término Fonocirugía, desarrollado a principios de los años '60 por von Leden, se refiere a un conjunto de procesos quirúrgicos para mantener, restaurar o mejorar la voz humana (Zeitel et al., 2002).

Las laringoplastías se realizan con el paciente bajo anestesia local. Consiste en modificar la posición de la cuerda vocal trabajando sobre los cartílagos tiroides, cricoides y aritenoides (Rico et al., 2002).

Las técnicas de fonocirugía moderna fueron introducidas y popularizadas por Isshiki en los años '70 (Woo, 2000). Estas técnicas se dividen en aquellas que producen medialización, lateralización, acortamiento y elongación de las cuerdas vocales.

Para poder ensayar y desarrollar habilidades en las técnicas de fonocirugía es necesario constituir un modelo experimental basado en una especie que cumpla con características anatómicas similares.

El objetivo de este trabajo es comparar la laringe de cerdo con la laringe humana, para establecerla como modelo para investigación de nuevas técnicas quirúrgicas y entrenamiento práctico de técnicas quirúrgicas destinadas a seres humanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico

Para la realización de este trabajo se utilizaron 10 laringes de cerdos de seis meses de edad, con un peso promedio de 80 Kg, faenados en la planta faenadora COMAFRI, VI Región, Chile. Las laringes fueron obtenidas durante la evisceración de los órganos torácicos.

Material de Archivo

Registros de parámetros anatómicos de laringes de humanos (Adaro et al., 2004).

Método

Durante todo el periodo previo a la disección, las laringes de cerdo se conservaron en frío a una temperatura de -20°C. Se descongelaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Fueron disecadas para obtener las distintas estructuras anatómicas de interés: cartílagos, músculos, articulaciones y mucosa.

Se consignó en la ficha de registro las características correspondientes a musculatura intrínseca y extrínseca, ligamentos, cartílagos, observando y describiendo la situación de los pliegues vocales (cuerdas vocales).

Los parámetros descritos fueron:

- Presencia o ausencia de músculos, su morfología e inserciones.
- Determinación de ligamentos en relación a morfología e inserciones.
- Presencia o ausencia de cartílagos y su morfología.
- Morfología y elementos que constituyen la cavidad laríngea.

Estas estructuras se compararon con los parámetros anatómicos de laringes de humano (Adaro et al., 2004) en relación a forma.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En relación a los aspectos generales de la anatomía laríngea, humana y porcina, se encontró:

Casi todas las estructuras cartilagosas están presentes en ambas especies, vale decir: 1 cartílago tiroides, 1 cricoides, 1 epiglótico, 2 aritenoides y 2 corniculados. Los cartílagos cuneiformes se describen sólo en el humano.

Existen de la misma forma similitud en las

dos articulaciones más importantes de la laringe consideradas en fonocirugía, las articulaciones cricotiroides y las cricoaritenoides. Siendo descritas en ambas especies como una artrodia. La articulación cricotiroides permite movimientos de báscula y la articulación cricoaritenoides permite movimientos de rotación del aritenoides sobre el cricoides (García-Tapia y Cobeta, 1996).

Articulación Cricotiroides del Cerdo. (Figura 1).



Figura 1. a) Cartílago cricoides; b) Cartílago tiroideo; c) Ligamento cricotiroides.

Articulación Cricoaritenoides. (Figura 2).

Toda la musculatura intrínseca, los cricotiroides, cricoaritenoides posteriores, cricoaritenoides laterales, aritenoides transverso, tiroaritenoides y aritenopiglóticos, existen en ambas especies, descritos con las mismas funciones.

La musculatura extrínseca es la misma: el esternotiroideo, tirohioideo y constrictor inferior de la faringe, ubicados anatómicamente de la misma manera. El músculo esternotiroideo presenta dos porciones en el cerdo, una ventral y una dorsal, difiriendo con el humano que presenta una porción única. En el cerdo además se describe el músculo hioepiglótico que no se presenta en el humano.

Cerdo



Figura 2A. a) Cartílago cricoides; b) Cartílago aritenoides; c) Cartílago corniculado; d) Cartílago tiroideo.

Humano



Figura 2B. a) Carillas articulares articulación cricoaritenoides.

Músculo Tirohioideo. (Figura 3).

Músculo Esternotiroideo. (Figura 4).

Músculo Constrictor Inferior de La Laringe. (Figura 5).

En relación a los aspectos específicos se encontró:

El cartílago epiglótis, en el cerdo es de mayor tamaño, y de forma elíptica con sus extremos aguzados. En cambio en el humano presenta forma de raqueta de tenis. (Figura 6).

El cartílago tiroideo presenta forma de escudo en ambas especies; sin embargo el del cerdo es de mayor longitud, no presenta la escotadura media en el borde rostral, presenta sólo cuernos inferiores y una prolongación media en el borde posterior. En cambio en el humano se encuentran la escotadura tiroidea y los cuernos superiores e

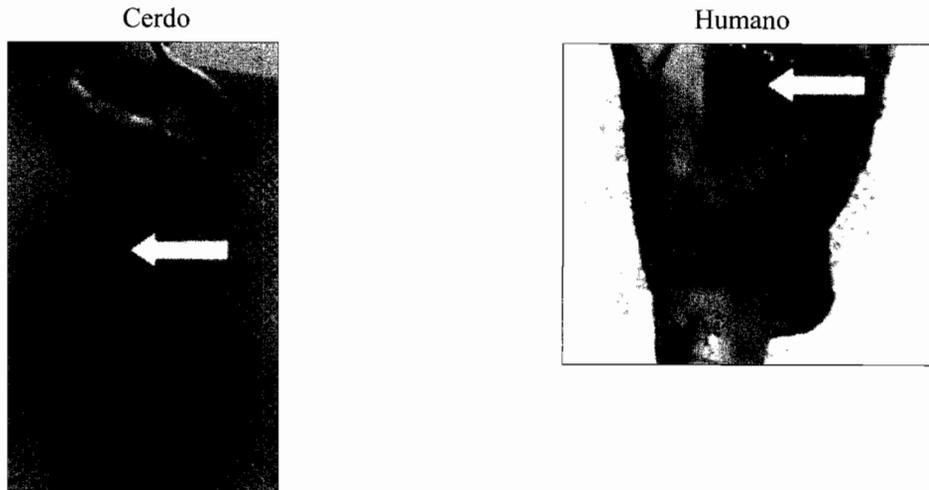


Figura 3. Músculo tirohioideo.

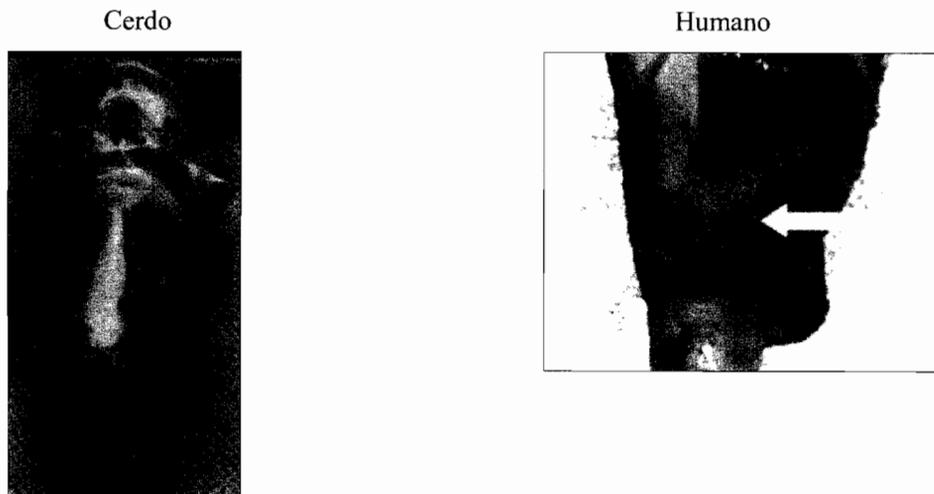


Figura 4. a) Parte ventral; b) Parte dorsal.

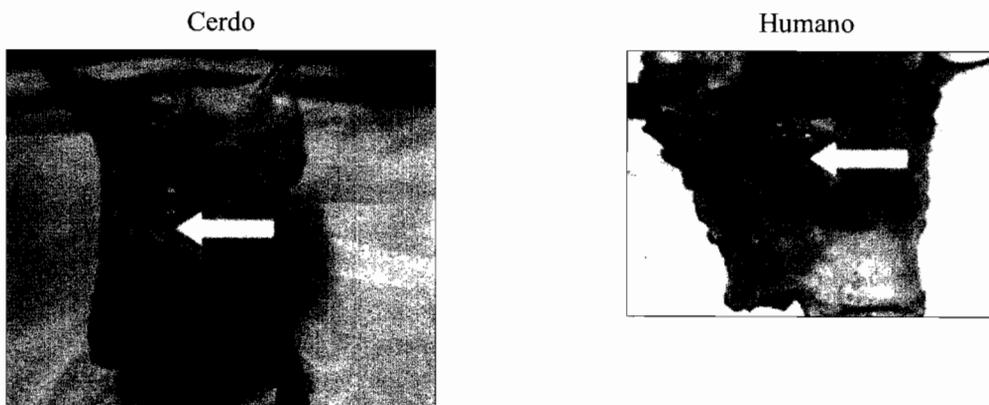


Figura 5. Músculo constrictor inferior de la laringe.

Cerdo

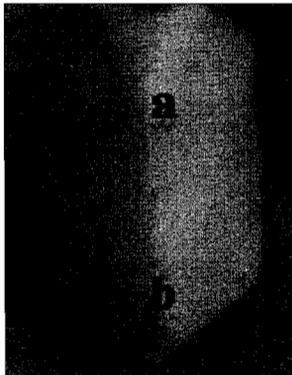


Humano



Figura 6.

Cerdo



Humano



Figura 7A. a) Prominencia laringea; b) Proyección del borde caudal.

Figura 7B. a) Escotadura tiroidea; b) Istmo del tiroides.

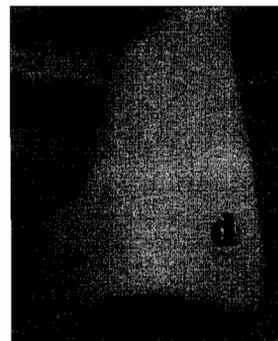


Figura 7C. a) Cuernos caudales; d) Línea oblicua.

Figura 7D. c) Tubérculo inferior; d) Cuerno inferior.

inferiores. (Figura 7).

En la conformación interna, ambas especies presentan dividida la laringe en 3 zonas. Esta división esta dada por los pliegues vestibulares y vocales en las dos especies.

El ventrículo laringeo es de mayor tamaño en el humano. (Figura 8).

En el cerdo, al proyectar los pliegues vocales hacia la cara ventral del cartilago tiroides estas se insertan en la prominencia inferior a 8 - 10

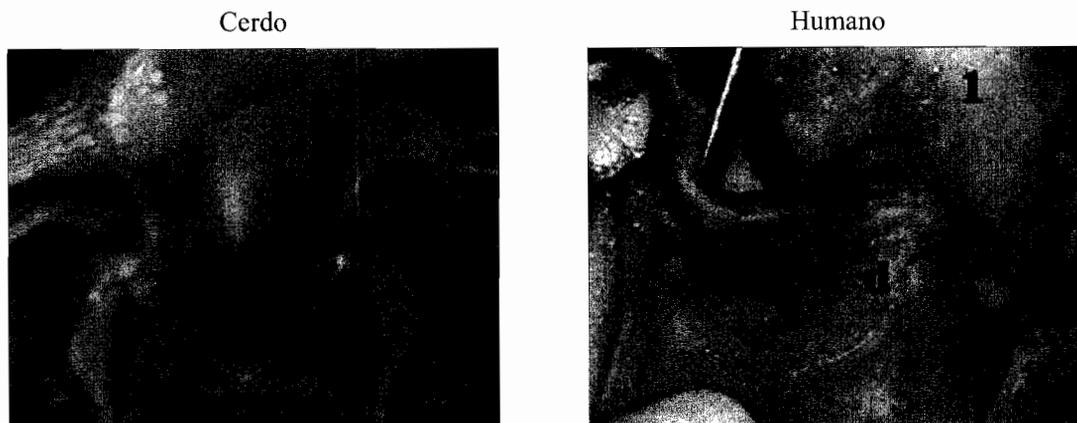


Figura 8. a) Cartílago cricoides; b) Pliegue vestibular; c) Pliegue (Cuerda) vocal; d) Ventrículo de la laringe; 1) Zona supraglótica; 2) Zona glótica; 3) Zona infraglótica.



Figura 9.

mm del borde inferior, a través de la comisura anterior. Siguen el borde inferior del ala del tiroides, que en el cerdo presenta forma de escotadura redondeada, hasta el cuerno posterior. En la parte más profunda de la escotadura y 1 cm hacia craneal se encuentra la proyección de la cuerda vocal, insertándose en la apófisis vocal del aritenoides. (Figura 9).

CONCLUSIÓN

De acuerdo a los hallazgos encontrados la laringe de cerdo puede ser utilizada como modelo para prácticas de técnicas fonocirúrgicas, al ob-

servar similitudes en las principales estructuras anatómicas importantes para realizar fonocirugía, como son la musculatura extrínseca e intrínseca, las articulaciones cricotiroidea y cricoaritenoides, y la disposición de las cuerdas vocales.

REFERENCIAS

- 1.- ADARO L, RICO B, FLORES E, CATTANEO G. 2004. Laringe Canina E Humana: Um Estudo Para Estabelecer Homologia. Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia Da Unipar, vol 7, nº 2; pg: 135 - 140.
- 2.- BOYD JD, CLARK, E, HAMILTON WJ, YOFFEY JM, ZUCKERMAN S, APPLETON AB. 1956. Textbook of Human Anatomy. 1º edición. Editorial Macmillan & Company Limited. Londres, Inglaterra.
- 3.- DYCE KM, SACK WO, WENSING CJG. 1998. Anatomía veterinaria. 1º edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.
- 4.- GARCÍA-TAPIA URRUTIA R, COBETA MARCO I. 1996. Diagnóstico y Tratamiento de los Trastornos de la voz. Editorial Garsi.S.A. Madrid. España.
- 5.- LATARJET M. 1951. Tratado de anatomía humana. 9º edición. Editorial Salvat. Barcelona. España. Tomo I y II.
- 6.- RICO B, PRUZZO E, CONTRERAS JM. 2002. Manual De Instrucción. Disección De Laringe. Ensayo de Técnicas de Fonocirugía. Cirugía Experimental. Hospital San Juan de Dios. Curso de Postgrado.
- 7.- SISSON S, GROSSMAN JD. 1996. Anatomía de los animales domésticos. 5º edición. Editorial Ciencia y Cultura Latinoamericana. Ciudad de México, México. Tomo I y II.
- 8.- TESTUT L. 1965. Tratado de anatomía humana. 2ª edición. Editorial Salvat. Barcelona, España. Tomo I y III.
- 9.- WOO P. 2000. Arytenoid adduction and medialization laryngoplasty. Otolaryngol Clin North 33(4): 817-839.
- 10.- ZEITEL S, HEALY G. 2003. Laryngology and Phosurgery. N Engl J Med 349(9): 882-892.

Digestibilidad del grano de avena entero en equinos medida por sustitución parcial en la dieta

IVÁN NÚÑEZ P.¹, M.V., VALERIA ROJAS E.¹, M.V., MARÍA SOL MORALES S.¹, S.M., PhD.
y JUAN EGAÑA M.¹, M.V., M.Sc.

¹ Universidad de Chile, Facultad Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

ABSTRACT

DIGESTIBILITY OF WHOLE OAT GRAIN IN THE HORSE MEASURED BY PARTIAL SUBSTITUTION IN THE DIET

Digestibility of whole oat was determined in 12 adult horses using the increasing substitution method. Dry matter, gross energy, crude protein, nitrogen-free extract, crude fiber and cell wall digestibility were quantified. Starting from a basal diet of alfalfa hay (control), increasing substitutions were prepared to reach a final mix of 15, 30 and 45% of whole oat. Digestibility of dry matter, nitrogen-free extract and energy, increased with the increment of whole oat in the diet. By contrast, crude fiber, cell wall and crude protein digestibility did not showed significant variations ($p > 0,05$) in all diets analyzed. To estimate theoretical digestibility of a diet 100% whole oat, regression analysis were performed resulting in digestibility of 88,2% for dry matter, 86,2% for crude protein, 94,7% for nitrogen-free extract, 89,5% for energy, 74,1% for crude fiber and 69,8% for cell walls.

Key words: Horse, nutrition, oats.

RESUMEN

En 12 equinos adultos mediante el método de sustitución creciente se determinó la digestibilidad de la materia seca, energía bruta, proteína cruda, extracto no nitrogenado, fibra cruda y paredes celulares del grano de avena. A una dieta basal de heno de alfalfa, (control) se le hicieron sustituciones crecientes del 15; 30 y 45% del heno por grano de avena entero. La digestibilidad de la materia seca, extracto no nitrogenado y de la energía, se incrementaron al aumentar el porcentaje de inclusión del grano de avena en la dieta. A diferencia, la digestibilidad de la proteína cruda, fibra cruda y paredes celulares, no presentó variaciones significativas entre las cuatro dietas evaluadas. El análisis de regresión mostró que la digestibilidad de la materia seca; proteína cruda; extracto no nitrogenado, energía; paredes celulares y fibra cruda, del grano de avena alcanzaron al: 88,2; 86,2; 94,7; 89,5 ; 74,1 y 69,8%, respectivamente.

Palabras clave: Caballo, nutrición, avena.

INTRODUCCIÓN

El nutriente habitualmente considerado como el más limitante en la formulación de las dietas para equinos, es el contenido energético, debido a que es el nutriente que presenta la mayor variación, dependiendo del estado fisiológico productivo del ejemplar, como son su tasa de crecimiento o la intensidad del trabajo que realiza.

El NRC, (2007), recomienda la inclusión de concentrados energéticos en la ración diaria en porcentajes entre el 10 y 40% para las yeguas, potrillos y caballos adultos con actividades de ejercicio diario entre liviano a intermedio. A diferencia, para potrillos Fina Sangre Inglés y para equinos adultos mantenidos en ejercicio intenso, la proporción de concentrados energéticos puede variar entre el 50 y el 70% del total de la dieta.

El concentrado energético mayoritariamente utilizado en Chile en la alimentación del equino, es el grano de avena, siendo habitual su uso en la alimentación del equino estabulado. Sin embargo, la inclusión de una alta cantidad de grano de avena o de otro concentrado energético en la dieta, puede ocasionar algunos desórdenes digestivos, tales como acidosis, cólicos, úlceras gástrica, laminitis y otras alteraciones metabólicas, debido a la producción rápida o excesiva de ácidos orgánicos en el tracto digestivo (Geor y Harris, 2007), los que tienden a disminuir cuando el grano es suministrado con diferentes tipos de procesamiento. (Bailoni et al., 2006).

Está descrito, que el procesamiento de los granos reduce el riesgo de los problemas digestivos que ocasionan en el equino, cuando son ingeridos en altas cantidades, como son los cuadros de acidosis, causados por la intensa fermentación cecal de los carbohidratos no estructurales que no fueron digeridos y absorbidos en el intestino delgado (Hill, 2007). Por otra parte, se ha descrito que en el equino, el almidón presente en el grano de avena tiene una mayor digestibilidad que el proveniente de otros cereales, como son el maíz y la cebada (Meyer et al., 1993), lo que es debido a las diferencias presentes en la morfología del gránulo de almidón como también a la alta actividad α -amilasa, dextrinasa y glucoamilasa presente en el yeyuno del equino (Svihus et al., 2005).

El almidón es el nutriente mayoritario de los cereales, y en el grano de avena de buena calidad,

oscila alrededor del 46-47%; aumentando en el grano de avena descascarada al 48-63% (Särkijärvi et al., 2006).

El objetivo de este trabajo fue determinar en equinos adultos, la digestibilidad de las principales fracciones nutritivas presentes en el grano de avena entero.

Debido a la limitación fisiológica de utilizar a la avena como único componente de la dieta equina, se determinó la digestibilidad de sus nutrientes por la metodología de sustitución creciente del heno de alfalfa de la ración basal, por grano de avena entero y extrapolando su digestibilidad al 100% mediante el empleo de regresión lineal, empleando la técnica de recolección total de heces (Van Soest, 1994 y Rymer, 2000).

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se utilizaron 12 caballos mestizos adultos (entre 6 y 20 años) con un peso promedio de 496 ± 32 kg. Previo al inicio del período experimental, los animales, fueron desparasitados (Ivermectina al 1%) y vacunados contra influenza equina subtipos A/Equi/1 y A/Equi/2.

Durante el ensayo los equinos permanecieron en pesebreras individuales de dimensiones de 3 x 3 m, con acceso libre a agua de bebida y diariamente fueron ejercitados en caminador durante dos horas, una en la mañana y otra en la tarde.

Durante los 15 días previos al inicio del ensayo, los equinos, fueron alimentados exclusivamente con heno de alfalfa, y posteriormente fueron asignados al azar en cuatro grupos de 3 ejemplares cada uno y alimentados durante un período de 10 días con una de las cuatro dietas en evaluación.

El período experimental del ensayo de digestibilidad consideró los cuatro primeros días como adaptación a la dieta, seguido por seis días en los que se realizó la recolección completa de las fecas.

Dietas

Se utilizaron cuatro dietas experimentales, una de las cuales consistió exclusivamente de heno de alfalfa (control) y las tres restantes, contenían 15; 30 y 45% de grano de avena entero, en sustitución de igual porcentaje de heno

de alfalfa, respectivamente.

La ración diaria fue suministrada individualmente en cantidades equivalente al 2% del peso vivo de cada animal (B.M.S.) y fue fraccionada en tres porciones diarias, las que fueron ofrecidas a las 07:00, 12:00 y 17:00 hrs. No se entregaron suplementos nutricionales adicionales.

Las dietas fueron confeccionadas el día previo a su entrega y en aquellas dietas que incluían grano de avena, la cantidad total diaria fue fraccionada en dos mitades, siendo una entregada con la comida de la mañana y el restante en la porción ofrecida en la tarde. El heno de alfalfa se entregó en proporciones del 25% del total diario en la mañana y al mediodía; y el restante 50% se entregó en la comida de la tarde. Para la dieta control, el heno de alfalfa se entregó en partes iguales en las tres comidas diarias.

Para la determinación de la digestibilidad de las diferentes fracciones nutritivas de las dietas, cada grupo fue alimentado con la dieta en evaluación por un período de 10 días, siendo considerados los 4 días iniciales como período de adaptación a su consumo a los que siguieron un período de 6 días de recolección completa de heces. La digestibilidad de las principales fracciones nutricionales (DN) presentes en las diferentes dietas, se obtuvo mediante la siguiente fórmula (Maynard et al., 1981):

$$\text{DN (\%)} = \frac{(\text{M.S. ingerida} \times \% \text{ Nutriente ingerido}) - (\text{M.S. excretada} \times \% \text{ Nutriente excretado})}{(\text{M.S. ingerida} \times \% \text{ Nutriente ingerido})} \times 100$$

Análisis químico

El heno de alfalfa y el grano de avena, fueron analizados en cuadruplicado, para determinar su composición química proximal: materia seca, proteína cruda, extracto etéreo, fibra cruda, cenizas y extracto no nitrogenado, (AOAC, 1995) además del contenido de paredes celulares y lignocelulosa, utilizando los procedimientos analíticos de Fibra Neutro detergente (FND) y Fibra Ácido Detergente (FAD). La lignina fue analizada por permanganato de potasio y la celulosa se determinó por incineración de la muestra deslignificada (Van Soest, 1994). Adicionalmente, se determinó el contenido de energía bruta mediante una bomba calorimétrica (Marca IKA; modelo C-2000).

Las heces fueron recolectadas individualmente cuatro veces al día en la pesebrera de cada animal como también durante la caminata, pesadas y homogenizadas manualmente, para posteriormente tomar una muestra del 10% del total, la que fue refrigerada y transportada al laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, donde fueron congeladas a -18°C hasta su posterior análisis en duplicado.

Posterior a su descongelación a temperatura ambiente, las muestras diarias de cada animal fueron pesadas y secadas en una estufa de aire forzado a 60°C durante 72 hrs, para posteriormente ser analizadas.

Las muestras diarias fecales de cada caballo fueron molidas y posteriormente se confeccionó un pool fecal de cada caballo, del que se tomó una muestra representativa la que fue sometida a Análisis Químico Proximal, empleando para ello las técnicas analíticas establecidas por el AOAC (1995), para la determinación de Materia Seca, Proteína Total (N x 0,25), Fibra Cruda, Extracto Etéreo, Extracto no nitrogenado, Cenizas, Energía Bruta, fraccionamiento de las paredes celulares y estimación de la concentración de Nutrientes Digestibles Totales. Estos parámetros fueron estimados de acuerdo a los procedimientos descritos por Van Soest et al. (1994).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La información recolectada, fue ingresada a planilla de cálculo empleando el programa Excel 2007. Los resultados fueron descritos mediante promedios y desviación estándar y analizados con el programa estadístico Infostat 2007.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante regresión lineal, correspondiendo a la variable independiente el nivel de inclusión de avena en la ración y la variable dependiente el coeficiente de digestibilidad de los diferentes nutrientes. De esta manera fue posible extrapolar la información obtenida al 100% de inclusión de avena en la dieta. Posteriormente los coeficientes obtenidos fueron comparados mediante análisis

de varianza. La diferencia entre medias fue establecida mediante la prueba de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición química de los alimentos

Los análisis químicos realizados en ambos ingredientes, estuvieron dentro de los rangos descritos en la literatura (Rymer, 2000, Särkijärvi y Saastamoinen, 2006) y se entregan en la Tabla 1.

La composición química de las diferentes dietas, según concentración de incorporación de la avena, se entrega en la Tabla 2.

Composición química de las fecas

El contenido de los principales nutrientes presentes en las heces de los caballos alimentados con las diferentes dietas, se entrega en la Tabla 3.

La digestibilidad promedio de los nutrientes obtenida para cada dieta con diferentes porcentajes de inclusión de avena, se entregan en la Tabla 4.

La digestibilidad de Materia Seca, Extracto No Nitrogenado, Energía Bruta y Nutrientes Digestibles Totales aumentó en forma significativa en la medida que se incrementó el nivel de incorporación del grano de avena en la dieta ($p \leq 0,05$).

La digestibilidad de la Proteína Total presen-

tó una tendencia a disminuir en la medida que aumentó la incorporación del grano de avena en la dieta, sin embargo esta tendencia no es estadísticamente significativa en las concentraciones de avena evaluadas ($p > 0,05$).

La digestibilidad del Extracto Etéreo aumentó al incorporar avena con respecto a la dieta sin grano en la dieta, pero tendió a mantenerse relativamente estable a medida en que se aumentó el nivel de incorporación ($p \leq 0,05$).

La digestibilidad de la Fibra Cruda y de las Paredes Celulares presentó una tendencia a disminuir a medida que aumenta la concentración de avena en la dieta, tendencia que no es significativa estadísticamente en las raciones estudiadas ($p > 0,05$).

Por el contrario, la digestibilidad de las Cenizas presentó una tendencia a disminuir en la medida que aumentó el nivel de incorporación del grano de avena en la dieta, presentándose diferencias significativas estadísticamente entre las raciones estudiadas ($p \leq 0,05$).

Líneas de regresión

Con los resultados obtenidos, se establecieron las líneas regresiones de los diferentes nutrientes evaluados, (Tabla 5) estimando la digestibilidad en el equino de los principales nutrientes del grano de avena. Los resultados se presentan en las Figuras 1 y 2.

Tabla 1. Análisis químico proximal y fraccionamiento de las paredes celulares del heno de alfalfa y del grano de avena utilizados en las dietas evaluadas (g/100 g \pm D.E.). Resultados en base materia seca

| Nutriente | Heno de alfalfa | Grano de avena |
|--|-------------------|-------------------|
| 1.-Análisis químico proximal | | |
| Materia seca | 88,5 \pm 1,69 | 88,7 \pm 0,21 |
| Proteína total | 11,3 \pm 1,68 | 8,0 \pm 0,21 |
| Fibra cruda | 33,8 \pm 5,63 | 10,5 \pm 0,0 |
| Extracto etéreo | 1,4 \pm 0,17 | 5,2 \pm 0,07 |
| Extracto no nitrogenado | 35,5 \pm 3,65 | 62,8 \pm 0,28 |
| Cenizas | 6,6 \pm 2,03 | 2,2 \pm 0,28 |
| 2.- Fraccionamiento de las paredes celulares | | |
| Fibra neutro detergente | 42,0 \pm 9,64 | 31,3 \pm 0,07 |
| Lignocelulosa | 32,8 \pm 5,01 | 15,0 \pm 0,78 |
| Hemicelulosas | 9,2 \pm 5,20 | 16,3 \pm 0,85 |
| Lignina | 8,4 \pm 0,25 | 3,6 \pm 0,49 |
| Celulosa | 23,0 \pm 5,16 | 11,0 \pm 0,21 |
| Cenizas solubles | 1,2 \pm 0,55 | 0,2 \pm 0,28 |
| Energía bruta (Kcal/kg) | 3.907 \pm 26,54 | 4.107 \pm 14,14 |

Tabla 2. Composición Nutritiva de las dietas evaluadas en equinos (g/100 g). Resultados en base materia seca

| Nutriente | Concentración de avena en la dieta | | | |
|-------------------------|------------------------------------|--------|--------|--------|
| | 0% | 15% | 30% | 45% |
| Materia seca | 88,5 | 88,5 | 88,5 | 88,6 |
| Proteína total | 11,3 | 10,8 | 10,3 | 9,8 |
| Fibra cruda | 33,8 | 30,3 | 26,8 | 23,3 |
| Extracto etéreo | 1,4 | 2,0 | 2,5 | 3,1 |
| Extracto nitrogenado | 35,5 | 39,6 | 43,7 | 47,8 |
| Cenizas | 6,6 | 5,9 | 5,3 | 4,6 |
| Paredes celulares | 55,2 | 51,6 | 48,0 | 44,4 |
| Lignocelulosa | 41,1 | 37,1 | 33,2 | 29,3 |
| Hemicelulosa | 14,2 | 14,5 | 14,8 | 15,1 |
| Lignina | 8,0 | 7,3 | 6,7 | 6,0 |
| Celulosa | 31,8 | 28,7 | 25,5 | 22,4 |
| Cenizas solubles | 1,3 | 1,1 | 0,9 | 0,8 |
| Energía bruta (Kcal/kg) | 3866,0 | 3902,2 | 3938,3 | 3974,5 |

Tabla 3. Análisis químico proximal, fraccionamiento de las paredes celulares y contenido de energía bruta de las heces de los caballos alimentados con diferentes niveles de inclusión de avena (g/100 g). Resultados en base materia seca

| Porcentaje Avena Nutriente | Concentración de avena en la dieta | | | |
|-------------------------------|------------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| | 0 % Prom ± D.E. | 15 % Prom ± D.E. | 30 % Prom ± D.E. | 45 % Prom ± D.E. |
| Materia seca | 27,6 ± 1,0 | 28,8 ± 0,2 | 28,8 ± 0,3 | 28,7 ± 0,9 |
| Proteína total | 8,0 ± 1,6 | 8,6 ± 1,5 | 9,2 ± 0,4 | 8,2 ± 2,1 |
| Fibra cruda | 49,2 ± 1,1 | 48,4 ± 1,4 | 45, ± 1,6 | 44,3 ± 3,4 |
| Extracto etéreo | 1,9 ± 5,7 | 1,4 ± 3,7 | 1,4 ± 1,8 | 1,7 ± 1,4 |
| Extracto no nitrogenado | 33,1 ± 1,6 | 33,0 ± 0,5 | 35,3 ± 0,5 | 38,1 ± 0,9 |
| Cenizas | 7,9 ± 0,8 | 8,6 ± 1,6 | 8,8 ± 1,2 | 7,7 ± 2,9 |
| Paredes celulares | 76,6 ± 1,5 | 75,5 ± 1,0 | 75,6 ± 1,1 | 76,0 ± 2,2 |
| Lignocelulosa | 59,5 ± 0,9 | 58,5 ± 1,2 | 57,0 ± 1,5 | 57,4 ± 2,5 |
| Hemicelulosa | 16,1 ± 3,1 | 17,0 ± 0,8 | 18,7 ± 0,5 | 18,6 ± 1,8 |
| Lignina | 17,1 ± 1,4 | 16,3 ± 0,9 | 15,5 ± 2,2 | 15,3 ± 3,7 |
| Celulosa | 40,4 ± 1,6 | 38,9 ± 0,8 | 38,3 ± 2,0 | 39,3 ± 2,5 |
| Cenizas solubles | 3,0 ± 5,2 | 3,2 ± 13,9 | 3,2 ± 3,6 | 2,8 ± 3,3 |
| Energía bruta (Kcal/kg) | 4219 ± | 4188 ± | 4127 ± | 4227 ± |

La digestibilidad de la Proteína Total presentó una tendencia a mantenerse estable, variando desde un 87,3% en la dieta sólo de heno de alfalfa, a 86,2% al extrapolar al 100% de incorporación de avena ($p > 0,05$). Lo mismo ocurre con la digestibilidad de las Paredes Celulares, que presentan una variación de 75,3% en el 0% de incorporación de avena a un 74,1% en el 100% ($p > 0,05$).

La digestibilidad tanto de la Fibra Cruda y de las Cenizas, disminuyó al estimar la digestibilidad con el 100% de incorporación de grano de avena, variando desde un 74,1 a 69,8 y

de 78,7 a 69,4 respectivamente ($p \leq 0,05$).

La digestibilidad de la Materia Seca, y del Extracto No Nitrogenado, presentó una tendencia a aumentar al ser extrapolada al 100% de incorporación de grano de avena en la dieta, con una variación que va desde un 82,2 al 88,2% y desde un 83,4 al 94,7% respectivamente ($p \leq 0,05$).

Los Nutrientes Digestibles Totales (TDN) tendieron a aumentar al incorporar el grano de avena en concentraciones crecientes en la dieta, desde 66,8% en la dieta en base a heno de alfalfa hasta un 74% en la dieta con 45% de

Tabla 4. Digestibilidad aparente de los diferentes nutrientes dietarios en las dietas con niveles crecientes de avena grano (%) (n=3)

| Porcentaje Avena Nutriente | 0 % Prom ± D.E. | 15 % Prom ± D.E. | 30 % Prom ± D.E. | 45 % Prom ± D.E. |
|--------------------------------|--------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Materia seca | 82,2 ± 1,0 a | 82,9 ± 0,2 a,b | 83,9 ± 0,3 b,c | 85,3 ± 0,9 c |
| Proteína total | 87,3 ± 1,6 a | 86,4 ± 1,5 a | 85,6 ± 0,4 a | 87,8 ± 2,1 a |
| Fibra cruda | 74,1 ± 1,1 a | 72,6 ± 1,4 a | 72,8 ± 1,6 a | 71,9 ± 3,4 a |
| Extracto etéreo | 76,3 ± 5,7 a | 87,8 ± 3,7 b | 91,3 ± 1,8 b | 91,9 ± 1,4 b |
| Paredes celulares | 75,3 ± 1,5 a | 74,9 ± 1,0 a | 74,7 ± 1,1 a | 74,8 ± 2,2 a |
| Extracto no nitrogenado | 83,4 ± 1,6 a | 85,7 ± 0,5 a,b | 87,0 ± 0,5 b,c | 88,3 ± 0,9 c |
| Cenizas | 78,7 ± 0,8 b | 75,1 ± 1,6 a,b | 73,4 ± 1,2 a | 75,3 ± 2,9 a,b |
| Energía bruta (Kcal/kg) | 80,8 ± 1,0 a | 81,8 ± 0,2 a,b | 83,3 ± 0,3 b,c | 84,4 ± 1,1 c |
| Nutrientes digestibles totales | 66,8 ± 1,0 a | 69,1 ± 0,1 b | 71,5 ± 0,4 c | 74,0 ± 0,8 d |

Letras distintas indican diferencias significativas (p ≤ 0,05).

Tabla 5. Coeficiente de las funciones de regresión para la digestibilidad de los principales nutrientes presentes en el grano de avena (y = a+bx). R² = Coeficiente de determinación

| Nutriente | a | b | R ² |
|--------------------------------|-------|------------------------|----------------|
| Materia seca | 82,2 | 0,06 | 0,82 |
| Proteína | 86,68 | - 4,5x10 ⁻³ | 0,0 |
| Fibra | 73,79 | - 0,04 | 0,15 |
| Paredes | 75,18 | - 0,01 | 0,02 |
| Extracto no nitrogenado | 83,69 | 0,11 | 0,82 |
| Cenizas | 77,43 | - 0,08 | 0,3 |
| Energía bruta | 80,48 | 0,09 | 0,83 |
| Nutrientes digestibles totales | 66,77 | 0,16 | 0,96 |

a: Intercepto; b: Coeficiente de regresión lineal.

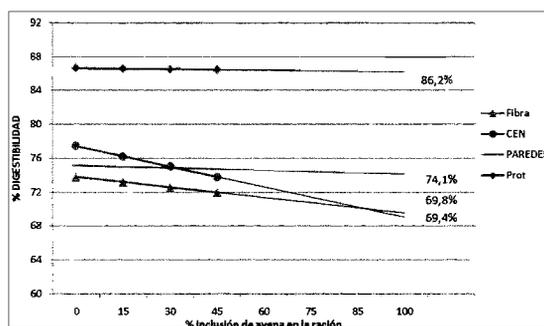


Figura 1. Curvas de regresión lineal y tendencia de la digestibilidad de la fibra cruda, cenizas, paredes celulares y proteína total presentes en dietas con niveles crecientes de grano de avena.

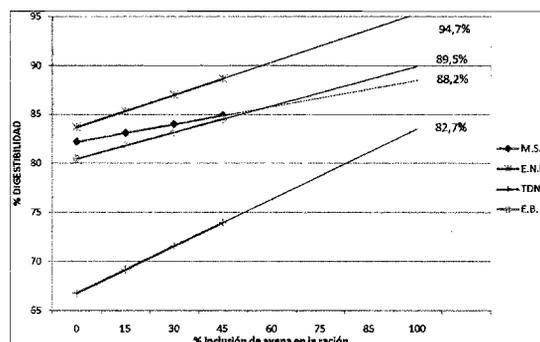


Figura 2. Curvas de regresión lineal y tendencia de la digestibilidad de la materia seca, extracto no nitrogenado, nutrientes digestibles totales y energía bruta presentes en dietas con niveles crecientes de grano de avena.

inclusión de avena. La tendencia, proyectada a la incorporación del 100% de avena en la dieta, alcanza una valor teórico del 82,7%. La digestibilidad de la Energía Bruta del grano de

avena en este estudio fue del 89,5%, superior a la descrita por Takagi et al., (2003), quien entrega una digestibilidad del 71% para la avena producida en Canadá, 67,4% para la producida

en Australia y 70,3% para la mezcla en proporción 1:1 de avenas producidas en Canadá y Hokkaido. Estas diferencias se pueden explicar probablemente a que los valores nutricionales de la avena varía según sus variedades genéticas y el país donde ha sido producida (Ishibashi, 1990).

La digestibilidad calculada de la Proteína Cruda del grano de avena coincide con los datos obtenidos por Gibbs et al., (1996) (82,8%), y por Takagi et al., 2003. (81%) quienes reportan valores del 82,8 y 81,0%, respectivamente.

CONCLUSIONES

A pesar de que se encuentra ampliamente documentado que el exceso de concentrado en las raciones de los equinos es predisponente para la presentación de cólicos abdominales y otras patologías del tracto digestivo como sistémicas, los caballos que participaron en el estudio no presentaron signos o síntomas de cólico, laminitis, acidosis metabólica u otros, pese a la inclusión del 45% de avena en las dietas experimentadas, manteniendo un buen estado de salud durante todo el transcurso del ensayo.

Este estudio demuestra que el aumento en la concentración de avena en la dieta del equino, modifica la digestibilidad de diversos nutrientes presentes en la ración, disminuyendo la digestibilidad de la Fibra Cruda y de las Cenizas, aumentando la digestibilidad de la Materia Seca, Extracto No Nitrogenado, Energía Bruta, como así mismo la concentración de los Nutrientes Digestibles Totales.

Tal como se esperaba, los resultados obtenidos en este estudio, para la digestibilidad de la Proteína Total, Energía Bruta y concentración de Nutrientes Digestibles Totales en el grano de avena en el equino fueron altos, lo que coincide con la literatura consultada.

Agradecimientos: El equipo de trabajo desea agradecer a Gemita Saavedra Silva y Verónica Silva Gallardo, personal técnico del laboratorio de Nutrición Animal, por su permanente colaboración, y al personal del Regimiento de Caballería Blindada N°1 Granaderos, quienes entregaron las facilidades para el establecimiento de una Unidad Metabólica para el ensayo de digestibilidad de nutrientes en el equino.

REFERENCIAS

- 1.- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th Edition. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington, VA. 1298 pp.
- 2.- BAILONI L, MANTOVANI R, PAGNIN G, SCHIAVON S. 2006. Effects of physical treatments on the resistant starch content and in vitro organic matter digestibility of different cereals in horses. *Livestock Science* 100: 14-17.
- 3.- GEOR RJ, HARRIS PA. 2007. How to minimize gastrointestinal disease associated with carbohydrate nutrition in horses. In: *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* 2007. Vol 53. pp 178-185.
- 4.- GIBBS PG, POTTER GD, SCHELLING GT, KREIDER JL, BOYD CL. 1996. The significance of small vs large intestinal digestion of cereal grain and oilseed protein in the equine. *Journal of equine Veterinary Science* 16, 2: 60-65.
- 5.- HILL J. 2007. Impacts of nutritional technology on feeds offered to horses: A review of effects of processing on voluntary intake, digesta characteristics and feed utilization. *Animal Feed Science and Technology* 138 (2007): 92-117.
- 6.- ISHIBASHI T. 1990. Aminoacid requeriments of poultry. *Jpn. Poul. Sci.* 27: 1-15. IN: Takagi, H., Hashimoto, Y., Yonemochi, C., Hishibashi, T., Asai, Y., Watanabe, R., 2003. Digestibility of cereals, oil meals, brans and hays in thoroughbreds. *J.Equine Sci* 14; 4: 119-124.
- 7.- MAYNARD LA, LOOSLI JK, HINTZ HF, WAGNER RG. 1981. *Nutricion Animal*. 4a Ed. Español. Mc GRAW HILL. México.
- 8.- MEYER H, RADICKE S, KIENGL E, WILKE S, KLEFFKEN D. 1993. Investigations on preileal digestion of oats, corn and barley starch in relation to grain processing. In : *Proceedings of 13th Equine Nutrition and Physiology Society*, Gainesville, EPNS, FL, USA, pp. 92-97.
- 9.- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 2007. *Nutrient Requirements of Horses*. National Academy of Sciences. ISBN: 978-0-309-10212-4.
- 10.- RYMER C. 2000. The measurement of forage digestibility in vivo. In: Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. (Eds.), *Forage Evaluation in Ruminant Nutrition*. CABI Publishing, New York, NY, pp. 113-134.
- 11.- SÄRKIJÄRVI S, SAASTAMOINEN M. 2006. Feeding value of various processed oat grains in equine diets. *Livestock Science* 100: 3-9.
- 12.- SVIHUS B, UHLEN AK, HARSTAD OM. 2005. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value cereal starch: A review. *Animal Feed Science and Technology* 122: 303-320.
- 13.- TAKAGI H, HASHIMOTO Y, YONEMOCHI C, HISHIBASHI T, ASAI Y, WATANABE R. 2003. Digestibility of cereals, oil meals, brans and hays in thoroughbreds. *J.Equine Sci*. Vol. 14, N° 4: 119-124.
- 14.- VAN SOEST PJ. 1994. *Nutritional Ecology of the Ruminant* (2nd edition). Cornell University Press. 476 pp.

Resúmenes de tesis de postgrado

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSGRADO Y POSTÍTULO**

ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO DE TUBERCULOSIS EN REBAÑOS LECHEROS DE CHILE (REGIONES DE VALPARAÍSO, DE O'HIGGINS, DEL MAULE Y REGIÓN METROPOLITANA) 2004

GABRIELA ESPEJO R.¹

¹ Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2008.

Los objetivos fueron realizar un diagnóstico de situación de tuberculosis bovina basado en el análisis de datos de las encuestas epidemiológicas a rebaños realizadas en el año 2004 en las Regiones de Valparaíso, de O'Higgins, del Maule y Metropolitana, junto con detectar las condiciones de manejo que favorecen la transmisión de la enfermedad, analizar las asociaciones de variables del hospedero y variables ambientales, relacionadas con la prevalencia de la enfermedad en el sector de estudio.

El material correspondió a 260 encuestas epidemiológicas realizadas a predios lecheros por funcionarios del Servicio Agrícola y Ganadero.

Para el análisis de la información proveniente de estas encuestas, se utilizó un análisis estadístico multivariado (regresión logística), con el fin de poder detectar las condiciones de manejo que favorecen la transmisión de la tuberculosis bovina y analizar las asociaciones de variables del hospedero y del ambiente

relacionadas con la prevalencia de la enfermedad en los predios lecheros de estudio.

Los resultados indicaron que las variables analizadas que tuvieron una asociación estadísticamente significativa al diagnóstico positivo de tuberculosis bovina en el predio, fueron el diagnóstico positivo de tuberculosis previo por decomiso en el matadero, un mayor tamaño del rebaño, el tipo de manejo referido a la ocupación de un patio de alimentación y la alimentación de terneros y terneras con calostro y leche materna sin tratamiento.

El estudio, además indicó que la asistencia veterinaria, número y categorías de animales dentro del predio, la condición de estabulación, tipo de manejo en cuanto a la separación de la categoría vacas separadas de otras categorías, manejo separado de grupo de vaquillas y de terneros y terneras, no se asociaron significativamente a la presencia de tuberculosis dentro de los predios en estudio.

Palabras clave: tuberculosis bovina, predios lecheros, *Mycobacterium bovis*.

Resúmenes de tesis de postgrado

**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE POSGRADO Y POSTÍTULO**

BRUCELOSIS BOVINA: COMPARACIÓN DE VACUNAS CEPA RB51 Y CEPA 19 EN CONDICIONES DE CAMPO MEDIANTE ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA

PAULA CACERES S.¹

¹ Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Universidad de Chile, 2008.

En la lucha contra la brucelosis bovina se han usado vacunas de distintas características. En Chile han sido usadas ampliamente las vacunas Cepa 19 y RB51, siendo ésta última, la vacuna aprobada por el SAG para el control de la enfermedad desde el año 1997.

El SAG proporcionó los datos recopilados en un estudio de determinación de incidencia, realizado el año 1997, en cuatro rebaños lecheros de la X región del país infectados con brucelosis bovina y vacunados con las vacunas Cepa 19 y Cepa RB51, no encontrando diferencias significativas entre la utilización de ambas vacunas.

A partir de estos antecedentes, se pudo realizar un nuevo enfoque de la determinación de tasas de incidencia y un análisis de supervivencia, el cual corresponde a diferentes técnicas estadísticas basadas en regresiones, que modelan la variable de la presentación de un evento de interés (ocurrencia de la enfermedad) mediante una función no lineal que representa el riesgo

que tiene cada animal de que le ocurra el evento a través del tiempo.

Este estudio consideró, la clasificación de los animales diagnosticados como casos, según las pruebas Rosa Bengala, Fijación de Complemento y ELISA Competencia, de acuerdo a distintas interpretaciones diagnósticas: en serie, confirmatoria y en paralelo. Los resultados de animales diagnosticados como reaccionantes a brucelosis bovina y las diferencias observadas entre las curvas de supervivencia que entrega el estudio, están afectadas por el tipo de interpretación realizada. La Regresión de Cox multivariada corregida por predio, determinó que la vacuna Cepa RB51 es protectora frente a la vacuna Cepa 19 en forma significativa ($p < 0,05$), sólo cuando la interpretación de la prueba se realiza en paralelo, lo que se puede explicar por la menor especificidad de este tipo de interpretación y por los problemas de interferencia serológica que presenta la vacuna Cepa 19.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

Organización del Manuscrito

Los trabajos deben ser escritos a doble espacio, tamaño carta (21 x 27 cm) con márgenes derecho e izquierdo de 2,5 cm, y constar de las siguientes secciones: Título, Abstract, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Resumen y Referencias. Eventualmente Resultados y Discusión podrán presentarse en conjunto. Los artículos no podrán exceder de 15 páginas en total.

En la primera página se incluirá el título del trabajo, que no debe llevar fórmulas ni abreviaturas. A continuación el nombre de los autores, identificándolos con el primer nombre, apellido paterno e inicial de apellido materno, seguido de las abreviaturas de sus títulos y grados. Luego se indicará la institución y dirección postal donde se realizó el trabajo.

En la segunda página se debe incluir el Título y Resumen en inglés (Abstract), en el cual se describirán en forma concisa los objetivos, procedimientos y resultados de la investigación. A continuación deberá escribir a lo menos dos palabras clave que identifiquen el área del trabajo, tanto en castellano como en inglés. En las páginas siguientes se escribirá el texto iniciándolo con Introducción, seguido de Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Resumen y Referencias.

Los cuadros, figuras, fotografías y métodos se ordenarán de acuerdo a su secuencia con números árabes y se incluirán en hojas aparte. El título deberá encabezarlo y cualquier información adicional necesaria para su comprensión deberá ir en la parte inferior de ellos. En caso de incluir fotografías se indicará en el reverso de éstas su orientación y el texto.

Las referencias deberán ordenarse alfabéticamente por el apellido paterno del primer autor. Cada una debe detallarse como se indica a continuación:

- Publicaciones periódicas y seriadas: autor(es), inicial del nombre en mayúscula y apellido paterno; año; título del trabajo; nombre de la revista, abreviado de acuerdo a normas internacionales; número del volumen (subrayado) páginas del artículo.
- Libros y otras publicaciones no seriadas: autor(es), año; título del libro o publicación, edición si no es la primera; lugar de la publicación; editor.
- Tesis de grado: autor, año; título de la tesis; lugar, Universidad; Facultad. Ej.: Ramírez, Y. 1987. Tesis. Estudio preliminar de rotavirus en ovinos, Santiago. Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias.

Las referencias se presentarán en el texto indicando el autor(es) y el año de la publicación entre paréntesis; en caso de más de dos autores se indicará el apellido del primer autor y a continuación se agregará "y col." seguido del año entre paréntesis. Ej.: "...de acuerdo a González y col. (1980) o bien "se utilizó el método convencional para... (Lowry y col., 1951)".

En relación a los Casos Clínicos se sugiere que deberían constar de: Abstract, Introducción y Descripción del caso. Discusión, Resumen y Referencias.

Los artículos generales serán a petición expresa del Comité Editor.

Las unidades y medidas se expresarán de acuerdo a denominaciones internacionales. En los casos que corresponda se indicará la marca registrada.

Cada manuscrito enviado para su publicación en Av. Cs. Vet. es sometido a una evaluación por el Comité Editor y/o, evaluadores externos, cuando corresponda.

La decisión del Comité Editor respecto al arbitraje será comunicada a los autores. La revista se reserva el derecho para efectuar las modificaciones que considere necesarias en la presentación del texto. No se devolverán originales.

Los manuscritos deberán ser enviados en discos de computador (Compact Disks) compatibles con unidad CD-ROM. Se aceptarán los siguientes programas Microsoft Word; Word Perfect S.1 o superior. Letra tamaño 12 como mínimo. Además deberá remitirse un ejemplar impreso.

VALOR DE PUBLICACIÓN

El valor de la publicación es de US\$ 10.00 por página (con láminas en blanco y negro) y de US\$

35.00 por página con láminas en color. Este valor deberá ser cancelado al momento de la aceptación del trabajo.

El Director de la Revista considerará la exención parcial del valor de publicación para manuscritos originados en proyectos de investigación sin financiamiento para publicación, y si el autor principal posee suscripción anual a la Revista.

Los manuscritos y correspondencia deben enviarse a:

Comité Editor.

Revista Avances en Ciencias Veterinarias.

Casilla 2, Correo 15.

Santiago-Chile.

Correo Electrónico: uvergara@uchile.cl

ravcsvet@uchile.cl

Fonos: 978 5657-9785621