

UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
INSTITUTO DE PATOLOGÍA ANIMAL

**“ MAL SECO: EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DEL GANGLIO NERVIOSO
CELÍACO-MESENTÉRICO DE EQUINOS, OBTENIDOS EN EL MATADERO DE
GALVARINO IX REGIÓN, CHILE”**

Memoria de Título presentada como parte
de los requisitos para optar al **TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO.**

PATRICIA ISABEL FLORES CIFUENTES

VALDIVIA - CHILE

2005

PROFESOR PATROCINANTE

Dr. Enrique Paredes H.
Nombre Firma

PROFESORES CALIFICADORES

Dr. Oscar Araya V.
Nombre Firma

Dra. Sara Rodríguez C.
Nombre Firma

FECHA DE APROBACIÓN

28 de Noviembre del 2005

*A mis padres Carlos, Mónica
y hermano Carlos, con cariño.*

ÍNDICE

Capítulo	Páginas
1. RESUMEN	1
2. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MATERIAL Y MÉTODO	14
5. RESULTADOS	17
6. DISCUSIÓN	31
7. BIBLIOGRAFÍA	38
8. ANEXOS	43
9. AGRADECIMIENTOS	51

1. RESUMEN

Durante los meses de enero y marzo de 2005, se obtuvo el ganglio celíaco-mesentérico de 59 caballos faenados en el matadero de Galvarino, IX Región de Chile, desconociéndose su historial clínico. Posteriormente, las muestras fueron procesadas en el Instituto de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile, siendo teñidas con hematoxilina-eosina para su examen microscópico. El objetivo de este estudio fue determinar las lesiones histológicas presentes en el ganglio (aquellas relacionadas con “Mal seco”) de los caballos faenados en un matadero, determinar el tipo de caballo que podría estar afectado y el lugar geográfico de origen. Los hallazgos histológicos del ganglio celíaco-mesentérico fueron semicuantificados subjetivamente, utilizando la siguiente escala: negativo, leve, moderado y severo.

El 19% (n = 11) de los ganglios analizados presentó cambios histopatológicos concordantes con “Mal seco” o “Grass sickness”. Una muestra presentó cambios histopatológicos atribuibles a la presencia de un melanoma.

La mayor parte de los ganglios afectados, corresponden a caballos entre 1 y 14 años de edad (72,80%), de raza Criollo chileno (82%), provenientes del sector cordillerano (36,35%) e intermedio (63,65%), de las VIII y IX Regiones del país.

Entre las lesiones histopatológicas de las muestras afectadas, se observó moderada a severa pérdida de los cuerpos de Nissl (100%), moderada a severa cromatólisis neuronal (91%), vacuolización moderada a severa de células ganglionares (36%), presencia de lipofucsina en diferente cantidad (72,70%), además, se encontró picnosis nuclear moderada, así como linfocitosis y neurofagia leve en el 100% de las muestras.

El hallazgo en los ganglios nerviosos celíacos mesentéricos de lesiones concordantes histológicamente con las descritas en “Mal seco” o “Grass sickness”, confirmaría la presencia de la enfermedad en las Regiones VIII y IX. Con respecto al curso de la enfermedad, el 77,70% de los ganglios afectados presentó daño concordante con “Mal seco” en su forma aguda y un 27,30% evidenció lesiones concordantes con la forma crónica.

Palabras claves: caballos, Mal seco, Grass sickness, ganglio celíaco-mesentérico, disautonomía.

2. SUMMARY

Mal seco: Histological evaluation of equine coeliaco-mesenteric ganglia, obtained in Galvarino slaughter house, IX region of Chile.

The aim of this study was to determine the histological lesions present in the coeliaco-mesenteric ganglia (those related to “Mal seco”) in horses. For that, coeliaco-mesenteric ganglia were obtained from 59 horses slaughtered in Galvarino slaughter house, IX region of Chile, from January and March of 2005. Also determine the type of horse that could be affected and its geographic origin, not knowing their medical history. The histological findings of the coeliaco-mesenteric ganglia were subjectively semiquantified, using the scale: negative, mild, moderate and severe. Later, samples were processed and stained with hematoxylin-eosin for their microscopic examination at the Animal Pathology Institute of the Faculty of Veterinary Science at Austral University of Chile.

Results indicated that 19% (n = 11) of the analyzed ganglia presented histological changes related with “Mal seco” or “Grass sickness”. One Sample presented histological changes similar to melanoma.

Most of the affected ganglia, belongs to horses between 1 to 14 years of age (72.80%), of the Criollo chileno breed (82%). The horses came from of the mountainous area (36.35%) and central area (63.65%) of the VIII and IX regions.

Among the histopatological findings of the samples related with “Mal seco”, a moderate to severe loss of Nissl substance (100%) was observed, as well as, moderate to severe chromatolytic neurons (91%), moderate to severe vacuoles of ganglionar cells (36%), presence of lipofuscin in different amounts (72.70%). Additionally moderate pycknotic nuclei, as well as lymphocytes and mild neurophagia was observed in 100% of the samples.

From the affected ganglia 77.70% presented related lesions with “Mal seco” in their acute form and 27.30% demonstrated related lesions with the chronic form. Histological findings in coeliaco-mesenteric ganglia correspond with the lesions described in “Mal seco” or “Grass sickness”, therefore confirming the presence of the disease in the VIII and IX regions.

Key words: horses, Mal seco, Grass sickness, coeliaco-mesenteric ganglia, dysautonomia.

3. INTRODUCCIÓN

3.1. GENERALIDADES

La enfermedad conocida como “Grass sickness” (equine dysautonomia), es una disautonomía de los équidos, caracterizada por daño de las neuronas del sistema nervioso autónomo. Fue descrita por primera vez en el este de Escocia en 1907 (Colaham y col 1999). También se ha identificado en el Reino Unido, Noruega, Suiza y Alemania, así como en las Islas Malvinas (Woods y Gilmour 1991), no habiéndose informado casos en Australia, Asia, África y Norteamérica (Mair y col 2003). Por otra parte, en Sudamérica se ha descrito un cuadro similar en la región patagónica Argentina y sur de Chile, denominado “Mal seco” (Uzal y col 1992, Muñoz y Paredes 1993, Araya y col 2002), ya que los cambios histopatológicos observados en los ganglios nerviosos autónomos son similares (Brownlee 1992). En Chile, la primera descripción de la enfermedad se realizó en una mula (Muñoz y Paredes 1993), posteriormente se describió en caballos (Araya y col 2002).

El “Mal seco” o “Grass sickness” se caracterizan por presentar lesiones en el sistema nervioso autónomo (SNA) (Wright y Hodson 1988). El sistema nervioso autónomo o vegetativo, es un sistema motor periférico que inerva la musculatura lisa y cardíaca, así como a cierto número de tejidos glandulares (glándulas endocrinas y exocrinas), controlando funciones subconscientes del cuerpo como la presión sanguínea, la frecuencia cardíaca, la motilidad intestinal y el diámetro de la pupila del ojo (Cunningham 1994).

El sistema nervioso autónomo, posee dos nervios periféricos. El primero llamado nervio preganglionar, que posee su cuerpo celular dentro del sistema nervioso central (SNC), pero su axón inerva a una segunda neurona en la cadena, denominada nervio posganglionar. Por lo general las neuronas posganglionares no son mielinizadas. Su cuerpo celular se encuentra en una estructura periférica llamada ganglio, este se define como una colección de cuerpos celulares nerviosos fuera del SNC (Cunningham 1994).

El sistema nervioso autónomo se divide en sistema nervioso simpático y parasimpático, en parte debido a la localización de las neuronas preganglionares. En el sistema nervioso simpático los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares se sitúan en la columna gris intermedia de la médula espinal toracolumbar. Estas neuronas se extienden desde el primer espacio torácico al quinto espacio lumbar, por lo que se llama sistema tóraco-lumbar. En el sistema nervioso parasimpático los cuerpos celulares de las neuronas preganglionares se localizan en el tallo encefálico en los núcleos de los pares craneales III, VII, IX, X y XI y en los segmentos sacros de la médula espinal, el sistema craneosacro (Banks 1995).

El sistema nervioso simpático posee axones preganglionares cortos y posganglionares largos. Los axones preganglionares del sistema nervioso simpático abandonan la médula espinal por medio de las raíces ventrales desde los primeros nervios espinales torácicos hasta las terceras o cuartas lumbares. Pasan a través de una rama comunicante para penetrar a la cadena ganglionar simpática paravertebral, en donde hacen sinapsis con una neurona posganglionar. Estos axones posganglionares se extienden hacia uno de los órganos viscerales huecos. Unos cuantos axones preganglionares pasan a través de los ganglios paravertebrales para hacer sinapsis con las neuronas posganglionares en ganglios prevertebrales más distales, los cuales se llaman de acuerdo a los vasos sanguíneos adyacentes (Cunningham 1994).

El sistema nervioso parasimpático, posee axones preganglionares largos y posganglionares cortos. Los axones preganglionares largos pasan hacia los ganglios parasimpáticos en o cerca del órgano blanco en donde hacen sinapsis con neuronas posganglionares cortas (Cunningham 1994). Por lo general, estas sinapsis ocurren en los ganglios intramurales dentro de las paredes de los órganos (Banks 1995).

Los principales neurotransmisores del sistema nervioso autónomo son acetilcolina (ACh) y noradrenalina (NA). Las fibras preganglionares simpáticas y parasimpáticas y las fibras posganglionares parasimpáticas liberan acetilcolina; por consiguiente, se llaman fibras colinérgicas. Las fibras posganglionares simpáticas liberan noradrenalina y se denominan fibras adrenérgicas (Banks 1995).

La acetilcolina estimula dos diferentes receptores colinérgicos: muscarínicos y nicotínicos. Los receptores muscarínicos para la acetilcolina están en todas las células blanco que son estimuladas por las neuronas posganglionares parasimpáticas y colinérgicas del sistema nervioso simpático. Los receptores nicotínicos se encuentran en todas las sinapsis que existen entre las neuronas pre y posganglionares y a nivel de la unión neuromuscular somática. En general, la motilidad y tono intestinal, aumenta frente a una estimulación colinérgica (Cunningham 1994).

Existen dos tipos principales de receptores adrenérgicos, llamados receptores α y β (Cunningham 1994). Los receptores adrenérgicos se encuentran en la unión neuromuscular del sistema nervioso simpático (Banks 1995). En este caso la motilidad y tono intestinal, disminuye frente a la estimulación adrenérgica (Cunningham 1994).

El “Grass sickness” está caracterizado por severas y extensas lesiones en las neuronas de los sistemas autónomo y plexos entéricos, sin embargo, las alteraciones predominan en los ganglios nerviosos y los núcleos del SNC (Griffiths y col 1994).

La signología clínica de esta enfermedad, indica una gran disfunción en el SNA, estando el tracto gastrointestinal particularmente afectado, sin embargo, otros signos comunes son profusa sudoración, piloerección y salivación excesiva. El examen histológico postmortem indica cambios patológicos neuronales en muchas áreas del SNA, incluyendo el plexo entérico, ganglios prevertebral y paravertebral y núcleos específicos del SNA en la médula espinal y

cerebro. Estas anomalías en las neuronas del SNA son directa o indirectamente responsables de los signos clínicos del “Grass sickness” (John y col 2001).

En Suecia, Obel (1955) reportó los cambios degenerativos presentes en los ganglios autónomos en equinos con “Grass sickness”. Este descubrimiento fue confirmado en Gran Bretaña por Mahaffey en 1959, quien examinó los ganglios autónomos cervicales, el ganglio estrellado y el celíaco-mesentérico. Posteriormente, Gilmour (1973) y Pogson y col (1992) incluyeron el ganglio ciliar y el ganglio de la raíz dorsal, observaron que las lesiones estaban presentes en todos los ganglios, incluso demostraron que estas no eran uniformes cuando la signología clínica superaba los 8 días de duración.

Las áreas en las cuales se han encontrado lesiones histológicas de “Grass sickness”, son las siguientes (Gilmour 1987):

Plexo alimentario:	Mientérico (Auerbach) Submucosa (Meissner)
Ganglios periféricos:	Celíaco-mesentérico Cadena tóraco-simpático Estrellado (cervical posterior) Cervical cranial(derecho e izquierdo) (Doxey y col 1992) Ciliar
Médula espinal:	Ganglio de la raíz dorsal (células pequeñas) Núcleo intermedio-lateral Cuerno ventral
Cerebro:	Núcleo del vástago del cerebro Ganglio trigémino

El ganglio celíaco-mesentérico es un ganglio nervioso prevertebral correspondiente al SNA simpático, por este ganglio pasan fibras aferentes y eferentes, provenientes del sistema gastrointestinal (Hodson y Wright 1987). El plexo nervioso que rodea a este ganglio, recibe fibras parasimpáticas del nervio vago (décimo par craneano), por lo cual el ganglio cumple una función dual sobre vísceras abdominales como hígado, bazo, páncreas, riñón, estómago, duodeno, ileon, colon mayor y ciego (König y Liebich 2004).

Los cuerpos celulares de las neuronas del ganglio celíaco-mesentérico son variables en forma y tamaño. El citoplasma de una neurona sana es levemente acidófilo en apariencia, los cuerpos de Nissl son basófilos y abunda homogéneamente en el citoplasma neuronal excepto en la base del axón (Mahaffey 1959). Esta sustancia corresponde al retículo endoplasmático rugoso (RER) el cual tiene como función sintetizar y transportar proteínas (Jones y col 1997). El núcleo es esférico y muchas veces se presenta excéntrico, por otra parte, se pueden observar células sin núcleo, debido al corte de la preparación. El núcleo presenta un nucléolo esférico prominente, algunas veces doble. En el citoplasma de algunas células nerviosas es posible encontrar lipofucsina, su presencia se atribuye al elevado índice de metabolismo y recambio de los organelos (Banks 1995). Las neuronas están rodeadas por células gliales, las cuales constituyen la trama de sostén del estroma del sistema nervioso, manteniendo unidas entre sí a

las neuronas, por otra parte, dichas células tienen funciones nutricias y de protección, así como otras actividades vitales para las neuronas (Banks 1995). En el tejido de sostén se encuentran pequeños vasos sanguíneos, los cuales presentan pocos eritrocitos. El tejido conectivo de la periferia ganglionar, se presenta un fino estroma de colágeno, el cual alberga una pequeña cantidad de leucocitos (Mahaffey 1959).

El tamaño del ganglio celiaco-mesentérico es directamente proporcional al tamaño del animal. Un caballo de talla grande tiene alrededor de 10300 ± 3700 neuronas, y un caballo de talla pequeña, como el pony, tienen alrededor de 9000 ± 2000 neuronas por ganglio. Comparado con los ganglios cervicales y el estrellado, este ganglio posee casi el doble de neuronas (Pogson y col 1992).

Gilmour (1973) demostró que en equinos con “Grass sickness”, el daño entre los ganglios cervicales superior e inferior, estrellado y celiaco-mesentérico, no era uniforme cuando la signología clínica era menor a 8 días, indicando que el daño del ganglio celiaco-mesentérico era menor, cuando el cuadro era agudo o subagudo. Posteriormente, Pogson y col (1992) demostraron que el daño neuronal tiene relación con la duración de la enfermedad. En los casos agudos y subagudos el número de células dañadas y muertas en el ganglio celiaco-mesentérico, correspondían al 50% del total de neuronas, por otra parte, en los ganglios cervicales y estrellado el porcentaje de células dañadas y muertas era de un 80%. Cuando el cuadro es crónico el número de neuronas disminuye casi en un 50% en estos ganglios, por otra parte, el 40% de ellas se presentan dañadas y muertas. Además, en el ganglio celiaco-mesentérico se da la paradoja de aumentar de tamaño en los casos crónicos, ya que el tejido neuronal es reemplazado por células gliales.

Pogson y col (1992) señalan que en los cuadros agudos la diferencia en el porcentaje de células dañadas y muertas en los ganglios anteriormente nombrados, tendría relación con la vía de entrada del agente etiológico, mostrando que en casos agudos y subagudos de cuadros naturales, el daño de los ganglios cervicales y estrellado, era mayor que el observado en el ganglio celiaco-mesentérico. Sin embargo, en la inducción experimental en caballos sanos, inyectando intraperitonealmente suero de caballos enfermos, el ganglio celiaco-mesentérico presentaba un daño mayor con respecto a los otros ganglios. Teóricamente, si el agente etiológico es la toxina del *Clostridium botulinum*, la cual es neurotrópica, se explicaría el por qué afecta primero a los ganglios autónomos periféricos más cercanos a la vía de entrada.

3.2. EPIDEMIOLOGÍA

El primer brote de “Grass sickness” se produjo en Escocia en 1909. En 1911 esta enfermedad no sólo había recorrido la mayoría de los condados de Escocia, sino también la mayor parte de Inglaterra y Gales. En 1941 la enfermedad avanzó hasta el Norte de Irlanda, extendiéndose posteriormente por todo el país. A partir de 1961 llegó al continente europeo, presentándose en Alemania, Francia, Suiza, Holanda y Bélgica, en orden consecutivo (McCarthy y col 2001). Un único caso de “Grass sickness” fue confirmado en las Islas

Malvinas en 1987 (Woods y Gilmour 1991). El “Mal seco” (“mal hinchado” en su forma aguda) en la Patagonia Argentina y Chile, es similar tanto clínico como patológicamente al “Grass sickness”, por lo que se sospecha que se trata de la misma enfermedad (McCarthy y col 2001).

Todos los équidos son susceptibles a enfermar, habiendo ciertos factores de riesgo asociados con la incidencia incrementada de “Grass sickness” (Doxey y col 1991^b):

- **Edad:** La incidencia de la enfermedad es mayor en animales de 3 a 6 años (adultos jóvenes), aunque puede afectar a caballos de cualquier edad. Se cree que los animales adultos poseen mayor resistencia a la enfermedad (McCarthy y col 2001). Si bien, esta enfermedad ha sido reportada en potrillos, su prevalencia es muy baja (McGorum y col 2003^a).
- **Sexo:** Afecta a ambos sexos por igual, sin embargo, estudios epidemiológicos indican que las yeguas tienen una menor predisposición a enfermar (Mair y col 2003).
- **Condición corporal:** Animales con una buena condición corporal son más susceptibles a contraer la enfermedad (Doxey y col 1991^a).
- **Estación:** La enfermedad puede producirse en cualquier mes del año (Pogson y col 1992). Sin embargo, en ambos hemisferios la mayor incidencia se da en primavera - verano, cuando la pradera comienza a crecer y hay altas temperaturas, seguido de períodos de humedad (McCarthy y col 2001).
- **Pastoreo:** Esta enfermedad afecta casi exclusivamente a équidos que pastan, siendo raros los casos informados en animales que se mantienen alojados en establos (Mair y col 2003). En Escocia el 90% de los casos han sido reportados en praderas de tipo permanente (McCarthy y col 2001). McCarthy y col (2004^a) indican que altos niveles de nitrógeno en el suelo aumentan el riesgo de enfermar. Bajos niveles de selenio en las praderas se han visto implicados en caballos con la enfermedad, ya que la mayoría de los animales afectados tienen bajos niveles de selenio sanguíneo (Owen 1978).
- **Movimiento a nuevos establecimientos:** En áreas endémicas, es frecuente que después de trasladar los caballos de una pradera a otra, el 50% de estos enferma en un período de 2 a 4 semanas. Por lo tanto, el cambio a nuevas praderas aumenta el riesgo y la prevalencia de la enfermedad (Doxey y col 1991^a).
- **Clima:** La mayoría de los brotes se producen cuando el clima es frío (< a 6°C), seguido por altas temperaturas (>15°C). Un factor importante son las mañanas, en las cuales la pradera se congela, seguido del incremento de la temperatura en las tardes. Esto se produce principalmente en zonas montañosas. Los casos de “Grass sickness” se presentan posterior a una semana de presentarse estas condiciones climáticas (McCarthy y col 2001).

- **Raza:** Puede afectar a cualquier raza, habiendo una mayor predisposición por las razas pesadas (McCarthy y col 2001). Sin embargo, estudios han demostrado que los Fina Sangre de Carrera (FSC) tienen una mejor respuesta al tratamiento (Doxey y col 1998).
- **Otros équidos:** El “Grass sickness” ha sido reportado en un caballo Przewalski (forma aguda) y en una cebra (forma crónica) (Ashton y col 1977). También fue posteriormente reportada en ponis, burros (McCarthy y col 2001) y mulares (Muñoz y Paredes 1993).
- **Antihelmínticos:** Estudios preliminares muestran que la mayoría de los caballos que están bajo tratamiento antihelmíntico, son más susceptibles a enfermarse. La frecuente remoción de parásitos interfiere en la función intestinal, de cierta manera aumenta la absorción de neurotoxinas. Sin embargo, este descubrimiento necesita de mayores estudios para su confirmación (McCarthy y col 2001).

3.3. ETIOLOGÍA

La etiología de esta enfermedad aún es desconocida (Mair y col 2003). Las investigaciones actuales comprenden:

- Posible participación de plantas como: *Festuca argentina*, *Festuca pallenscens*, *Stipa speciosa* (Uzal y col 1996), trébol blanco (*Trifolium repens*) (McGorum y Anderson 2002), Trébol híbrido (*Trifolium hybridum*), Tormentil (*Potentilla maculatum*), Perifollo silvestre (*Chaerophyllum silvestre*), Perifollo áspero (*Chaerophyllum taenulum*) (McCarthy y col 2001).
- Toxinas bacterianas: *Clostridium botulinum* tipo C (Hunter y col 1999, Wood y col 1999, Collier y col 2001, Hunter y Poxton 2001, McCarthy y col 2004^b). *Clostridium perfringens* tipo A (Ochoa y Velandia 1978). *Clostridium novyi* tipo A (McCarthy y col 2004^b).
- Micotoxinas (Hunter y Poxton 2001): *Fusarium sp.*, hongos endófitos como *Penicillium sp.* (Uzal y col 1996, McCarthy y col 2001).
- Daño nervioso mediado por estrés oxidativo (McGorum y col 2000, McGorum y Anderson 2002, McGorum y col 2003^b).

3.4. SIGNOS CLÍNICOS

Esta enfermedad puede ocurrir en tres formas: aguda, subaguda y crónica. Las dos primeras son fatales, en la forma crónica puede haber recuperación si el tratamiento es adecuado (Doxey y col 1991^c).

En la forma aguda el inicio y progresión de los signos clínicos son rápidos y la muerte ocurre en menos de 48 horas, ya sea por una falla circulatoria o por ruptura gástrica. Los animales presentan: severa distensión del estómago e intestino delgado con presencia de fluido, impactación del colon mayor con contenido seco (Scholes y col 1993^b). Debido a este signo, la enfermedad en su forma aguda es también llamada “mal hinchado” en Argentina (Robles y col 1993). También se presenta depresión, somnolencia, íleo paralítico, taquicardia, salivación, reflujo nasogástrico, temblores musculares (especialmente en triceps y cuadriceps), sudoración principalmente en placas (hombros y flancos), disfagia, cólico (ocasional), ausencia de fecas a la palpación rectal (Edwards 1987). La ptosis y dilatación de las pupilas, ocurre en la mayoría de las veces en las 3 formas de la enfermedad, esto se debe a los cambios degenerativos en las neuronas del núcleo facial (séptimo par craneano), núcleo del oculomotor (tercer par craneano) y el ganglio cervical cranial (Obel 1955, Barlow 1969)

En la forma subaguda, los signos se desarrollan entre 2 a 7 días (Doxey y col. 1991^c). La signología es muy similar al curso agudo, pero con una menor intensidad. El reflujo nasogástrico es escaso, pero la impactación del colon se presenta con frecuencia. Lo más común es un leve recogimiento del abdomen con pérdida de peso (Mair y col 2003).

La forma crónica va desde los 7 días de iniciados los signos clínicos a meses (Doxey y col 1991^c, Milne 1997). Se caracteriza principalmente por un cuadro de emaciación, en el cual todos los signos clínicos presentes al inicio de la enfermedad se van agravando lenta y progresivamente. Se presenta encorvamiento del lomo, cabeza gacha, orejas caídas, expresión de ansiedad y malestar, envaramiento de los cuatro miembros, flancos hundidos que asemejan la figura de un “perro galgo”, ruidos nasales, fecas escasas y duras, oliguria, protrusión del pene, leve presencia de borborigmos intestinales, fecas escasas compactas y duras a la palpación rectal, sudoración en placas y temblores musculares (Robles y col 1993). Los sonidos nasales están asociados con la presencia de la rinitis seca, la cual es muy característica en la forma crónica. Esta alteración se cree que está asociada al daño neuronal que se produce en el núcleo facial (Barlow 1969). La disfagia se presenta por el daño en el núcleo dorsal del nervio vago y se cree que también el núcleo glossofaríngeo (novenno par craneano) estaría involucrado en el desarrollo de este signo (Barlow 1969). La muerte se produce por la caquexia, debilidad y marcada deshidratación, aunque la mayoría de estos casos son sacrificados antes de llegar al estado terminal (Edwards 1987).

3.5. LESIONES

- **Macroscópicas:** En los casos agudos y subagudos, se presenta erosión esofágica asociada con reflujo gástrico, distensión gástrica con líquido verde/pardo. El intestino delgado suele tener coloración normal, pero está distendido con líquido en toda su longitud. En algunos casos el colon está impactado con ingesta seca y dura, al desprender la pared del colon, queda un recubrimiento negro sobre la superficie de la ingesta impactada (Araya y col 2002). En la forma crónica la principal característica es la carencia de ingesta y una aparente contracción del tracto gastrointestinal con presencia de mucus en el intestino grueso. Sin embargo, algunos caballos con la forma crónica desarrollan una impactación del colon (Colaham y col 1999).
- **Microscópicas:** Las lesiones características se observan en múltiples ganglios autónomos como los craneales, cervicales, estrellado y celiaco-mesentérico, en los ganglios de la raíz dorsal, en núcleos específicos del tronco cerebral y en el asta ventral de la médula espinal (Mair y col 2003). Sin embargo, son consideradas como patognomónicas las lesiones degenerativas neuronales a nivel del ganglio celiaco-mesentérico (Howell y col 1974, Muñoz y Paredes 1993). El citoplasma de las neuronas se encuentra tumefacto, con coloración eosinofílica homogénea. Los cuerpos de Nissl están completamente o parcialmente perdidos. La mayoría de las neuronas degeneradas muestran contornos irregulares. Vacuolas citoplasmáticas son localizadas en el centro del citoplasma, el número y tamaño de las vacuolas es variable. También se observan núcleos picnóticos (Uzal y col 1992).

El examen histopatológico del ganglio celiaco-mesentérico muestra gran número de células con degeneración, encontrándose hinchadas y eosinofílicas. Los cuerpos de Nissl se encuentra en menor cantidad en el centro del citoplasma o ausente (Howell y col 1974). Con la pérdida de dichos cuerpos el citoplasma aumenta su coloración eosinofílica (Mahaffey 1959). La mayoría de las neuronas afectadas presentan finas vacuolas, dándole al citoplasma un aspecto “espumoso” y algunas neuronas presentan grandes vacuolas. Las células afectadas pueden presentar núcleos excéntricos a veces con nucléolos alargados, núcleos picnóticos o ausencia de éste. También se observa neurofagia y proliferación capsular en un pequeño número de neuronas. En algunas ocasiones el ganglio se encuentra infiltrado por linfocitos, principalmente cuando se presenta un proceso inflamatorio (Howell y col 1974). Un pigmento color café-amarillento se encuentra en el citoplasma de neuronas aparentemente sanas y afectadas, siendo positivo a la tinción de PAS (Uzal y col 1992).

3.6. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico se basa en la anamnesis, signos clínicos y exámenes complementarios. En el caso de la anamnesis es importante saber el tiempo de exposición a las praderas, época del año, curso de la enfermedad, tratamientos anteriores y desparasitaciones. En el caso de los

signos clínicos es posible sospechar de “Grass sickness” en caballos que presentan una rápida pérdida de peso, acompañada de disfagia, rinitis, cólico intermitente y sudoración. Es importante destacar que ningún signo clínico es patognomónico (Colaham y col 1999). Dentro de los exámenes complementarios están los antemortem, como radiografía de esófago contrastada con bario, para ver las erosiones lineales en la región caudal de este (porción torácica), la posible presencia de megaesófago y la evaluación de la motilidad, la cual se refleja al aumentar en “Grass sickness” el paso del bario al estómago (Greet y Whitwell 1987, King y col 1990). La biopsia ileal vía laparotomía es otra técnica diagnóstica para esta enfermedad, observándose severa pérdida y degeneración neuronal con ausencia de inflamación (Scholes y col 1993^a). El análisis de líquido peritoneal en animales con “Grass sickness”, muestra un incremento en las proteínas y en la fosfatasa alcalina (Milne y col 1990). El uso tópico de fenilefrina 10% (agonista α 1 adrenérgico) produce un aumento en el ángulo de la fisura palpebral en caballos que presentan ptosis (Hahn y Mayhew 2000). También se ha descrito que el uroanálisis presenta un alto peso específico de la orina, disminución del pH, aumento de las proteínas y creatinina, en los casos agudos se presenta marcado aumento de la glucosa (Fintl y col 2002). Estas técnicas pueden ser de gran ayuda a la hora de sospechar de “Grass sickness”, pero hay que tener en cuenta que ninguna es patognomónica. El único diagnóstico definitivo, es por las lesiones histopatológicas de los ganglios nerviosos autónomos en la necropsia (Uzal y col 1992, Doxey y col 1995^b).

3.7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La signología clínica de la forma aguda y subaguda de “Grass sickness”, se confunde fácilmente con un cólico agudo, principalmente porque en ambos hay dilatación gástrica u obstrucción intestinal. El reflujo nasogástrico que se produce en esta enfermedad, se puede confundir con una obstrucción esofágica, parálisis faríngea, afección de las bolsas gústrales, faringitis, úlceras esofágicas, íleo paralítico (Edwards 1987), botulismo (McGorum y col 2003^a). Temblores musculares, sudoración y el recogimiento abdominal, se pueden confundir entre otras con linfosarcoma intestinal, enfermedades hepáticas y tétanos (Edwards 1987). Otra enfermedad con la cual se debe diferenciar es con “equine motor neuron disease”, pero en esta última se describen lesiones oculares y una atrofia muscular neurogénica (Divers 1999).

3.8. TRATAMIENTO

En los casos agudos y subagudos los tratamientos no son efectivos (Doxey y col 1995^a). Para poder determinar que tipo de animal tiene la posibilidad de tener un tratamiento satisfactorio, se debe tomar en cuenta la severidad de los signos clínicos, ya que se considera que la probabilidad de sobrevivir es directamente proporcional con la severidad de estos (Milne y col 1994). Los cuidados de enfermería son un aspecto fundamental en el tratamiento de los caballos enfermos (Mair y col 2003). Los animales deben tener una cama blanda, estar en compañía de otros animales, caminatas diarias (Doxey y col 1995^c), alimentos altos en energía

y proteínas son esenciales para la recuperación. Estos cuidados pueden durar de semanas a meses, dependiendo de la evolución del animal (Doxey y col 1999).

Los principales tratamientos en base a agentes terapéuticos son: promotores de la motilidad como cisaprida (Milne y col 1994, Milne y col 1996, Doxey y col 1999), analgésicos (flumixin meglumine, fenilbutazona) y estimulantes del apetito como diazepam (Milne y col 1996). Es importante destacar que para que el tratamiento tenga efecto, se deben realizar todos estos tratamientos en conjunto, sin embargo el porcentaje de recuperación no excede el 50% (Doxey y col 1999).

3.9. PRONÓSTICO

El pronóstico en los casos agudos y subagudos es desfavorable, ya que el 90% de los animales muere dentro de 48 a 72 horas (Pogson y col 1992, Mair y col 2003). Los caballos pueden demorar 3 a 18 meses en recuperar su peso original. Los animales que se recuperan, ya sea de su forma aguda o crónica, tienen una baja posibilidad de tener la misma capacidad física, ya que un 35 % de ellos presentan secuelas de la enfermedad (Doxey y col 1999).

3.10. PREVENCIÓN

Aunque no existen métodos de prevención garantizados, la consideración de los factores de riesgo asociados permite tomar ciertas precauciones. Esto es fundamental en las áreas de peligro elevado durante primavera-verano (Mair y col 2003). Algunas precauciones comprenden:

- Alojarse a los animales recién llegados en establos durante un período de 2 meses antes de llevarlos a la pradera (Mair y col 2003).
- Evitar la alimentación en praderas en áreas con casos previos (McCarthy y col 2004^a).
- Alojarse a los caballos en establos en áreas de riesgo elevado si la semana previa fue fría y seca (Mair y col 2003).
- Evitar el pastoreo en suelos con alto contenido de nitrógeno (McCarthy y col 2004^a).
- Evitar el pastoreo en praderas alteradas por agentes químicos, físicos o biológicos (McCarthy y col 2004^a).

3.11. HIPÓTESIS

Los caballos faenados en el matadero de Galvarino presentan lesiones histológicas en el ganglio celíaco-mesentérico concordantes con “Mal seco”.

3.12. OBJETIVOS DEL TRABAJO

- Determinar las lesiones histológicas del ganglio celíaco-mesentérico, obtenido en caballos de matadero.
- Determinar que tipo de caballos son los afectados y en lo posible de que lugar geográfico provienen.

4. MATERIAL Y MÉTODO

4.1. MATERIAL

4.1.1. Material biológico

El material estuvo constituido por los ganglios celíacos-mesentéricos de 59 caballos (total de caballos faenados durante el período), obtenidos en los meses de enero y marzo de 2005 en el matadero de Galvarino, IX Región de Chile.

4.1.2. Material de disección

- Frascos de vidrio rotulados
- formalina al 10%
- Cuchillo
- Pinzas
- Guantes

4.2. MÉTODO

4.2.1. Ubicación del matadero

Este estudio se realizó en el matadero de Galvarino, ubicado a 50 km al noroeste de Temuco IX Región, ya que es uno de los pocos lugares donde se faenan equinos en el sur de Chile. Se optó por muestrear exclusivamente en este matadero, ya que se faena una mayor cantidad de caballos y de diversa procedencia.

4.2.2. Ubicación anatómica del ganglio celíaco-mesentérico

El ganglio celíaco-mesentérico está ubicado en la cavidad abdominal 20-25 cm caudal al diafragma. Se encuentra en la bifurcación de la cadena latero-vertebral del simpático al lado izquierdo del animal. Está ubicado entre la glándula adrenal y la arteria aorta abdominal, recubierto por tejido adiposo perirenal (Howell y col 1974). El tamaño del ganglio es proporcional con el tamaño del caballo. Su longitud es de 3 a 8 cm y su diámetro de 1 a 2 cm aproximadamente (Pogson y col 1992).

4.2.3. Obtención de las muestras

Para recolectar los ganglios se trabajó en la línea junto con el normal proceso del matadero. Se le pidió a la persona encargada de eviscerar que no retirara el tejido adiposo perirenal del lado izquierdo de los animales y que tuviera especial cuidado al momento de sacar el aparato gastrointestinal, con el fin de no remover el ganglio de su lugar. Luego que el animal era eviscerado, extraída la cabeza y seccionado por la mitad, se procedió a trabajar con la canal izquierda. Para la extracción el ganglio celíaco-mesentérico, se identificó la cadena latero-vertebral del simpático desde la cavidad torácica y se disecó hasta llegar a la zona perirenal, pasando por el diafragma. Posteriormente se realizó la extracción de todo el tejido adiposo perirenal incluyendo la glándula adrenal y la arteria aorta abdominal. Fuera de la línea de faena, en una tabla de disección se resecó el ganglio, siguiendo la cadena latero-vertebral del simpático y liberándolo del tejido adiposo para poder efectuar una adecuada fijación. Las muestras fueron conservadas en frascos de vidrio con formalina al 10%. El tiempo desde que los caballos eran beneficiados hasta que las muestras eran depositadas en los frascos, no superaba los 10 minutos. Estos frascos fueron rotulados con un número correlativo asignado para cada caballo y en una hoja aparte se tomaron los datos del animal.

4.2.4. Datos de los caballos

En una ficha anexa se registró la edad, sexo, raza y procedencia de cada caballo muestreado (Anexo 1). La raza y el sexo fueron determinados en el momento del desangrado. Las cabezas cortadas se encontraban en orden correlativo de beneficio, la edad fue determinada por cronometría dentaria (Reed y Bayly 1998) al final de la faena, para no interrumpir el proceso. Cada animal posee un número de feria que se encuentra en el anca o paleta y el matadero le asigna una letra, la cual es puesta al lado de la marca de feria, e indica el nombre de su propietario. Posteriormente con los datos de las marcas, se procedió a visitar las ferias respectivas y revisar los registros para poder determinar la procedencia de los caballos (Anexo 2). Habían animales que no presentaban marca de feria por lo cual no se sabe a ciencia cierta su procedencia. Lamentablemente, la información acerca de la procedencia de los caballos no es muy fidedigna, ya que todos los caballos muestreados provienen de ferias y muchas de estas no tienen datos sobre su anterior procedencia. No se conocen datos de anamnesis y signos clínicos, que hagan sospechar de alguna enfermedad, solamente se consideraron hallazgos postmortem.

4.2.5. Procesamiento de las muestras

Las muestras se procesaron en el Instituto de Patología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Austral de Chile. Las muestras fueron laminadas y procesadas en autotécnico a fin de ser deshidratadas e impregnadas en parafina. Finalmente fueron incluidas en parafina sólida, cortadas mediante micrótomo a 5-6 micras de grosor y teñidas con hemoxilina-eosina (Luna 1968). Además, con el fin de poder identificar el pigmento café-amarillento encontrado en el citoplasma de las neuronas, en algunas muestras se realizó tinción de Schmorl y AFIP (Luna 1968); ambas tinciones son específicas para el pigmento lipofucsina.

4.2.6. Interpretación de las muestras

Los cortes histológicos de los ganglios fueron observados a través de un microscopio óptico, registrándose cada hallazgo en un formato Excel (Anexo 3), diseñado en base a Mahaffey (1959) y Barlow (1969). Los hallazgos neuronales fueron semicuantificados subjetivamente (Cerdeira 2002), utilizando la siguiente escala:

N : Negativo
X : Leve ($\leq 30\%$)
XX : Moderado (30-70%)
XXX : Severo ($> 70\%$)

Los ganglios en los cuales se observaron hallazgos histopatológicos concordantes con “Mal seco”, fueron semicuantificados subjetivamente mediante observación microscópica de las células ganglionares, clasificando el daño en agudo o crónico (Pogson y col 1992).

5. RESULTADOS

5.1. HISTORIA CLÍNICA (Anexo 1)

Se muestreó un total de 59 caballos con un amplio rango de edad, que va de 1 a sobre 20 años. La mayor cantidad de animales corresponde al rango entre 15 y 20 años de edad (36%), le siguen con muy poca diferencia animales entre 8 y 14 años (34%). Lo que indica que la mayoría corresponden a caballos adultos. Por otra parte, la distribución con respecto al sexo de los animales muestreados fue muy homogénea, 30 machos y 29 hembras (Cuadro 1).

Cuadro 1: Estratificación de la edad y sexo de los 59 caballos muestreados.

Edad (años)	Nº Machos	Nº Hembras	Número y porcentaje
1 a 7	5	7	12 (20)
8 a 14	11	9	20 (34)
15 a 20	10	11	21 (36)
> 20	4	2	6 (10)
Total	30	29	59 (100)

Con respecto a la raza, el 89,80% (n = 53) de los caballos muestreados correspondió a Criollo chileno (C. chileno), el 5,10% (n = 3) a FSC, el 3,40% (n = 2) a Percherón y el 1,70% (n = 1) a mestizo.

El 95% de los caballos muestreados provenían de la IX Región y el 5% restante provienen de Los Ángeles en la VIII Región (Cuadro 2).

Cuadro 2: Número y porcentaje de caballos muestreados según su procedencia.

Procedencia	Número	Porcentaje
Freire	11	18
Imperial	10	17
Victoria	5	8
Cunco	4	7
Curarrehue	4	7
Lautaro	4	7
Lonquimay	4	7
Malalcahuello	4	7
Pitrufuén	4	7
Temuco	3	5
Villarrica	3	5
Los Angeles	3	5
Total	59	100

Con respecto a otros hallazgos, tres animales presentaron en el hígado nódulos parasitarios, dos hembras de 10 y 18 años respectivamente, y un macho de 11 años. La hembra de 10 años, provenía de Malalcahuello y los dos animales restantes eran de Freire, los tres animales eran de raza C. chileno. En una hembra de 7 años, C. chileno, se observó que el tejido conectivo, dentro del ganglio celíaco-mesentérico, presentaba una coloración irregularmente negra dentro. También se observó un macho C. chileno de 15 años con una neumonía abscedativa severa.

5.2. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS (Anexo 3)

5.2.1. Núcleos picnóticos

Un 75% (n = 44) de las muestras observadas, presentó leve picnosis nuclear, mientras que un 25 % (n =15) presentó moderada picnosis del núcleo. En ninguna de las muestras se observó picnosis severa (Cuadro 3).

Cuadro 3: Número y porcentaje de núcleos con picnosis de las 59 muestras observadas.

Núcleos picnóticos	Número	Porcentaje
Negativo	0	0
Leve	44	75
Moderado	15	25
Severo	0	0
Total	59	100

5.2.2. Vacuolas

En el 76% (n = 45) de las muestras se observó leve presencia de vacuolas en el citoplasma neuronal. El 8% (n = 5) de las muestras evidenció moderada vacuolización de las neuronas. Una muestra, que corresponde al 2 % del total, presentó un elevado número de vacuolas en el citoplasma (más del 70 % de las neuronas ganglionares) (Cuadro 4).

Cuadro 4: Número y porcentaje de ganglios, clasificados según grado de vacuolización citoplasmática neuronal en los 59 caballos muestreados.

Vacuolas	Número	Porcentaje
Negativo	8	14
Leve	45	76
Moderado	5	8
Severo	1	2
Total	59	100

5.2.3. Células cromatófilas

Con relación a las células cromatófilas, en el 56% (n = 33) de las muestras se observó leve cromatólisis de sus neuronas. El 39% (n = 23) de las muestras evidenció moderada cromatólisis. En dos muestras (3%) se encontró una severa cromatólisis neuronal (Cuadro 5).

Cuadro 5: Número y porcentaje de ganglios, clasificados según grado de cromatólisis neuronal en los 59 caballos muestreados.

Células cromatófilas	Número	Porcentaje
Negativo	1	2
Leve	33	56
Moderado	23	39
Severo	2	3
Total	59	100

5.2.4. Pérdida de los cuerpos de Nissl

En el 98% de las muestras observadas, se apreció pérdida de los cuerpos de Nissl en distintos grados. El 78% (n = 46) presentó una pérdida leve. El 18% (n = 11) tuvo una pérdida moderada. El 2% (n = 1) evidenció un pérdida severa de los cuerpos de Nissl en la mayoría de las neuronas (Cuadro 6).

Cuadro 6: Número y porcentaje de ganglios, clasificados según grado de pérdida de los cuerpos de Nissl en los 59 caballos muestreados.

Pérdida de los cuerpos de Nissl	Número	Porcentaje
Negativo	1	2
Leve	46	78
Moderado	11	18
Severo	1	2
Total	59	100

5.2.5. Pigmento café-amarillento

Para identificar el pigmento que se encontraba en el interior del citoplasma de las neuronas, se realizaron dos tinciones: Schmorl y AFIP, que son específicas para lipofucsina. Ambas tinciones resultaron positivas, observándose el pigmento de color azul en la tinción de Schmorl y rojo en la tinción de AFIP.

En el cuadro 7 se observa que el 88% (n = 52) de las muestras presentó el pigmento lipofucsina a nivel citoplasmático en diferentes grados: leve 51% (n =30), moderado 23% (n = 14) y severo 14% (n = 8).

Cuadro 7: Número y porcentaje de ganglios, clasificados según grado de pigmento lipofucsina en los 59 caballos muestreados.

Lipofucsina	Número	Porcentaje
Negativo	7	12
Leve	30	51
Moderado	14	23
Severo	8	14
Total	59	100

5.2.6. Infiltrado linfocitario

El 95% (n = 56) de los ganglios presentó infiltración linfocitaria en grado leve, en el 5% restante (n = 3) no se observó dicho infiltrado.

5.2.7. Neurofagia

El 81% (n = 48) de los ganglios presentó leve neurofagia celular, mientras que en el 29% (n = 11) restante no se observó dicha alteración.

5.3. HISTORIA CLÍNICA DE LOS CABALLOS CON GANGLIOS AFECTADOS

Según el análisis histopatológico de los 59 ganglios estudiados, el 80% de estos, presentó la histología normal del ganglio celíaco-mesentérico (Banks 1995) (Figura 1 y 2) y sólo se encontró daño neuronal en el 20% (n = 12) de las muestras ganglionares (Anexo 3). Además, en uno de los ganglios afectados se encontró un melanoma en forma concomitante, interpretándose el compromiso neuronal como secuela de la neoplasia, por tal razón, este ganglio no se incorpora en los siguientes resultados. Al respecto, en el cuadro 8 se presentan los datos clínicos de cada uno de los caballos con el daño neuronal diagnosticado en el ganglio celíaco-mesentérico. El promedio de edad de los caballos con daño ganglionar compatible con “Mal seco” fue de 9,7 años.

Cuadro 8: Datos clínicos de los 12 caballos con daño ganglionar.

N°	Edad (años)	Sexo	Raza	Procedencia
1	2	M	C. chileno	Lonquimay
2	6	H	C. chileno	Lonquimay
3	13	M	C. chileno	Pitrufulquén
4	15	H	Percherón	Curarrehue
5	9	H	C. chileno	Freire
6	4	H	C. chileno	Cunco
7	<2	M	C. chileno	Los Angeles
8	18	M	C. chileno	Villarrica
9	10	M	C. chileno	Temuco
10	20	H	C. chileno	Temuco
11	8	H	FSC	Victoria

M: Macho; H: Hembra; C. chileno: Criollo chileno; FSC: Fina Sangre de Carrera.

En el cuadro 9 se observa que el 36,40% (n = 4) de cada uno de los dos primeros rangos de edad de los caballos afectados, corresponde a 2 hembras y 2 machos. El 27,20% restante de los animales (n = 3), se encuentra en el rango de 15 a 20 años, con 1 macho y 2 hembras. No se observaron cambios histopatológicos ganglionares en caballos mayores de 20 años.

Cuadro 9: Estratificación de la edad y sexo de los 11 caballos con daño ganglionar compatible con “Mal seco”.

Edad (años)	N° Machos	N° Hembras	Número y porcentaje
1 a 7	2	2	4 (36,40)
8 a 14	2	2	4 (36,40)
15 a 20	1	2	3 (27,20)
> 20	0	0	0
Total	5	6	11 (100)

El 82% (n = 9) de los caballos afectados correspondió a la raza C. chileno. Por otra parte, tanto la raza FSC como Percherón presentaron cada una un 9% (n = 1) de animales con daño ganglionar (Cuadro 10).

Cuadro 10: Número y porcentaje de caballos con daño ganglionar compatible con “Mal seco”, clasificados según raza.

Raza	N° afectados	% afectados
C. chileno	9	82
FSC	1	9
Percherón	1	9
Total	11	100

C. chileno: Criollo chileno; FSC: Fina Sangre de Carrera.

Los 11 caballos afectados provienen de los sectores geográficos nombrados en el cuadro 11, clasificados de acuerdo al Instituto Geográfico Militar de Chile (1994). En el sector cordillerano, el 18,15% (n = 2) de los animales proviene de Lonquimay. Sólo un animal proviene de cada uno de los lugares restantes del sector cordillerano, correspondiendo cada uno de ellos al 9,1% del total de afectados. En el sector intermedio, el 18,15% (n = 2) de los animales es proveniente de la ciudad de Temuco. Sólo un animal proviene de cada uno de los lugares del sector intermedio (cada uno con 9,10% del total de afectados). En total, el 36,35% (n = 4) de los animales provienen del sector cordillerano y el 63,65% (n = 7) restante, son provenientes del sector intermedio.

Cuadro 11: Número y porcentaje de caballos con daño ganglionar compatible con “Mal seco”, clasificados según área geográfica de procedencia.

Sector cordillerano	N° (%)	Sector intermedio	N° (%)
Lonquimay	2 (18,15)	Temuco	2 (18,15)
Curarrehue	1 (9,10)	Cunco	1 (9,10)
Villarrica	1 (9,10)	Freire	1 (9,10)
		Los Ángeles	1 (9,10)
		Pitrufoquén	1 (9,10)
		Victoria	1 (9,10)
Total	4 (36,35)	Total	7 (63,65)

5.4. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS DE LOS GANGLIOS AFECTADOS (Anexo 4)

5.4.1. Núcleos picnóticos

Los 11 ganglios, en los cuales se encontró daño de las células neuronales, presentaron una moderada picnosis nuclear (Figura 3, 6, 7 y 8).

5.4.2. Vacuolas

En el cuadro 12 se observa que el 64 % (n = 7) de los ganglios afectados presentó leve vacuolización neuronal. Por otra parte, en el 27% (n = 3) de ellos se encontró moderada presencia de vacuolas citoplasmáticas y sólo un ganglio (9%) presentó severa vacuolización (Figura 4 y 6).

Cuadro 12: Número y porcentaje de ganglios con daño compatible con “Mal seco”, clasificados según grado de vacuolización citoplasmática neuronal.

Vacuolas	Número	Porcentaje
Leve	7	64
Moderado	3	27
Severo	1	9
Total	11	100

5.4.3. Células cromatófilas

Un 9% (n = 1) de los ganglios afectados presentó leve cromatólisis neuronal. En el 73% (n = 8) de ellos se observó moderada cromatólisis. Sólo el 18% (n = 2) de los ganglios evidenció severa cromatólisis neuronal (Cuadro 13) (Figura 3, 5 y 8).

Cuadro 13: Número y porcentaje de ganglios con daño compatible con “Mal seco”, clasificados según grado de cromatólisis neuronal.

Células cromatófilas	Número	Porcentaje
Leve	1	9
Moderado	8	73
Severo	2	18
Total	11	100

5.4.4. Pérdida de los cuerpos de Nissl

En el cuadro 14 se observa que el 91% (n = 10) de los ganglios afectados, presenta moderada pérdida de los cuerpos de Nissl, mientras que en sólo el 9% (n = 1) de estos se observa severa pérdida de los mismos (Figura 5 y 7).

Cuadro 14: Número y porcentaje de ganglios con daño compatible con “Mal seco”, clasificados según grado de pérdida de los cuerpos de Nissl.

Pérdida de los cuerpos de Nissl	Número	Porcentaje
Moderado	10	91
Severo	1	9
Total	11	100

5.4.5. Lipofucsina

El 36,30% (n = 4) de los ganglios afectados presentó leve cantidad de lipofucsina en el citoplasma celular. Una cantidad moderada del pigmento se observó en el 27,30% (n = 3) y sólo el 9,10% (n = 1) de las muestra evidenció severa presencia de lipofucsina. Cabe destacar que en el 27,30% (n = 3) de los ganglios, no se encontró la presencia del pigmento (Cuadro 15) (Figura 6).

Cuadro 15: Número y porcentaje de ganglios con daño compatible con “Mal seco”, clasificados según la cantidad de lipofucsina en cada uno de ellos.

Lipofucsina	Número	Porcentaje
Negativo	3	27,30
Leve	4	36,30
Moderado	3	27,30
Severo	1	9,10
Total	11	100

5.4.6. Infiltrado linfocitario

El 100% (n = 11) de los ganglios afectados, presentó leve infiltrado linfocitario.

5.4.7. Neurofagia

En la totalidad de los ganglios afectados, se observó leve neurofagia de las células ganglionares (Figura 7).

5.4.8. Curso de la enfermedad (Anexo 5)

El 77,70% (n = 8) de los ganglios afectados presentó daño concordante con “Mal seco” en su forma aguda (Figura 3) y por otra parte, el 27,30% (n = 3) de las muestras evidenció lesiones concordantes con la forma crónica de “Mal seco” (Cuadro 16) (Figura 8).

Cuadro 16: Número y porcentaje de ganglios con daño concordante con “Mal seco”, clasificados según daño agudo o crónico.

Curso del cuadro	Número	Porcentaje
Agudo	8	77,70
Crónico	3	27,30
Total	11	100



Figura 1: Ganglio celíaco-mesentérico sin alteración (muestra 102-05, macho, FSC, 11 años). Obsérvese la presencia de neuronas ganglionares normales (→) y vasos sanguíneos presentes en el tejido conectivo (→). Hematoxilina-eosina 10x.

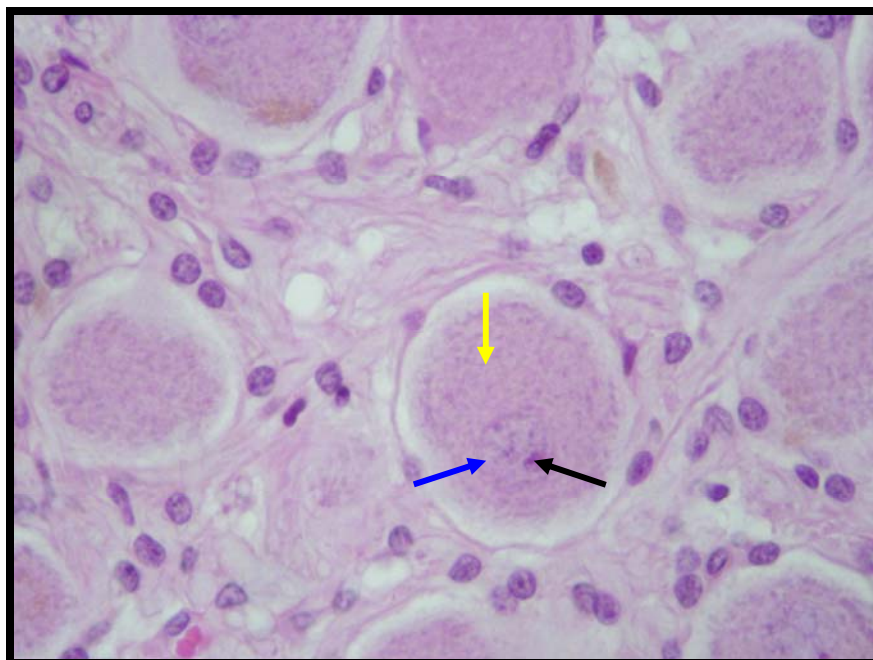


Figura 2: Ganglio celíaco-mesentérico sin alteración (muestra 91-05, C. Chileno, macho, 6 años). Se observan células ganglionares normales con núcleo (→), nucléolo (→) y sustancia de Nissl (→). Hematoxilina-eosina 40x.

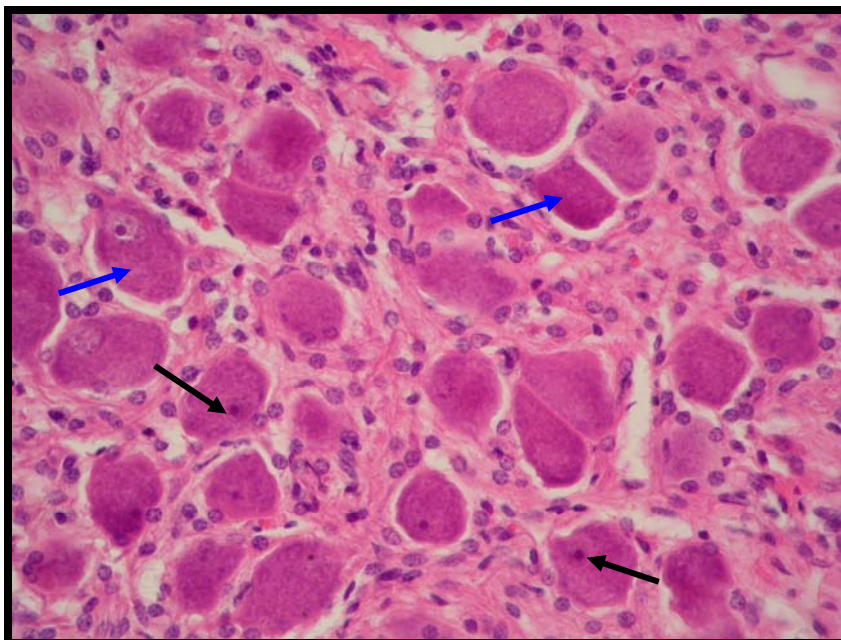


Figura 3: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” en su forma aguda (muestra 167-05, C. Chileno, macho, 2 años). Obsérvese la marcada cromatólisis de las células neuronales (→) y picnosis nuclear (→). Hematoxilina-eosina 40x.

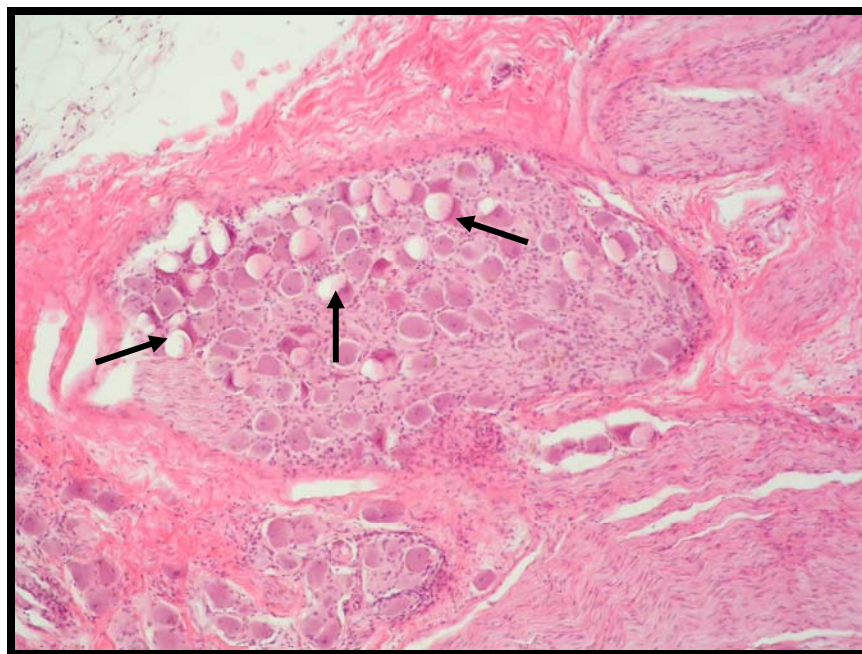


Figura 4: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” (muestra 155-05, Percherón, hembra, 15 años). Severa vacuolización neuronal (→). Hematoxilina-eosina 10x.

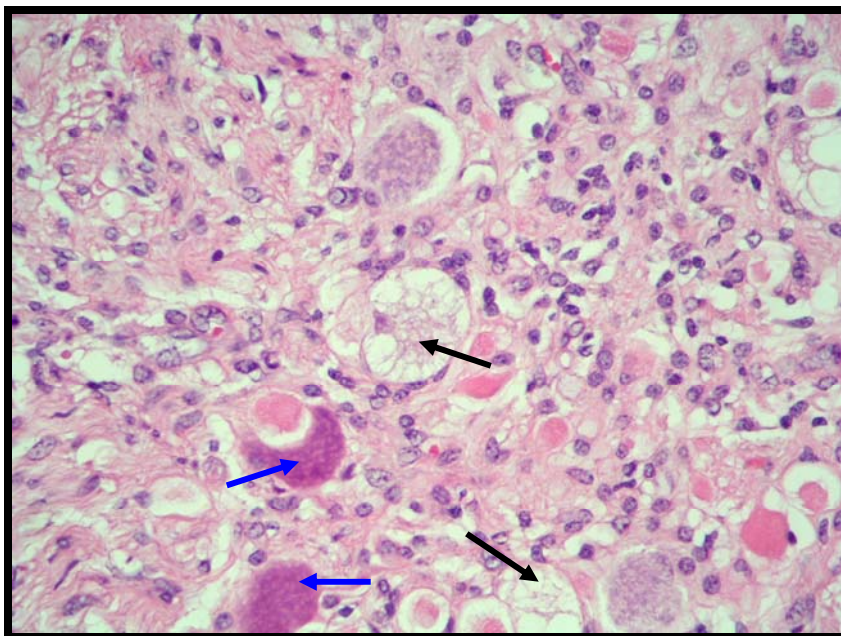


Figura 5: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” (muestra 151-05, C. Chileno, hembra, 6 años). Pérdida de la sustancia de Nissl (→) y cromatólisis neuronal (→). Hematoxilina-eosina 40x.

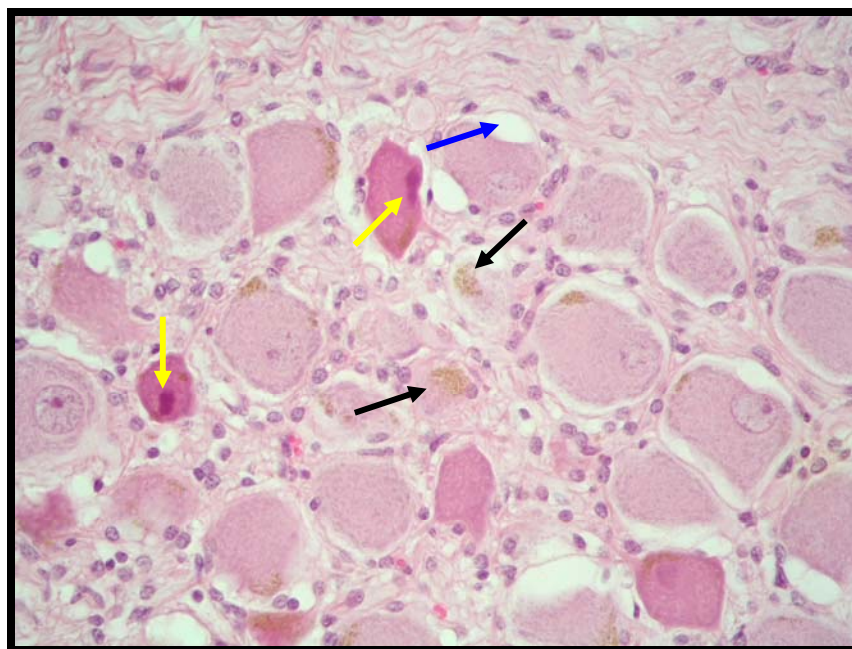


Figura 6: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” (muestra 152-05, C. Chileno, macho, 13 años). Obsérvese la presencia de lipofuscina (→), picnosis nuclear (→) y vacuolización citoplasmática (→). Hematoxilina-eosina 40x.

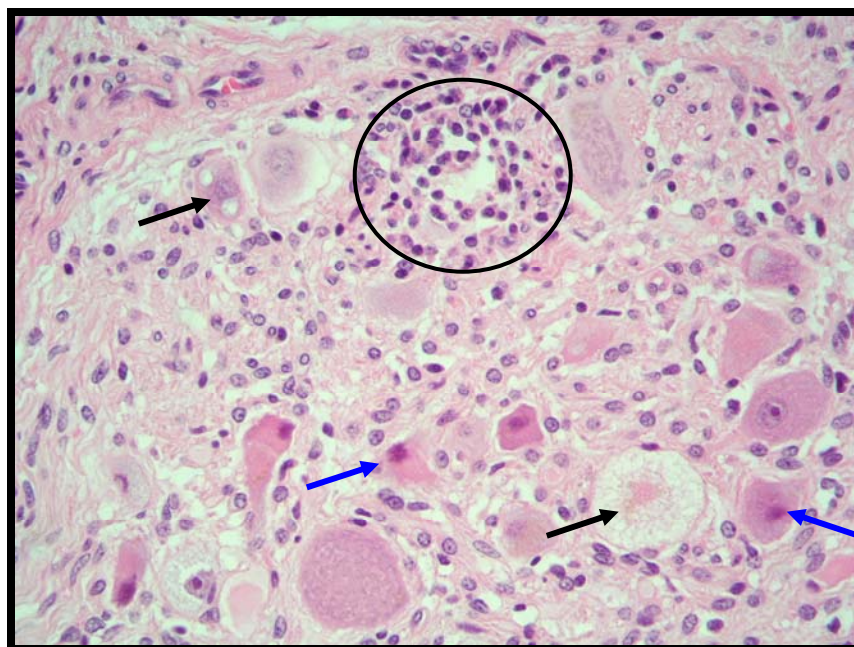


Figura 7: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” (muestra 151-05, C. Chileno, hembra, 6 años.). Obsérvese la presencia de neurofagia (○), pérdida de la sustancia de Nissl (→) y núcleos picnóticos (→). Hematoxilina-eosina 40x.

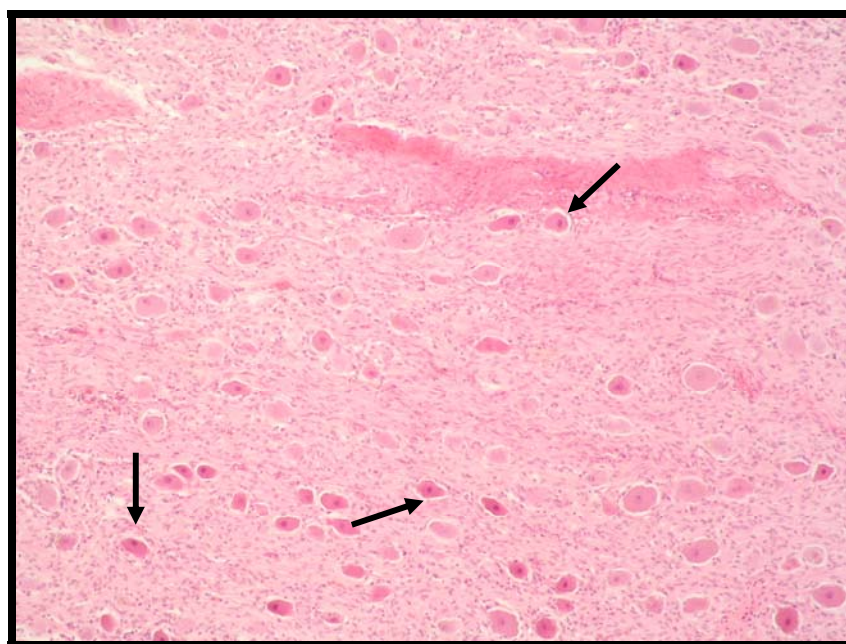


Figura 8: Ganglio celiaco-mesentérico concordante con “Mal seco” en su forma crónica (muestra 159-05, C. Chileno, hembra, 9 años). Obsérvese la escasa presencia de neuronas ganglionares, la mayoría de las cuales presenta cromatólisis neuronal y picnosis nuclear (→). Hematoxilina-eosina 10x.

6. DISCUSIÓN

6.1. CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN EN ESTUDIO

6.1.1. Edad

El mayor porcentaje de caballos afectados (72,80%), está constituido por los rangos 1 a 7 y 8 a 14 años (cuadro 9), lo cual corresponde a caballos adultos jóvenes. Esto es concordante con lo descrito por diferentes autores (Gilmour y Jolly 1974, Colaham y col 1999, McCarthy y col 2001, McGorum y col 2003^a), quienes afirman que si bien los caballos de cualquier edad son susceptibles a enfermar, esta patología es predominante en adultos jóvenes, de tal forma que a medida que aumenta el rango etario, menor es el número de caballos afectados, lo cual concuerda con lo observado en la presente investigación.

6.1.2. Sexo

En general, la población estudiada (59 caballos) fue muy homogénea con respecto al sexo. Es así como Gilmour (1987), Doxey y col (1991^a), Mair y col (2003) y Hedderson y Newton (2004) señalan que el sexo de los animales no tiene incidencia sobre la presentación de la enfermedad, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio. No obstante, se debe convenir que el número de caballos examinados fue bajo y por otro lado corresponde a una población aparentemente sana.

6.1.3. Raza

El 89,80% (n = 53) de los caballos muestreados fueron de raza C. chileno, lo que representa el mayor porcentaje de caballos faenados en la zona (Curillan, 2005*), esto queda de manifiesto con el 82% (n = 9) de los caballos de raza C. chileno que presentaron lesiones concordantes con “Mal seco”. De las otras razas muestreadas, 2 animales fueron Percherones, de los cuales uno tenía lesiones histopatológicas en el ganglio celiaco-mesentérico, lo cual coincide con lo descrito por Gilmour y Jolly (1974), Edwards (1987) y McCarthy y col (2001), quienes señalan que las razas pesadas tienen una mayor predisposición a enfermar, sin embargo, no existe una relación comprobada entre la raza del animal y la presentación de la enfermedad.

* Dra: Miriam Curillan, Matadero Galvarino, comunicación personal.

6.1.4. Procedencia y época del año

La mayoría de los animales muestreados, tienen como procedencia Freire e Imperial, en cuyas ferias se remata una mayor cantidad de caballos, siendo su principal destino los mataderos de Imperial y Galvarino, los más importantes faenadores de caballos en la IX Región. Es importante destacar, que si bien la mayoría de los animales proviene de Imperial y Freire, sólo uno de los caballos afectados proviene de uno de estos lugares. Los 11 caballos afectados provienen del sector intermedio (63,65%) y cordillerano (36,35%); sin embargo, es importante destacar, que no se pudo determinar la trazabilidad de estos caballos, lo cual hace difícil asociar la procedencia con los hallazgos histopatológicos.

Con respecto a la época del año, Gilmour (1987), Doxey y col (1991^b), Robles y col (1993), McCarthy y col (2001) y Mair y col (2003), señalan que la mayoría de los casos se presentan en primavera-verano, al respecto, las muestras para el presente estudio fueron obtenidas durante el verano de 2005. Por otra parte, los autores antes citados señalan que la mayoría de los casos de “Mal seco” y “Grass sickness” se presentan en zonas donde las noches son frías, seguido de altas temperaturas y días secos, características climáticas coincidentes con aquellas de la procedencia de los animales (Cuadro 11), tanto del sector cordillerano, como del sector intermedio, dada la cercanía que tiene con la zona cordillerana.

6.1.5. Hallazgos macroscópicos

De los 12 caballos que presentaron daño microscópico ganglionar, sólo uno de ellos evidenció lesiones macroscópicas, correspondiendo a una hembra tordilla de 7 años de edad, de raza C. chileno, proveniente de Malalcahuello. Al extraer el ganglio celíaco-mesentérico, se observó que el tejido conectivo presentaba una coloración irregularmente negra, la cual se irradiaba a la superficie de corte del ganglio. Microscópicamente se observó infiltración melanocítica, comprometiendo al tejido conectivo y ganglionar, lo que concuerda con lo descrito por Moulton (1990), para el melanoma. Esta neoplasia tiene su origen en la piel y mediante metástasis alcanzó al ganglio celíaco-mesentérico, atribuyéndose las alteraciones ganglionares a la presencia del melanoma (Anexo 4).

6.2. HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS GANGLIONARES CONCORDANTES CON “MAL SECO”

6.2.1. Núcleos picnóticos

La picnosis nuclear es un indicador de necrosis celular. Se caracteriza por presentar una constricción del ADN, convirtiéndose en una masa basófila encogida y sólida, la cual se desplaza hacia la periferia del citoplasma de la célula (Cotran y col 1995). De las 59 muestras observadas inicialmente, 44 (75%) de ellas presentaron picnosis leve, lo cual según Jubb y col (1992) se considera como normal, ya que siempre hay un pequeño porcentaje de neuronas que mueren en forma natural. Del total de las muestras, en sólo 15 (25%) se observó una picnosis

moderada. De estas 15 muestras, 11 de ellas se consideran sospechosas de “Mal seco”. Según Howell y col (1974), cuando alrededor del 50% de las neuronas presentan picnosis nuclear se considera indicativo de daño degenerativo, el cual es inespecífico. Se debe identificar en las muestras otros cambios histopatológicos que hagan sospechar de “Mal seco”. La picnosis observada en las otras 4 muestras, puede deberse a otras alteraciones de las cuales no se tiene conocimiento.

6.2.2. Vacuolas

La vacuolización es una de las primeras manifestaciones de lesión celular, la cual puede ser reversible o evolucionar a necrosis celular (Cotran y col 1995). Este proceso degenerativo tiene varias causas, una de ellas es la dilatación del RER, en la cual la célula pierde la capacidad de transportar proteínas. Otra causa de vacuolización, se relaciona con falla de la enzima lisosomal, lo cual resulta en la acumulación de productos degradados, produciendo una distensión del organelo (Jones y col 1997).

En todos los ganglios con daño compatible con “Mal seco” se presentó vacuolización neuronal. En el 27% (n = 3) de ellos se encontró moderada presencia de vacuolas citoplasmáticas y sólo un ganglio (9%) presentó severa vacuolización (Cuadro 12). Estas muestras se consideran como sospechosas, ya que reúnen otros cambios degenerativos. Según Jubb y col (1992), se considera normal encontrar un cierto número de vacuolas, principalmente en núcleos cerebrales y en algunos ganglios periféricos, lo cual concuerda con lo observado, en el sentido que el 86% de todos los ganglios examinados evidenció algún grado de vacuolización (Cuadro 4). Además, es importante destacar que algunas vacuolas se pueden confundir con artefactos que se producen durante el procesamiento de las muestras (Jubb y col 1992), sin embargo, el proceso de vacuolización no se produce como un cambio postmortem, sólo se produce como un cambio degenerativo en el animal in vivo (Jones y col 1997). Sólo una muestra la cual corresponde al 2% del total y al 9% de los ganglios afectados, presentó una severa vacuolización neuronal. En este ganglio se observó, junto con la presencia de vacuolas, una serie de cambios que lo hacen sin duda sospechoso de la enfermedad. Según Howell y col (1974), el cambio más notable observado en el ganglio celiaco-mesentérico de caballos con “Grass sickness”, es la vacuolización del citoplasma neuronal, hallazgo que se observa con frecuencia, el cual no se puede tomar por sí solo como específico de la enfermedad.

Las vacuolas observadas fueron variables en tamaño. En todos los ganglios afectados se encontraban vacuolas pequeñas y de gran tamaño en similar proporción. Las vacuolas pequeñas le daban al citoplasma un aspecto “espumoso”, mientras que las vacuolas de gran tamaño ocupaban casi la totalidad del citoplasma, asemejándose a una gran gota de agua, todo lo cual concuerda con lo descrito por Mahaffey (1959), Barlow (1969), Gilmour (1973), Pogson y col (1992) y Uzal y col (1992). La muestra en la cual se observó una severa vacuolización, se caracterizó por presentar principalmente grandes vacuolas, lo cual le daba un aspecto reticulado al observarla con bajo aumento.

6.2.3. Cromatólisis

La cromatólisis es el cambio en la coloración y apariencia del soma neuronal, a causa de la dispersión del RER (sustancia de Nissl) (Jubb y col 1992). Esto se produce como respuesta a una injuria axonal inespecífica, no siendo patognomónica de “Mal seco”. Morfológicamente consiste en un aumento del cuerpo celular, adquiriendo forma redondeada, con desplazamiento periférico del núcleo, agrandamiento del nucléolo y dispersión de los cuerpos de Nissl, en especial en el centro de la célula, por lo cual el citoplasma adquiere una coloración basófila. Estos cambios se distinguen mejor con la tinción de cresyl violeta que con hematoxilina eosina (Cotran y col 1995).

En casos de “Grass sickness”, el ganglio celiaco-mesentérico presenta un porcentaje menor de neuronas cromatófilas que el ganglio estrellado o el cervical. El proceso de cromatólisis se desencadena en menos de 24 horas y puede durar hasta 3 semanas, posterior a esto se produce una reparación del axón, con lo cual el soma neuronal vuelve a su normalidad, sin embargo, bajo ciertas circunstancias la cromatólisis puede evolucionar a muerte neuronal, seguido de disolución de la neurona (Jubb y col 1992).

Los resultados obtenidos indican que del total de ganglios examinados, sólo en uno no se observó la presencia de cromatólisis neuronal. El 91% de los ganglios considerados afectados presentaron cromatólisis moderada a severa, lo cual es un significativo indicador de injuria neuronal (Jubb y col 1992).

6.2.4. Pérdida de los cuerpos de Nissl

En una neurona normal la apariencia de los cuerpos de Nissl es marcadamente granular. Su coloración levemente basófila le da al citoplasma un aspecto atigrado, recibiendo el nombre de “sustancia tigroide”. Cuando la neurona sufre una injuria, los gránulos de los cuerpos de Nissl (RER) comienzan a dispersarse, desapareciendo completamente en pocas horas, primero lo hacen centralmente (cromatólisis central) y luego completamente, adquiriendo el citoplasma una coloración marcadamente basófila. Junto con la pérdida de estos cuerpos, el núcleo tiende a hincharse y adquiere una posición excéntrica, también se produce un alargamiento del nucléolo, produciéndose así la picnosis nuclear. Posteriormente el núcleo sufre una cariorrexis, en la cual se fragmenta y desaparece totalmente, dándole a la neurona un aspecto vacío. Todo esto culmina con la muerte y total desaparición de la neurona (Jones y col 1997).

La pérdida de los cuerpos de Nissl es un indicador de necrosis neuronal, si bien esta alteración es la continuación de la cromatólisis, no significa que todas las células cromatófilas desarrollen una pérdida de los cuerpos de Nissl, ya que como se dijo anteriormente la cromatólisis es un proceso reversible (Jubb y col 1992). Lo anterior concuerda con los resultados obtenidos, en el sentido que dos muestras con severa cromatólisis, presentaron moderada pérdida de los cuerpos de Nissl (Anexo 4).

Es importante mencionar que el 91% de los ganglios afectados, presentó una moderada pérdida de los cuerpos de Nissl. Al respecto, según Mahaffey (1959), sobre un 50% de pérdida

de los cuerpos es indicador de una severa necrosis ganglionar. En sólo una muestra de los ganglios afectados, se observó severa pérdida de los cuerpos de Nissl con cromatólisis moderada, esto se debería a que frente a la pérdida de los cuerpos de Nissl el citoplasma se torna eosinófilo.

6.2.5. Lipofucsina

La lipofucsina es un pigmento endógeno, proveniente de la peroxidación lipídica de los lípidos poliinsaturados de las membranas intracelulares. Es un pigmento insoluble de color marrón (*fucus* = marrón). La lipofucsina no es dañina para las células o sus funciones, su importancia reside en ser el signo revelador de la lesión por radicales libres y la peroxidación lipídica. La presencia elevada de este pigmento se da principalmente en animales caquéticos o con atrofia senil, sin embargo se ha visto presencia de lipofucsina en animales totalmente sanos (Jones y col 1997).

En el 88% del total de ganglios examinados (72,70% de los ganglios afectados), se observaron gránulos de coloración café-amarillenta en el citoplasma neuronal cerca de la membrana nuclear, esta observación concuerda con la descrita por Uzal y col (1992) y Jones y col (1997), quienes sin embargo no identifican al pigmento. En este trabajo el pigmento fue identificado como lipofucsina mediante tinción de Schmorl y AFIP.

Jones y col (1997) postulan que la presencia y cantidad del pigmento va en directa proporción con el daño de las neuronas, así como con la edad, lo que no concuerda con los resultados de esta investigación. Paradojalmente, en algunos ganglios que presentaban severa lesión neuronal, no se encontró la presencia de lipofucsina y por otro lado, otros ganglios afectados presentaban este pigmento (Anexo 4). Con respecto a la edad tampoco hay concordancia, ya que se encontró una leve cantidad de pigmento tanto en caballos jóvenes como viejos, lo mismo se observó en el caso de la presencia moderada y elevada de este. Al respecto, se hace necesario realizar estudios futuros para poder conocer el significado de la presencia de este pigmento en los animales con “Mal seco”, ya que ningún autor especifica cual es su función, incluso algunos (Gilmour 1973, Howell y col 1974, Pogson y col 1992), no describen la presencia de este pigmento en las publicaciones referentes a “Grass sickness”.

6.2.6. Infiltrado linfocitario

El 95% del total de ganglios examinados (100% de los afectados), presentaron una leve infiltración linfocitaria. La presencia de linfocitos no es un patrón seguro en los hallazgos histológicos de esta enfermedad. Al respecto, Howell y col (1974) y Uzal y col (1992), describen la presencia de linfocitos en la mayoría de los caballos afectados con “Grass sickness” y “Mal seco”, sin embargo, este infiltrado es poco pronunciado, lo cual concuerda con lo observado en este trabajo, ya que ningún ganglio afectado presentó una infiltración linfocitaria importante. Otros autores como Barlow (1969) y Pogson y col (1992), no describen la presencia de linfocitos en sus trabajos.

6.2.7. Neurofagia

Neurofagia se denomina a la acumulación de macrófagos alrededor de zonas de neuronas muertas (Cotran y col 1995). Cuando las neuronas se encuentran en la última fase de la necrosis, son rodeadas por macrófagos derivados de la microglia y por algunos monocitos provenientes de los vasos sanguíneos aledaños (Jones y col 1997).

El 81% del total de ganglios examinados (100% de los afectados), presentaron una leve neurofagia, observándose principalmente células de la microglia y algunos monocitos, no se encontró presencia de neutrófilos, lo que concuerda con lo descrito por Howell y col (1974), Gilmour (1987) y Uzal y col (1992). Según lo descrito por Cotran y col (1995), es habitual encontrar focos de neurofagia en ganglios normales, ya que es un mecanismo de eliminación natural de neuronas muertas en forma fisiológica.

6.2.8. Curso de la enfermedad

De acuerdo a los hallazgos histopatológicos observados en los ganglios celíaco-mesentéricos, se encontraron lesiones concordantes con “Mal seco” en 11 animales (19%), por otra parte, si bien no era el objetivo de esta investigación determinar el curso de la enfermedad, según la experiencia adquirida se pudo establecer que el 77,70% (n = 8) corresponde a cuadros agudos y que el 22,30% (n = 3) corresponde a cuadros de tipo crónico de la enfermedad, sin embargo, no se dispuso de antecedentes sobre probable signología clínica de los animales.

Tomando en consideración que las lesiones histológicas de los ganglios autónomos son patognomónicas de la enfermedad, así como lo reportado por Araya y col (2002), se puede afirmar que las lesiones observadas en esta investigación en caballos provenientes de la VIII y IX Región, son concordantes con “Mal seco”. Por otra parte, las lesiones encontradas son muy similares a las de “Grass sickness”, enfermedad presente en Europa. Sin embargo, se necesitará de mayores investigaciones para comprobar si realmente ambas son la misma enfermedad.

CONCLUSIONES

- El 19% de los ganglios presentó lesiones concordantes con “Mal seco”. Los principales hallazgos histopatológicos fueron: moderada picnosis, moderada a severa pérdida de los cuerpos de Nissl, moderada a severa cromatólisis neuronal, presencia de lipofucsina en diferente cantidad, moderada a severa vacuolización citoplasmática neuronal, además, en la totalidad de las muestras afectadas se presentó leve linfocitosis y neurofagia de las células ganglionares.
- El 72,80% de los caballos afectados, tenía entre 1 y 14 años de edad, afectándose casi por igual machos (n = 5) y hembras (n = 6).
- El 36,35% de los animales afectados provienen del sector cordillerano y el 63,65% son provenientes de sector intermedio de las regiones VIII y IX.
- El 77,70% de los ganglios afectados evidencian daño concordante con “Mal seco” en su forma aguda y el 27,30% en su forma crónica.
- Un ganglio celíaco-mesentérico presentó lesiones histopatológicas atribuibles a la presencia de un melanoma.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Araya O, L Vits, E Paredes, R Ildefonso. 2002. Grass sickness in horses in southern Chile. *Vet Rec* 150, 695-697.
- Ashton DG, DM Jones, JS Gilmour. 1977. Grass sickness in two non-domestic equines. *Vet Rec* 100, 406-407.
- Banks WJ. 1995. *Histología veterinaria aplicada*. 2ª edición. Pp 365-376. El manual moderno, México DF.
- Barlow RM. 1969. Neuropathological observations in grass sickness of horses. *J Comp Path* 79, 407-411.
- Brownlee A. 1992. "Mal seco" and grass sickness. *Vet Rec* 131, 180.
- Cerda C. 2002. Efecto de la quinacrina en el tracto reproductivo de la perra. *Memoria de titulación*, Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad Austral de Chile.
- Colaham PT, IG Mayhew, AM Merrit, JN Moore. 1999. *Equine medicine and surgery*. Pp 648-650. Mosby, St. Louis.
- Collier DJ, SO Collier, PD Rosedale. 2001. Grass sickness the same old suspects but still no convictions. *Equine Vet J* 33, 540-542.
- Cotran RS, V Kumar, SL Robbins. 1995. *Patología estructural y funcional*. 5ª edición. Pp 1-30. Interamericana McGraw-Hill, Madrid.
- Cunningham JG. 1994. *Fisiología veterinaria*. Pp. 101-109. Interamericana McGraw-Hill, México DF.
- Divers TJ. 1999. Comparing equine motor neuron disease (EMND) with equine grass sickness (EGS). *Equine Vet J* 31, 90-91.
- Doxey DL, JS Gilmour, EM Milne. 1991^a. A comparative study of normal equine populations and those with grass sickness (dysautonomia) in eastern Scotland. *Equine Vet J* 23, 365-369.
- Doxey DL, JS Gilmour, EM Milne. 1991^b. The relationship between meteorological features and equine grass sickness (dysautonomia). *Equine Vet J* 23, 370-373.

- Doxey DL, EM Milne, JS Gilmour, DM Pogson. 1991^c. Clinical and biochemical features of grass sickness (equine dysautonomia). *Equine Vet J* 23, 360-364.
- Doxey DL, DM Pogson, EM Milne. 1992. Clinical equine dysautonomia and autonomic neuron damage. *Res Vet Sci* 53, 106-109.
- Doxey DL, EM Milne, A Harter. 1995^a. Recovery of horses from dysautonomia (grass sickness). *Vet Rec* 137, 585-588.
- Doxey DL, EM Milne, MP Woodman, JS Gilmour, HK Chisholm. 1995^b. Small intestine and small colon neuropathy in equine dysautonomia (grass sickness). *Vet Res Comm* 19, 529-543.
- Doxey DL, S Tothill, EM Milne, Z Davis. 1995^c. Patterns of feeding and behaviour in horses recovering from dysautonomia (grass sickness). *Vet Rec* 137, 181-183.
- Doxey DL, EM Milne, J Ellinson, PJS Curry. 1998. Long-term prospects for horses with grass sickness (dysautonomia). *Vet Rec* 142, 207-209.
- Doxey DL, EM Milne, R Gwilliam, J Sandland. 1999. Prediction of long-term outcome following grass sickness (equine dysautonomia). *Vet Rec* 144, 386-387.
- Edwards GB. 1987. Grass sickness of horses: clinical picture and management. *J Small Anim Pract* 28, 364-368.
- Fintl C, EM Milne, BC McGorum. 2002. Evaluation of urinalysis as an aid in the diagnosis of equine grass sickness. *Vet Rec* 151, 721-724.
- Gilmour JS. 1973. Observations on neuronal changes in grass sickness of horses. *Res Vet Sci* 15, 197-200.
- Gilmour JS. 1987. Grass sickness: Epidemiology and pathology. *J Small Anim Pract* 28, 373-378.
- Gilmour JS, GM Jolly. 1974. Some aspects of the epidemiology of the equine grass sickness. *Vet Rec* 95, 77-81.
- Greet TRC, KE Whitwell. 1987. Grass sickness: Studies of oesophageal function. *J Small Anim Pract* 28, 369-372.
- Griffiths IR, S Smith, E Kyriakides, JM Barrie. 1994. Autonomic neurons from horses with grass sickness contain serum proteins. *Vet Rec* 135, 90-91.
- Hahn CN, IG Mayhew. 2000. Phenylephrine eyedrops as a diagnostic test in equine grass sickness. *Vet Rec* 147, 603-606.

- Hedderson E, JR Newton. 2004. Prospects for vaccination against equine grass sickness. *Equine Vet J* 36, 186-191.
- Hodson NP, JA Wright. 1987. Grass sickness: Electron microscopy. *J Small Anim Pract* 28, 381-386.
- Howell JM, JR Baker, HE Ritchie. 1974. Observations on the coeliaco-mesenteric ganglia of horses with and without grass sickness. *Br Vet J* 130, 265-270.
- Hunter LC, IR Poxton. 2001. Systemic antibodies to *Clostridium botulinum* type C: do they protect horses from grass sickness (dysautonomia). *Equine Vet J* 33, 547-553.
- Hunter LC, JK Miller, IR Poxton. 1999. The association of *Clostridium botulinum* type C with equine grass sickness: a toxicoinfection. *Equine Vet J* 31, 492-499.
- Instituto Geográfico Militar de Chile. 1994. *Atlas geográfico de Chile para la educación*. 4^a edición. Pp 20-21. Instituto Geográfico Militar, Santiago.
- John HA, AJ Creighton, A Baird. 2001. Thoracic sympathetic chain ganglion neuronal abnormalities that may explain some of the clinical signs of grass sickness. *Vet Rec* 148, 180-182.
- Jones TC, RD Hunt, NW King. 1997. *Veterinary pathology*. 6th edition. Pp 1259-1263. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Jubb KVF, PC Kennedy, N Palmer. 1992. *Pathology of the domestic animals*. 4th edition. Pp 292-297. Academic Press, California.
- King JN, JV Davies, EL Gerring. 1990. Contrast radiography of the equine oesophagus: effect of spasmolytic agents and passage of a nasogastric tube. *Equine Vet J* 22, 133-135.
- König HE, HG Liebich. 2004. *Veterinary anatomy of domestic mammals*. Pp 529-536. Schattauer, New York.
- Luna LG. 1968. *Manual of histologic methods of the armed forces institute of pathology*. 3th edition. Pp 38-39. McGraw-Hill, New York.
- Mahaffey LW. 1959. Ganglionic lesions in grass sickness of horses. *Vet Rec* 71, 170-171.
- Mair T, T Divers, N Ducharme. 2003. *Manual de gastroenterología equina*. Pp. 401-408. Intermédica, Buenos Aires.
- McCarthy HE, CJ Proudman, NP French. 2001. Epidemiology of equine grass sickness: a literature review (1909-1999). *Vet Rec* 149, 293-300.

- McCarthy HE, NP French, GB Edwards, K Miller, CJ Proudman. 2004^a. Why are certain premises at increased risk of equine grass sickness?. A matched case-control study. *Equine Vet J* 36, 130-134.
- McCarthy HE, NP French, GB Edwards, IR Poxton, DF Kelly, CE Payne-Johnson, K Miller, CJ Proudman. 2004^b. Equine grass sickness is associated with low antibody levels to *Clostridium botulinum*: a matched case-control study. *Equine Vet J* 36, 123-129.
- McGorum BC, RA Anderson. 2002. Biomarkers of exposure to cyanogens in horses with grass sickness. *Vet Rec* 151, 442-445.
- McGorum BC, SC Fry, G Wallace, K Coenen, J Robb, G Williamson, OI Aruoma. 2000. Properties of herbage in relation to equine dysautonomia: Biochemical composition and antioxidant and prooxidant actions. *J Agric Food Chem* 48, 2346-2352.
- McGorum BC, KWJ Kyles, D Prince, CN Hahn, IG Mayhew. 2003^a. Clinicopathological features consistent with both botulism and grass sickness in a foal. *Vet Rec* 152, 334-336.
- McGorum BC, R Wilson, RS Pirie, IG Mayhew, H Kaur, OI Aruoma. 2003^b. Systemic concentrations of antioxidants and biomarkers of macromolecular oxidative damage in horses with grass sickness. *Equine Vet J* 35, 121-126.
- Milne EM. 1997. Clinical aspects and treatment of grass sickness in the UK. En: Hahan C, Gerber V, Herholtz C, Mayhew I (eds): *Proceedings of the First International Workshop on Grass Sickness, Equine Motor Neurone Disease and Related Disorders*. Pp. 1-3. Berna.
- Milne EM, DL Doxey, JS Gilmour. 1990. Analysis of peritoneal fluid as a diagnostic aid in grass sickness (equine dysautonomia). *Vet Rec* 127, 162-165.
- Milne EM, MP Woodman, DL Doxey. 1994. Use of clinical measurements to predict the outcome in chronic cases of grass sickness (equine dysautonomia). *Vet Rec* 134, 438-440.
- Milne EM, DL Doxey, MP Woodman, D Cuddeford, RA Pearson. 1996. An evaluation of the use of cisapride in horses with chronic grass sickness (equine dysautonomia). *Br Vet J* 152, 537-549.
- Moulton JE. 1990. *Tumors in domestic animals*. 3th edition. Pp. 76-82. University of California, California.
- Muñoz L, E Paredes. 1993. "Mal seco" en un mular, primera descripción en Chile. *Patología Animal* 7, 22-25.
- Obel AL. 1955. Studies on grass disease. The morphological picture with special reference to the vegetative nervous system. *J Comp Path* 152, 334-346.

- Ochoa R, S Velandia. 1978. Equine grass sickness: serologic evidence of association with *Clostridium perfringens* type A enterotoxin. *Am J Vet Res* 39, 1049-1051.
- Owen R. 1978. Selenium deficiency and grass sickness. *Vet Rec* 103, 222.
- Pogson DM, DL Doxey, JS Gilmour, EM Milne, HK Chisholm. 1992. Autonomic neurone degeneration in equine dysautonomia (grass sickness). *J Comp Path* 107, 271-283.
- Reed SM, WM Bayly. 1998. *Equine internal medicine*. Pp. 602-607. W.B. Saunders, Philadelphia.
- Robles CA, FA Uzal, J Pueyo, A Pelliza. 1993. Aspectos clínicos, epidemiológicos y estudio de la dieta en equinos y mulares con Mal seco. *Rev Med Vet B Aires* 74, 244- 252.
- Scholes SFE, C Vaillant, P Peacock, GB Edwards, DF Kelly. 1993^a. Diagnosis of grass sickness by ileal biopsy. *Vet Rec* 131, 7-10.
- Scholes SFE, C Vaillant, P Peacock, GB Edwards, DF Kelly. 1993^b. Enteric neuropathy in horses with grass sickness. *Vet Rec* 132, 647-651.
- Uzal FA, CA Robles, FV Olaechea. 1992. Histopathological changes in the coeliacomesenteric ganglia of horses with “mal seco”, a grass sickness-like syndrome, in Argentina. *Vet Rec* 130, 244-246.
- Uzal FA, MP Woodman, CG Giraudó, CA Robles, DL Doxey. 1996. An attempt to reproduce “mal seco” in horses by feeding them *Festuca argentina*. *Vet Rec* 139, 68-70.
- Wood JLN, BC McGorum, IG Mayhew. 1999. Equine dysautonomia: has grass been blamed unfairly all this time?. *Equine Vet J* 31, 451-452.
- Woods JA, JS Gilmour. 1991. A suspected case of grass sickness in the Falkland Islands. *Vet Rec* 128, 359-360.
- Wright JA, NP Hodson. 1988. Pathological changes in the brain in equine grass sickness. *J Comp Path* 88, 247-252.

8. ANEXOS

ANEXO 1: Datos clínicos de los 59 caballos muestreados en el matadero de Galvarino, durante el mes de enero y marzo de 2005.

Nº	MUESTRA	EDAD (AÑOS)	SEXO	RAZA	PROCEDENCIA	OTROS HALLAZGOS
1	65-05	10	Hembra	Criollo chileno	Imperial	
2	68-05	18	Macho	Criollo chileno	Freire	
3	72-05	20	Hembra	Criollo chileno	Freire	
4	74-05	20	Hembra	Criollo chileno	Pitrufrquén	
5	81-05	18	Hembra	Criollo chileno	Freire	
6	82-05	11	Macho	Criollo chileno	Imperial	
7	86-05	10	Macho	Criollo chileno	Imperial	
8	88-05	13	Hembra	Criollo chileno	Imperial	
9	89-05	18	Hembra	Criollo chileno	Lautaro	
10	90-05	12	Macho	Criollo chileno	Lautaro	
11	91-05	6	Macho	Criollo chileno	Lautaro	
12	92-05	16	Hembra	Criollo chileno	Imperial	
13	93-05	10	Macho	Criollo chileno	Imperial	
14	94-05	16	Macho	Criollo chileno	Freire	
15	95-05	20	Macho	Criollo chileno	Freire	
16	96-05	18	Hembra	Mestizo	Freire	
17	97-05	14	Hembra	Criollo chileno	Freire	
18	102-05	11	Macho	FSC	Victoria	
19	108-05	10	Macho	Criollo chileno	Cunco	
20	109-05	>20	Macho	Criollo chileno	Villarrica	
21	111-05	18	Macho	Criollo chileno	Curarrehue	
22	142-05	20	Macho	Criollo chileno	Imperial	
23	144-05	>20	Hembra	Criollo chileno	Imperial	
24	145-05	>20	Macho	Criollo chileno	Imperial	
25	146-05	10	Hembra	Criollo chileno	Pitrufrquén	
26	147-05	7	Hembra	Criollo chileno	Lonquimay	
27	149-05	2	Macho	Criollo chileno	Lonquimay	

28	150-05	8	Macho	Criollo chileno	Malalcahuello	
29	151-05	6	Hembra	Criollo chileno	Lonquimay	
30	152-05	13	Macho	Criollo chileno	Pitrufrquén	
31	154-05	>20	Hembra	Percherón	Curarrehue	
32	155-05	15	Hembra	Percherón	Curarrehue	
33	156-05	4	Hembra	Criollo chileno	Victoria	
34	157-05	10	Hembra	Criollo chileno	Victoria	
35	159-05	9	Hembra	Criollo chileno	Freire	
36	160-05	15	Macho	Criollo chileno	Lautaro	
37	161-05	18	Macho	Criollo chileno	Malalcahuello	
38	162-05	4	Hembra	Criollo chileno	Cunco	
39	163-05	>20	Macho	Criollo chileno	Cunco	
40	164-05	<2	Macho	Criollo chileno	Lonquimay	
41	165-05	<2	Macho	Criollo chileno	Los Angeles	
42	166-05	<2	Hembra	Criollo chileno	Los Angeles	
43	167-05	<2	Macho	Criollo chileno	Los Angeles	
44	169-05	7	Macho	Criollo chileno	Freire	
45	171-05	15	Macho	FSC	Imperial	
46	173-05	11	Macho	Criollo chileno	Freire	Hígado con nódulos parasitarios
47	174-05	18	Hembra	Criollo chileno	Freire	Hígado con nódulos parasitarios
48	177-05	18	Macho	Criollo chileno	Villarrica	
49	178-05	10	Hembra	Criollo chileno	Malalcahuello	Hígado con nódulos parasitarios
50	179-05	7	Hembra	Criollo chileno	Malalcahuello	Tordillo (melanoma)
51	180-05	18	Hembra	Criollo chileno	Villarrica	
52	181-05	>20	Macho	Criollo chileno	Curarrehue	
53	182-05	15	Macho	Criollo chileno	Cunco	Neumonía
54	184-05	7	Hembra	Criollo chileno	Temuco	
55	185-05	10	Macho	Criollo chileno	Temuco	
56	186-05	20	Hembra	Criollo chileno	Temuco	
57	187-05	10	Hembra	Criollo chileno	Pitrufrquén	
58	188-05	15	Hembra	Criollo chileno	Victoria	
59	190-05	8	Hembra	FSC	Victoria	

ANEXO 2: Datos de marcas y procedencia de los 59 caballos muestreados.

M	MARCA MATADERO	MARCA FERIA	PROPIETARIO	PROCEDENCIA
65-05	HU	no tiene	Gerbacio Ulloa	Imperial
68-05	VV	punto en paleta izquierda	Sociedad comercial VV	Freire
72-05	TEX	6	Luis González	Freire
74-05	MH	4	Marta Huaquivil	Pitrufrquén
81-05	VV	22	Sociedad comercial VV	Freire
82-05	HU	11	Gerbacio Ulloa	Imperial
86-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Imperial
88-05	MH	14	Marta Huaquivil	Imperial
89-05	MH	11	Marta Huaquivil	Lautaro
90-05	MH	15	Marta Huaquivil	Lautaro
91-05	MH	9	Marta Huaquivil	Lautaro
92-05	MH	16	Marta Huaquivil	Imperial
93-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Imperial
94-05	ISA	6	Isabel Salazar	Freire
95-05	VV	3	Sociedad comercial VV	Freire
96-05	VV	15	Sociedad comercial VV	Freire
97-05	VV	82	Sociedad comercial VV	Freire
102-05	SSP	46	Daniel Salazar	Victoria
108-05	VV	punto cadera	Sociedad comercial VV	Cunco
109-05	ISA	40	Isabel Salazar	Villarrica
111-05	MH	punto cadera	Marta Huaquivil	Curarrehue
142-05	PA	no tiene	Pamela Aravena	Imperial
144-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Imperial
145-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Imperial
146-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Pitrufrquén
147-05	VV	4	Sociedad comercial VV	Lonquimay
149-05	VV	19	Sociedad comercial VV	Lonquimay
150-05	VV	22	Sociedad comercial VV	Malalcahuello
151-05	VV	2	Sociedad comercial VV	Lonquimay
152-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Pitrufrquén
154-05	MH	14	Marta Huaquivil	Curarrehue
155-05	MH	2	Marta Huaquivil	Curarrehue
156-05	HU	no tiene	Gerbacio Ulloa	Victoria
157-05	HU	no tiene	Gerbacio Ulloa	Victoria
159-05	SSP	69	Daniel Salazar	Freire
160-05	MH	15	Marta Huaquivil	Lautaro
161-05	MH	12	Marta Huaquivil	Malalcahuello
162-05	HU	30	Gerbacio Ulloa	Cunco
163-05	VV	27	Sociedad comercial VV	Cunco
164-05	VV	11	Sociedad comercial VV	Lonquimay
165-05	VV	no tiene	Sociedad comercial VV	Los Angeles
166-05	VV	7	Sociedad comercial VV	Los Angeles

M	MARCA MATADERO	MARCA FERIA	PROPIETARIO	PROCEDENCIA
167-05	VV	5	Sociedad comercial VV	Los Angeles
169-05	VV	24	Sociedad comercial VV	Freire
171-05	VV	21	Sociedad comercial VV	Imperial
173-05	HU	32	Gerbacio Ulloa	Freire
174-05	VV	28	Sociedad comercial VV	Freire
177-05	MH	9	Marta Huaquivil	Villarrica
178-05	MH	12	Marta Huaquivil	Malalcahuello
179-05	MH	11	Marta Huaquivil	Malalcahuello
180-05	MH	no tiene	Marta Huaquivil	Villarrica
181-05	MH	20	Marta Huaquivil	Curarrehue
182-05	HU	no tiene	Gerbacio Ulloa	Cunco
184-05	SSP	26	Daniel Salazar	Temuco
185-05	PA	no tiene	Pamela Aravena	Temuco
186-05	HU	2	Gerbacio Ulloa	Temuco
187-05	5	no tiene	Alicia Novoa	Pitrufquén
188-05	NR	no tiene	Nibaldo Robles	Victoria
190-05	MH	21	Marta Huaquivil	Victoria

M: muestra.

ANEXO 3: Hallazgos histopatológicos de los 59 caballos muestreados.

M	N. PICNÓTICO	VACUOLAS	C. CROMATÓFILAS	PÉRDIDA C. NISL	LIPOFUCSINA	INF. LINFOCITARIO	NEUROFAGIA
65-05	X	N	X	X	X	X	X
68-05	X	N	X	X	XX	X	X
72-05	X	X	X	X	XX	X	X
74-05	X	X	X	X	XX	X	X
81-05	X	X	X	X	X	X	X
82-05	X	N	N	N	X	N	X
86-05	X	X	X	X	X	N	X
88-05	XX	X	XX	X	XX	X	X
89-05	XX	X	XX	X	XX	X	X
90-05	X	N	X	X	X	X	N
91-05	X	X	X	X	X	X	N
92-05	X	X	X	X	X	X	N
93-05	X	X	XX	X	X	X	X
94-05	X	X	X	X	X	X	X
95-05	X	X	X	X	X	X	N
96-05	X	X	X	X	XX	X	X
97-05	X	N	X	X	X	N	N
102-05	X	N	X	X	XX	X	N
108-05	X	X	XX	X	XXX	X	X
109-05	X	X	XX	X	X	X	X
111-05	X	X	X	X	XX	X	X
142-05	X	XX	XX	X	X	X	N
144-05	X	X	X	X	X	X	X
145-05	X	X	XX	X	XXX	X	X
146-05	X	X	XX	X	X	X	N
147-05	X	X	XX	X	X	X	X
149-05	XX	X	XX	XX	N	X	X
150-05	X	X	X	X	N	X	X
151-05	XX	X	XX	XX	XX	X	X
152-05	XX	XX	X	XX	XX	X	X
154-05	X	XX	XX	X	XX	X	N
155-05	XX	XXX	XX	XX	XXX	X	X

M	N. PICNÓTICO	VACUOLAS	C. CROMATÓFILAS	PERDIDA C. NISL	LIPOFUCSINA	INF. LINFOCITARIO	NEUROFAGIA
156-05	X	X	X	X	X	X	X
157-05	X	X	XX	X	N	X	X
159-05	XX	X	XX	XX	X	X	X
160-05	X	X	X	X	X	X	X
161-05	X	X	X	X	XXX	X	N
162-05	XX	X	XX	XX	N	X	X
163-05	X	X	X	X	XXX	X	X
164-05	X	X	X	X	X	X	X
165-05	X	X	X	X	N	X	X
166-05	X	X	X	X	N	X	X
167-05	XX	X	XXX	XX	N	X	X
169-05	XX	X	XX	X	X	X	X
171-05	X	N	X	X	XXX	X	X
173-05	X	X	X	X	XX	X	X
174-05	X	X	X	X	X	X	X
177-05	XX	X	XX	XX	XX	X	X
178-05	X	X	X	X	XXX	X	X
179-05	XX	X	XX	XX	X	X	X
180-05	X	X	X	X	X	X	X
181-05	X	X	X	X	X	X	X
182-05	X	X	XX	X	XX	X	X
184-05	X	X	X	X	X	X	X
185-05	XX	XX	XX	XX	X	X	X
186-05	XX	XX	XXX	XX	X	X	X
187-05	X	X	XX	X	X	X	X
188-05	X	N	X	X	XXX	X	N
190-05	XX	X	XX	XXX	X	X	X

M: muestra, **C. Cromatófilas:** células cromatófilas, **Pérdida C. Nissl:** pérdida de los cuerpos de nissl, **Inf. Linfocitario:** infiltrado linfocitario.

ANEXO 4: Hallazgos histopatológicos de las muestras afectadas.

M	N. PICNÓTICO	VACUOLAS	C. CROMATÓFILAS	PÉRDIDA C. NISSL	LIPOFUCSINA	INF. LINFOCITARIO	NEUROFAGIA
149-05	XX	X	XX	XX	N	X	X
151-05	XX	X	XX	XX	XX	X	X
152-05	XX	XX	X	XX	XX	X	X
155-05	XX	XXX	XX	XX	XXX	X	X
159-05	XX	X	XX	XX	X	X	X
162-05	XX	X	XX	XX	N	X	X
167-05	XX	X	XXX	XX	N	X	X
177-05	XX	X	XX	XX	XX	X	X
179-05	XX	X	XX	XX	X	X	X
185-05	XX	XX	XX	XX	X	X	X
186-05	XX	XX	XXX	XX	X	X	X
190-05	XX	X	XX	XXX	X	X	X

M: muestra, **C. Cromatófilas:** células cromatófilas, **Pérdida C. Nissl:** pérdida de los cuerpos de nissl, **Inf. Linfocitario:** infiltrado linfocitario.

ANEXO 5: Curso de la enfermedad de los caballos afectados.

MUESTRA	CURSO ENFERMEDAD
149-05	Agudo
151-05	Crónico
152-05	Crónico
155-05	Agudo
159-05	Crónico
162-05	Agudo
167-05	Agudo
177-05	Agudo
179-05	Crónico (melanoma)
185-05	Agudo
186-05	Agudo
190-05	Agudo

9. AGRADECIMIENTOS

Para finalizar, solo me queda agradecer cordialmente a todas las personas que me ayudaron a la realización de este trabajo.

- **Dr. Enrique Paredes H.** Profesor patrocinante, tengo que agradecerle el incondicional apoyo que me brindó para poder llevar a cabo este trabajo, gracias por sus consejos y su verdadera amistad.

- **Sra. Aintzane Alberdi.** Gracias por la ayuda en el procesamiento de las muestras y por su cariño y amistad entregada durante este año.

- **Dr. Marcelo Gómez.** Por la ayuda en la corrección del summary.

- **Dra. Miriam Curillan.** Médico veterinario del matadero de Galvarino, gracias por ayuda en la obtención de muestras.

-A todo el personal del Instituto de Patología Animal de la Universidad Austral de Chile, por su disposición.

- Gracias a todos mis queridos amigos que me brindaron apoyo para poder llevar acabo esta memoria de título.

Y finalmente quiero agradecer a toda mi familia, que sin duda fueron el motivo de mi inspiración. Con cariño les dedico mi trabajo.