



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Trabajo Fin de

Autor/es

Director/es

Facultad de Veterinaria

ÍNDICE

1.	RESUMEN	2
1.1	ABSTRACT	2
2.	INTRODUCCIÓN	3
2.1	EPIDEMIOLOGÍA	3
2.2	CAUSA Y FACTORES DE RIESGO	3
2.3	SIGNOS CLÍNICOS	5
2.4	HALLAZGOS PATOLÓGICOS	6
2.4.1	SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)	6
2.4.2	SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP)	7
2.4.3	MÚSCULO	7
2.4.4	OJO	8
2.4.5	OTRAS POSIBLES LESIONES	9
2.5	DIAGNOSTICO DIFERENCIAL	9
2.6	EMND MODELO ANIMAL PARA LA ELA	10
2.7	DIAGNÓSTICO	11
2.8	TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN	13
2.9	PRONÓSTICO	13
4.	MATERIAL Y MÉTODOS	15
4.1	METODOLOGÍA BIBLIOGRÁFICA	15
4.2	METODOLOGÍA ANIMAL	16
4.3	EXAMEN CLÍNICO	16
4.4	PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	16
4.5	OTRAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	17
4.6	METODOLOGÍA ANATOMOPATOLÓGICA	18
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	19
5.1	RESULTADOS EXAMEN CLÍNICO	19
5.2	RESULTADOS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS	20
5.3	RESULTADOS ANATOMOPATOLÓGICOS	22
5.4	DISCUSIÓN	28
6.	CONCLUSIONES	30
6.1	CONCLUSIONS	31
7.	VALORACIÓN PERSONAL	32
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1. RESUMEN

La enfermedad de la motoneurona equina (EMND) es un desorden neurodegenerativo que afecta a neuronas motoras localizadas en el asta ventral de la médula espinal y algunos núcleos motores de nervios craneales en el tronco del encéfalo. Se trata de una patología adquirida, poco frecuente, diagnosticada por primera vez en caballos en el año 1990, relacionada con daños neuronales de carácter oxidativo causados por deficiencia de vitamina E. El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica sobre esta enfermedad incluyendo aspectos epidemiológicos, etiopatogénicos, clínicos, diagnósticos e histopatológicos, y realizar un estudio retrospectivo sobre dos casos remitidos al Hospital Clínico Veterinario de Zaragoza (HVUZ) con sintomatología y hallazgos histopatológicos compatibles con EMND.

En estos dos casos clínicos se incluye la descripción de la sintomatología presente en el animal, las pruebas diagnósticas realizadas y sus resultados, así como la caracterización de las lesiones histopatológicas presentes en los diferentes tejidos estudiados, incluyendo encéfalo, médula espinal, músculo y nervios periféricos y retina. Finalmente se realizará un estudio comparativo entre los casos diagnosticados para esta enfermedad en el HVUZ y los casos previamente publicados en la bibliografía consultada.

1.2 ABSTRACT

Equine motor neuron disease (EMND) is a neurodegenerative disorder that affects motor neuron located in the ventral horn of the spinal cord and some motor nuclei of cranial nerves in the brainstem. It is an acquired and uncommon pathology; it was first diagnosed in 1990, related with neuronal damage caused by oxidative character of vitamin E deficiency. This work principal aim is carry out a bibliography revision about this disease including epidemiologics, etiopathologics, clinics, diagnoses and histopathologics aspects, and make a retrospective study about two cases referred to the Veterinary Hospital of Zaragoza (HVUZ) with symptoms and histopathologic findings compatible with EMND.

In these two cases are included the description of the symptoms present in the animal, diagnostic tests and results, as well as characterization of histopathological lesions in different tissues studied, including brain, spinal cord, muscle and peripheral nerves and retina.

Finally, a comparative study was conducted among patients diagnosed for this disease in the HVUZ and cases previously published in the literature.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 EPIDEMIOLOGÍA

La localización de esta enfermedad se situó en el norte y sur de América, Japón y Europa, afectando sobre todo a caballos adultos. La EMND fue diagnosticada por primera vez en el (Valentine et al., 1994) año 1985 por un hallazgo histológico en el músculo esquelético. En 1990, se escribió sobre ella por primera y fue reconocida mundialmente por un incremento de casos. Recientemente, el número de casos ha disminuido, esto se piensa que podría ser el resultado de la instauración de unas medidas de manejo preventivo en los caballos que tenían riesgo de padecer esta enfermedad (Fig. 1)

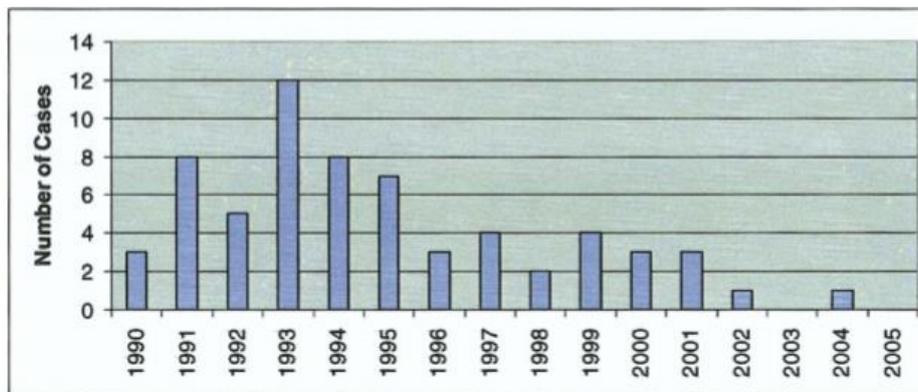


Fig 1. Gráfica número de casos diagnosticados de ENMD por año, hasta el 2005. Datos registrados por de la Universidad de Cornell. (T. J. Divers, Mohammed, Hintz, & De Lahunta, 2006)

2.2 CAUSA Y FACTORES DE RIESGO

La causa exacta de esta patología, a día de hoy, se considera incierta. Aunque se sabe que la deficiencia crónica de antioxidantes podría estar directamente implicada en la patogénesis de esta enfermedad, no aseguran que sea la etiología definitiva.

Por otra parte, hay varios factores que pueden aumentar la probabilidad de padecer esta enfermedad pero ninguno de ellos asegura su desarrollo. Los factores de riesgo más relevantes son:

- **Edad:** La EMND suele afectar a caballos adultos y la edad media de aparición de los signos clínicos ronda los 9 años. El riesgo de padecer esta enfermedad aumenta con la edad aunque se han descrito casos en diferentes edades.
- **Raza:** Aunque no está descrito que haya una predisposición racial, sí que hay algunas razas donde aparece con mayor frecuencia. La raza de caballos Cuarto de Milla, por

ejemplo, tiene un riesgo elevado de desarrollar EMND, sin embargo, esto podría reflejar los factores de manejo típicos de esta raza. Estos caballos se utilizan en diferentes disciplinas como por ejemplo las de, caballo vaquero, caballo de exposición (donde prima una musculatura exagerada) y caballo de carreras. Todas estas disciplinas hacen que el animal requiera un aporte energético elevado, lo cual se debe cubrir con una alimentación rica en energía (piensos) y la mayoría de veces disminuye el consumo de forraje verde. Otros autores (Riis et al., 1999) aseguran que el caballo Pura sangre (caballo de carreras) también podría tener un riesgo elevado de padecer esta enfermedad.

- Género: esta enfermedad no presenta una predilección evidente referida al género (Riis et al., 1999).
- Alimentación: según estos autores (T. J. Divers et al., 2006) el riesgo aumenta en caballos que no tienen acceso al pasto o el acceso a este es limitado. Ya que el pasto verde contiene elevadas cantidades de vitamina E (antioxidante natural).
- Deficiencia de vitamina E: Se piensa que una deficiencia crónica de vitamina E puede ser el factor más importante para el desarrollo de EMND. Esta teoría está basada en que los caballos afectados presentan bajas concentraciones en el plasma de vitamina E y esto podría producir un daño oxidativo. La mayoría de veces este factor está relacionado con el tipo de alimentación. Aun así, se describieron algunos casos en EEUU y en Europa en los cuales los animales tenían acceso al pasto y padecían igualmente la enfermedad presentando niveles bajos en plasma de vitamina E (T. J. Divers et al., 2006). Esto podría ser debido a que hay otros factores que actúan aumentando la dificultad de absorción de la vitamina E. Y estos podrían ser según (Furr & Reed, 2015): primero, que la absorción, el metabolismo o la retención de la vitamina E ingerida, esté alterada. Este ha sido un motivo sospechoso en aproximadamente el 5% de los caballos con EMND que tenían una enfermedad intestinal infiltrante / inflamatoria o una cirrosis hepática avanzada. Segundo, que otros antioxidantes de la dieta o sistemas antioxidantes endógenos resultan ser deficientes o insuficientes. El apoyo a esta hipótesis es insuficiente. Se sabe que la vitamina A del plasma, los β -carotenos y la concentración de ácido ascórbico por lo general son normales en los caballos con EMND. Y por último, que se ingieran sustancias que provoquen la depleción de antioxidantes.

2.3 SIGNOS CLÍNICOS

Los signos clínicos varían según la duración de la enfermedad. Actualmente, se han descrito tres formas de presentación clínica: la forma subaguda, la crónica y la subclínica.

Forma subaguda. Durante la fase temprana de la EMND, los temblores, fasciculaciones musculares, adopción de posturas anormales “postura de base estrecha”, sudoración anormal, aumento de tiempo de recumbencia, atrofia muscular y pérdida de peso a pesar de presentar un apetito normal o incluso voraz, son los signos clínicos más característicos.

La ataxia no se considera un signo clínico característico de la EMND.

Los signos clínicos de un caballo con esta patología se evidencian claramente cuando está en estación y no tanto, cuando está en movimiento. Aun así, hay caballos que durante el paseo presentan signos como sudoración, taquipnea y aleteo nasal.



Fig. 2 Colocación característica de los pies debajo del cuerpo presente en la forma subaguda de la enfermedad. Se observa la pérdida muscular y la excesiva sudoración. Sujetando el caballo se encuentra el Dr. John Cummings quien presentó esta enfermedad por primera vez en 1990. (T. J. Divers et al., 2006)

En más de 50% de los casos los caballos pueden mostrar aspecto de abatimiento (Fig. 2), en el cual, es característico que aparezca reclinado hacia adelante con las extremidades posteriores por debajo del cuerpo. Además, suelen presentar un defecto en la posición normal de la cabeza debido a la pérdida de masa muscular cervical.

El inicio de la pérdida de musculatura puede aparecer aproximadamente un mes antes del comienzo de los signos clínicos de la forma aguda. La atrofia muscular que se observa es más evidente en los cuádriceps, tríceps y áreas de los glúteos (Reed, Bayly, & Sellon, 2009).

Forma crónica: En esta fase, aparecen temblores y fasciculaciones musculares aunque no son muy pronunciados. Los caballos que presentan la forma crónica de la enfermedad son aquellos en los que generalmente se ha controlado la forma subaguda (Furr & Reed, 2015). Sin embargo, algunos caballos pueden desarrollar la forma crónica sin haber experimentado la forma subaguda anteriormente. La atrofia muscular en estos casos varía entre moderada y severa, y muchos caballos suelen presentar caquexia.

En esta fase de la enfermedad, muchos propietarios coinciden en que su caballo presenta cambios de comportamiento o alteraciones en la marcha y dificultad para aumentar de peso.

Cabe destacar que, en la forma subaguda y crónica la base de la cola en ocasiones puede permanecer elevada (Fig. 3) como consecuencia de la atrofia por denervación y la contractura fibrótica del músculo *Sacroccigeo dorsalis medialis* (T. J. Divers et al., 2006).

Así como que, en aproximadamente en un 30 % de los casos, (Reed et al., 2009) el examen oftalmológico puede revelar una distintiva retinopatía con un estampado en forma de mosaico (depósitos de lipofuscina en el fondo de la retina). Aunque así, la visibilidad de los caballos no está necesariamente dañada por esto.



Fig. 3 Elevación de la base de la cola en un caballo con EMND. (T. J. Divers et al., 2006)

Forma subclínica: existen evidencias de que hay caballos que pueden desarrollar una forma subclínica de la EMND. En esta, hay una pérdida de menos de 30 % de las neuronas motoras (T. J. Divers et al., 2006). En estos casos se podría observar un aumento de lesiones musculares durante el ejercicio como consecuencia de esta leve pérdida de motoneuronas, lo cual produciría debilidad muscular.

2.4 HALLAZGOS PATOLÓGICOS

En la necropsia de los caballos afectados por EMND las lesiones macroscópicas más destacables son la atrofia muscular difusa y palidez, localizada en el músculo cuádriceps y la cabeza medial del músculo tríceps (Reed et al., 2009). Por otra parte, las lesiones histopatológicas más relevantes para su diagnóstico se encuentran en: médula espinal, encéfalo, nervios periféricos, músculo y retina.

2.4.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

La lesión más característica de esta patología es la degeneración y/o pérdida de motoneuronas presentes en el asta ventral de la médula espinal y, de forma menos marcada, en núcleos motores del tronco del encéfalo (T. J. Divers et al., 2006). De acuerdo con la bibliografía la pérdida de aproximadamente un 31% de las motoneuronas somáticas aparece incluso antes de que los signos clínicos sean apreciables. El grado de degeneración neuronal es variable según la fase de la enfermedad. Las lesiones más importantes en la forma subaguda aparecen principalmente en todas las secciones de la **médula espinal**, aunque puedan ser más evidentes en las intumescencia cervical y lumbar. En los caballos que presentan la forma subaguda se

observan cambios evidentes de degeneración neuronal activa (cromatolisis, presencia de neuronas fantasma caracterizadas por somas hinchados, ausencia de gránulos de Nissl y pérdida de núcleo) (Reed et al., 2009), mientras que en los animales afectados de forma crónica, (Matsuo et al., 2009) la pérdida de densidad de motoneuronas en las astas ventrales, con presencia ocasional de cicatrices gliales y un pequeño número de esferoides, son los cambios más evidentes. En cuanto a los **núcleos del tronco del encéfalo**, las lesiones se encuentran en el núcleo del bulbo raquídeo y núcleo ambiguo, y también se relacionan con la degeneración de motoneuronas, pérdida neuronal y gliosis, aunque como ya hemos señalado, suelen aparecer de una forma menos señalada (Reed et al., 2009).

2.4.2 SISTEMA NERVIOSO PERIFÉRICO (SNP)

Las lesiones en el SNP son secundarias a la degeneración y pérdida de motoneuronas somáticas y, consiguientemente, de sus axones motores localizados en las raíces ventrales y en el nervio periférico que las contiene. Los cambios presentes en estas localizaciones incluyen degeneración Walleriana (fragmentación axonal, bainas de mielina dilatadas, cámaras de digestión y proliferación de células de Schwann formando bandas de Bügner), y consiguiente disminución de la densidad de fibras mielínicas (Valentine et al., 1994). Además, se ha descrito que los pares craneales el V (nervio trigémino), VII (nervio facial) y XII (nervio hipogloso), pueden aparecer afectados levemente en algunas ocasiones (Reed et al., 2009).

2.4.3 MÚSCULO

Debido a la pérdida de fibras de los nervios periféricos se produce una atrofia por denervación en el músculo, principalmente en aquellos ricos en fibras de tipo I tales como el músculo cuádriceps y la cabeza medial del músculo tríceps. Una de las razones por las que la EMND afecte principalmente a las fibras de tipo I podría estar relacionada con la mayor actividad oxidativa y, por tanto, más susceptibles al daño por estrés oxidativo de las motoneuronas y axones que inervan este tipo de fibras musculares. Histológicamente, los cambios de la musculatura esquelética (Reed et al., 2009) incluyen una miopatía con cambios no específicos tales como una variación excesiva del tamaño de las fibras con presencia de fibras atróficas de morfología angular, individuales o en grupo, distribuidas multifocalmente en los diferentes fascículos, así como internalización de mionúcleos y alteraciones citoarquitectónicas (Valentine et al., 1994).

Aun así, algunos autores (Palencia, Quiroz-Rothe, & Rivero, 2005) aseguran que la debilidad muscular en algunas ocasiones puede que no se deba sólo a la atrofia y disminución en la masa muscular por la denervación, sino que posibles daños en la transmisión neuromuscular y acoplamiento excitación-contracción, son también factores que podrían intervenir.

2.4.4 OJO

Las manifestaciones oculares de la EMND se han descrito (Jackson et al., 1996) como una retinopatía presente en aproximadamente el 30% de los casos con esta enfermedad.

En el examen antemortem, con la observación del fondo de ojo, se puede advertir un patrón mosaico con deposición de lipofuscina en el fondo tapetal y una banda horizontal de pigmento en el cruce con el fondo no tapetal (Figs. 4 y 5). Para confirmar esta lesión anteriormente descrita, en el examen histopatológico se examina con detenimiento la retina. En esta se puede apreciar una pérdida de neuronas en las diferentes capas, así como la presencia de lipofuscina en distintas localizaciones tales como, células endoteliales, neuronas y células del epitelio pigmentario (Riis et al., 1999).

Todas estas lesiones, podrían ser debidas a que la vitamina E es particularmente importante como agente antioxidante, como ya hemos citado anteriormente, y esta juega una papel muy importante en la protección de la retina, debido a su alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados, alta tasa de metabolismo oxidativo y el aumento de la peroxidación lipídica por exposición a la luz. Cuando hay deficiencia de vitamina E y estrés oxidativo, aparecen acúmulos indigeribles de lipofuscina en el citoplasma de algunas células. La lipofuscina es pigmento de color pardo-amarillo bajo luz óptica, o autofluorescente bajo luz UV, derivado de la peroxidación de lípidos poliinsaturados de las membranas celulares. Estos distintivos cambios oculares, se pueden considerar patognomónicos y son bastante útiles para establecer un diagnóstico antemortem (Verhulst, Barnett, & Mayhew, 2001). Además, esta prueba podría detectar en caballos vivos su situación ante el riesgo de padecer esta enfermedad. Estas lesiones en algunos casos son tan graves que la visión, especialmente la visión nocturna, puede quedar afectada, pero rara vez es informado por los propietarios, ya que no se dan cuenta (T. Divers et al., 2001).

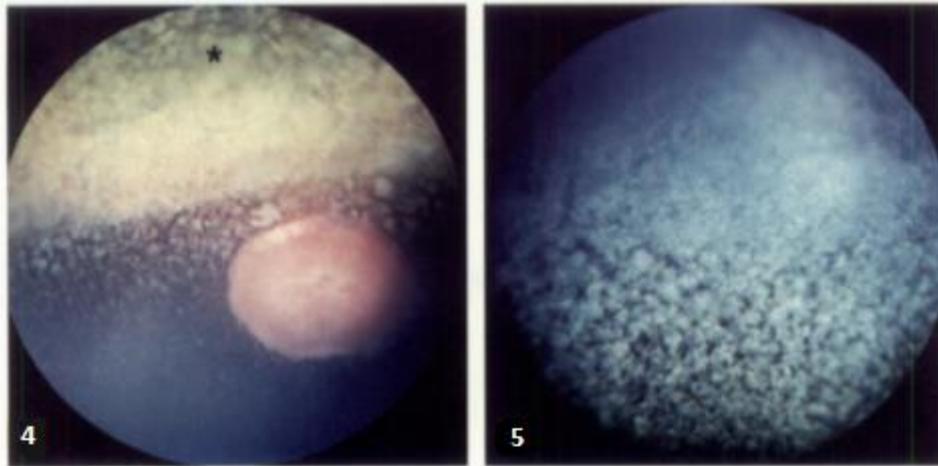


Fig. 4 Fotografía del fondo de ojo en un caballo afectado crónicamente con EMND. Se observan depósito de pigmento, este aparece como una acumulación difusa de color amarillo-marrón en toda la zona tapetal. **Fig.5** Fotografía del fondo de ojo de un caballo con EMND avanzada. En este individuo, la acumulación de pigmento aparece como una mezcla de lesiones difusas y reticuladas. (T. J. Divers et al., 2006)

2.4.5 OTRAS POSIBLES LESIONES

El hallazgo esporádico de lipofuscina en el hígado y en el intestino de algunos caballos con EMND apoyaría la hipótesis de que algunos órganos aparte de los anteriormente citados, podrían presentar daño por estrés oxidativo causados por una deficiencia de vitamina E prolongada (T. J. Divers et al., 2006).

2.5 DIAGNOSTICO DIFERENCIAL

Las enfermedades más importantes que debería incluir el diagnóstico diferencial de EMND son las siguientes:

- La **Mieloencefalopatía degenerativa equina** (EDM) (Finno et al., 2016) es otra enfermedad neurodegenerativa en caballos que también está asociada a la deficiencia de vitamina E. A diferencia de la EMND, los animales afectados por esta enfermedad presentan una ataxia simétrica de las cuatro extremidades la cual empieza en los primeros meses de edad. Histopatológicamente, la EDM se caracteriza por degeneración axonal pronunciada en el sistema somatosensorial.
- **Rabdomiolisis**. Es una enfermedad muscular (Chamizo & López Rivero, 2009) cuya etiología puede ser muy amplia. El tipo de rabdomiolisis que se asemejaría más a la EMND serían la de tipo crónico o recurrente. Como en la EMND, en los casos más graves de rabdomiolisis, se observa la presencia de fasciculaciones, temblores, miotonía y calambres, sobre todo durante el ejercicio. También pueden manifestar trastornos de la locomoción como, rigidez de la marcha, acortamiento del tranco, intolerancia al ejercicio, excesiva fatigabilidad y oposición para moverse. Algunos

autores (A. Muñoz, Lucas, Satué, & Benito, 2002) aseguran que la rabdomiolisis crónica está causada por procesos complejos y multifactoriales, en los que habría que considerar, entre otros, el déficit de vitamina E.

- El **Botulismo**. La toxiinfección botulínica (Swerczek, 1980) producida por *Clostridium botulinum* tipo B causa un síndrome de parálisis neuromuscular tanto en potros como en caballos adultos. Como en la EMND, puede aparecer, alteración en la marcha y temblores musculares. Aun así, a estos signos clínicos se les suma disfagia, contipación, midriasis y poliuria. La mayoría de los caballos mueren entre las 24-72 horas posteriores a la aparición de los síntomas.
- El **Síndrome de disautonomía equina** es también una (T. Divers, 1999) enfermedad neurodegenerativa en caballos jóvenes que causa lesiones tanto al SNC como en el sistema nervioso periférico (SNP), afectando de forma acusada el aparato digestivo y cursando con cólicos. Como la EMND, produce pérdida de peso, postura anormal, temblores musculares, sudoración y recumbencia prolongada pero en los caballos con esta enfermedad no aparece atrofia muscular. Esta enfermedad (Wylie & Proudman, 2009) suele afectar a animales que salen al pasto. A diferencia de la EMND, se considera que la causa de esta patología es la producción de toxinas por parte de *Clostridium botulinum* en el tracto digestivo, las cuales afectan a los plexos mientéricos.

2.6 EMND MODELO ANIMAL PARA LA ELA

Como ya hemos citado anteriormente la EMND se considera uno de los modelos animales más semejantes a la ELA. Se piensa (Reed et al., 2009) que la causa de ambas enfermedades podría estar relacionadas con los daños oxidativos, pero aun con todo no existe ningún tratamiento eficaz para ninguna de las dos enfermedades ni se sabe la causa exacta.

Por otra parte, a diferencia de la EMND, la ELA es hereditaria en aproximadamente el 10% de los casos, y el 20% de los pacientes con ELA hereditario presenta una mutación de la porción Cu/Zn superóxido dismutasa en el gen 1 (Reed et al., 2009). Esta metaloenzima es uno de los principales agentes antioxidantes cuya función es proteger al sistema nervioso de las lesiones oxidantes. Este gen mutado altera la función fisiológica de esta enzima que se encarga de neutralizar los radicales libres (principalmente el superóxido) que se producen en el estrés oxidativo celular. A diferencia del ELA en la EMND no se ha encontrado esta mutación descrita anteriormente, pero el denominador común de estas dos enfermedades parece estar relacionado con procesos aumentados de estrés oxidativo, en unos casos por déficits de

antioxidantes, o en otros por disfunción de los mecanismos fisiológicos de neutralización de los radicales libres que se producen en los procesos metabólicos de las neuronas afectadas.

La cuestión de porqué esta enfermedad afecta a las motoneuronas de forma tan selectiva aún no se ha descubierto. Aun así, podría estar relacionado con que las motoneuronas son particularmente susceptibles a los daños oxidativos ya que presentan unos axones muy largos y precisan de elevados requerimientos de energía, además, la alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados en la membrana de las células neuronales hace a estas, células particularmente susceptibles a la peroxidación lipídica.

2.7 DIAGNÓSTICO

Los **signos clínicos y la historia clínica** citados en los apartados anteriores podrían ayudar en el diagnóstico de EMND en algunos de los casos. Así como, **la exploración oftalmológica**, ya que nos puede revelar lesiones en el fondo de ojo consideradas patognomónicas para esta enfermedad.

Según (T. J. Divers et al., 2006) los casos con EMND, presentan diversos **hallazgos laboratoriales** que podrían considerarse relevantes a la hora del diagnóstico de esta enfermedad. Algunos de los datos son:

- La actividad de las enzimas AST y CK (enzimas musculares) en suero aumentan moderadamente.
- La concentración en el plasma de vitamina E aparece disminuida (menos de 1ug/ml).
- El selenio se encuentra dentro de los niveles normales.
- La ferritina sérica aparece frecuentemente elevada en caballos con esta enfermedad.
- La concentración de cobre localizado en la médula espinal en caballos que padecen esta enfermedad aparece elevada en comparación con las muestras control.
- El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) en caballos con EMND, presenta una elevada concentración de IgE en aproximadamente el 50% de los casos.

Por otro lado, la **electromiografía (EMG)** de los músculos cervicales, faciales, del tríceps, las extremidades posteriores y la base de la cola podría ser útil en los casos agudos (Furr & Reed, 2015). Los caballos con EMND a menudo, presentan hallazgos de EMG anormales incluyendo una actividad de inserción prolongada y actividad espontánea patológica tal como potenciales de fibrilación y ondas agudas positivas. En ocasiones, los artefactos de movilidad resultan un inconveniente a la hora de realizar esta prueba por ello, es conveniente sedar al animal y si es necesario, aplicarle anestesia general o anestesia epidural caudal. No obstante, los cambios

electromiográficos, podrían ser difíciles de evaluar ya que estos, son inespecíficos y se podrían esperar en cualquier enfermedad nerviosa periférica, miopatía o miositis.

En el 50% de los caballos con EMND el test **de absorción de la glucosa** es anormal, es decir, la absorción de glucosa después de realizar este test aparece disminuida. Sin embargo, en algunos casos estudiados (van der Kolk, Johannes H et al., 2005) en el examen histopatológico posterior del intestino delgado no se encontró ninguna lesión intestinal relevante.

En este mismo estudio (van der Kolk, Johannes H et al., 2005) se afirmó que el decrecimiento de la curva de glucosa que aparecía en el test realizado en caballos con EMND, podría ser debido a un aumento del metabolismo oxidativo de la glucosa. Con este hallazgo, se planteó la hipótesis de que este aumento del metabolismo oxidativo pudiera ser dado por una disminución de la concentración de vitamina E en el plasma, cosa que ya sabemos que es típico en esta patología.

Otra técnica, para confirmar el diagnóstico antemortem es el **examen del músculo o la biopsia de los nervios periféricos** (Reed et al., 2009). Una biopsia del músculo *Sacrocaudalis dorsalis medialis* (Fig. 6) es muy fácil de obtener con el caballo en estación y el estudio histológico de este músculo puede revelar cambios consistentes de atrofia muscular por denervación. La sensibilidad y la especificidad de esta prueba para el diagnóstico de EMND son casi del 90 %. En el caso de la biopsia de nervios periféricos, se suele incidir en el tronco ventral del nervio accesorio espinal y generalmente, esta operación se realiza bajo anestesia general. La biopsia de nervios periféricos suele ser más sensible en los casos crónicos.

Aunque todas estas pruebas nombradas anteriormente nos acerquen al diagnóstico de la EMND, el diagnóstico definitivo de esta enfermedad sólo se puede hacer postmortem. Únicamente en el examen postmortem, se pueden evidenciar las diferentes lesiones localizadas en la médula espinal, el bulbo raquídeo, núcleo ambiguo y el músculo esquelético.

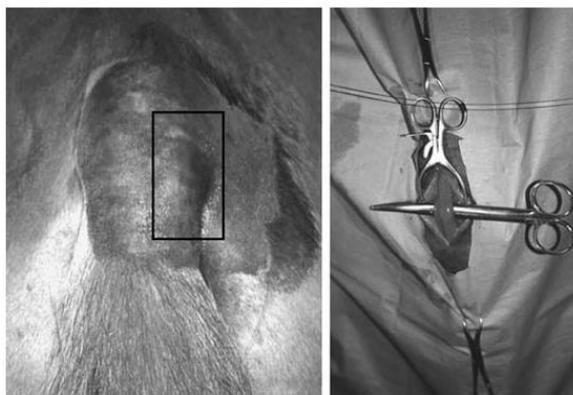


Fig 6. Localización sobre la base de la cola de la zona donde se realiza la biopsia (rectángulo de la imagen izquierda) y el aislamiento, elevación, y eliminación de una sección (imagen de la derecha) del músculo sacrocaudalis dorsalis. (T. J. Divers et al., 2006)

2.8 TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

Actualmente, ningún tratamiento para EMND ha resultado exitoso (Reed et al., 2009). En los casos agudos, una dosis antiinflamatoria de corticoides o un tratamiento de antioxidantes no específicos con DMSO (Dimetil Sulfoxido) podrían ser beneficiosos (T. Divers et al., 2001). El tratamiento aplicado a esta enfermedad se basa principalmente en el daño oxidativo que origina y las bajas concentraciones de vitamina E en plasma.

Por este motivo, una de las opciones es el tratamiento con vitamina E (5000-7000 UI/caballo/día). Este tratamiento podría ser beneficioso ya que consigue aumentar la concentración en vitamina E en el plasma. Sin embargo, la recuperación completa es improbable porque la muerte neuronal es irreversible. El tratamiento con vitamina E se utiliza con la finalidad de mejorar considerablemente los signos clínicos y se piensa que la respuesta a este tratamiento depende del número de neuronas que están dañadas versus las que están muertas. Por desgracia, actualmente no hay ninguna prueba diagnóstica para poder determinar la calidad neuronal en caballos vivos.

Para la prevención de esta enfermedad, en aquellos caballos que tienen acceso limitado o nulo al prado verde o al heno de buena calidad, se recomienda dar suplementos de vitamina E. La dosis recomendada de suplementación es de 2000UI/día de acetato de dl- α -tocopherol.

Por otra parte, en los caballos que tienen riesgo de desarrollar EMND, está recomendada la monitorización periódica de las concentraciones de vitamina E en el plasma (T. Divers et al., 2001). Además, si un caballo en un establo desarrolla EMND, la suplementación con vitamina E debe ser proporcionada a todos los caballos que hayan recibido la misma dieta, ya que es posible que aunque no tengan síntomas, presenten una forma asintomática.

2.9 PRONÓSTICO

El pronóstico es malo para el caballo que quiera volver a su rendimiento anterior y tendrá que ser vigilado de por vida (Mayhew, 1989). Aunque existen investigaciones no publicadas con respecto a la tasa de supervivencia y el seguimiento de los caballos con EMND, generalmente los caballos con EMND se ha demostrado que suelen cursar con una de las tres posibles formas clínicas descritas anteriormente. Aproximadamente un 20% de los caballos afectados cursan con un deterioro continuo, debilidad severa y decaimiento. En estos casos, se recomienda practicar la eutanasia. En aproximadamente un 40% de los caballos afectados los signos clínicos parecen estabilizarse. Sin embargo, estos caballos nunca recuperan la masa muscular y pueden desarrollar anomalías en la marcha. Si estas anomalías clínicas continúan

durante un tiempo prolongado, normalmente se practica la eutanasia del caballo. El tercer grupo de caballos (aproximadamente un 40%), muestran mejoría después de la administración del tratamiento con vitamina E, y algunos pueden recuperar la masa muscular. Estos caballos pueden llegar a estabilizarse, es decir, permanecer normales en un periodo de entre 1 a 6 años o más. Sin embargo, cabe la posibilidad de que recaigan en la enfermedad y normalmente terminan en eutanasia. En estos caballos, la recaída aparece asociada a la vuelta al ejercicio y esto podría ser debido a la muerte prematura inducida por el ejercicio de las neuronas restantes (Furr & Reed, 2015).

3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Tal y como hemos comentado previamente, la EMND es una patología expandida mundialmente cuyo origen hasta día de hoy se puede considerar desconocido. Algunos autores (Reed et al., 2009)(T. J. Divers et al., 2006) citan algunas etiologías que podrían causar o incrementar el riesgo de padecer esta enfermedad pero ninguno de ellos asegura con exactitud cuál podría ser el motivo etiológico. Además, la necesidad de realizar diferentes pruebas laboratoriales seriadas, monitorización del caballo y aparataje de diagnóstico muy específico hace que el diagnóstico de las enfermedades de carácter neurológico en campo sea muy difícil y sea necesario el ingreso en un hospital veterinario especializado.

Por otra parte, como ya hemos dicho en apartados anteriores, se sabe que el diagnóstico definitivo de esta patología sólo puede realizarse postmortem. Para ello, es necesario realizar la necropsia del animal y un examen anatomopatológico riguroso de cada uno de los hallazgos patognomónicos para esta enfermedad. Por esta razón, el diagnóstico preciso y documentado de la misma, requiere del trabajo de especialistas en lesiones del sistema nervioso, que solo suelen encontrarse en centros altamente especializados como Hospitales veterinarios públicos o privados que dispongan de las infraestructuras y del personal cualificado adecuados para dichos fines.

Por suerte, los dos casos documentados y diagnosticados incluidos en este trabajo, fueron remitidos al HVUZ, en el transcurso de mi estancia como estudiante interna en el área de grandes animales del mismo hospital y nos pareció interesante poder profundizar sobre esta enfermedad neurológica para la que aún no se sabe su etiología su diagnóstico antemortem es complicado y por supuesto, no existe un tratamiento eficaz que detenga el proceso.

A todo esto, se suma la estrecha relación entre la enfermedad objeto de nuestro estudio con una enfermedad humana que últimamente ha tenido un gran impacto mediático y social, la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA). Es por eso, y debido a las similitudes que comparten ambas enfermedades que la comunidad científica ha propuesto esta enfermedad como modelo animal para estudiar el ELA.

La incidencia de esta enfermedad en la población española es de 1 por cada 50.000 habitantes y la prevalencia es de 1/10.000 (esto significa que unos 40.000 españoles desarrollarán la ELA durante su vida). En España, actualmente se diagnostican unos 900 casos nuevos por año, es decir, que aparecen de 2 a 3 casos nuevos por día, y cabría recordar que al igual que la EMND, el ELA, no tiene aún ni una etiología confirmada ni un diagnóstico preciso ni por supuesto, un tratamiento eficaz que detenga el grave proceso degenerativo neuromuscular que sufre el paciente.

Nuestros objetivos, son:

- 1) Profundizar en los conocimientos de esta enfermedad neurológica mediante una revisión bibliográfica.
- 2) Comparar los datos bibliográficos extraídos de la revisión con la información de los casos clínicos expuestos en este trabajo.
- 3) Comprender y ampliar los conocimientos de la patofisiología de la EMND así como en su diagnóstico “antemortem” y “postmortem”.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 METODOLOGÍA BIBLIOGRÁFICA

Para realizar la revisión bibliográfica se ha realizado una búsqueda de información sobre la EMND en distintas bases de datos. En formato digital se ha buscado información sobre todo en inglés pero también en castellano, de artículos de revistas, páginas web y conferencias usando plataformas y repositorios tales como Google Académico, Ivis, Science Direct y Pubmed. A su vez, se han consultado libros y artículos científicos de la Biblioteca de la Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Para la búsqueda se han utilizado las siguientes palabras clave: equine motor neuron disease, equine neurology, equine intern medicine. Finalmente, para ordenar y

escribir las referencias bibliográficas se ha utilizado la base de datos Ref Works, la cual está vinculada directamente con los buscadores anteriores.

4.2 METODOLOGÍA ANIMAL

El HVUZ disponía de dos casos documentados cuyos animales eran: por un lado, un potro Hannoveriano de 2 años, entero y de capa negra, remitido por adelgazamiento progresivo. Y por otro lado, un caballo cruzado, adulto de 19 años de edad, castrado y de capa castaña, remitido por el mismo motivo. Ambos caballos estuvieron monitorizados durante 5 días en el hospital para poder controlar la evolución y desarrollo de la enfermedad así como su diagnóstico.

4.3 EXAMEN CLÍNICO

A la llegada de los animales se les realizó un examen completo y se evaluó el estado en el momento del ingreso. En el examen inicial se observó: apariencia general, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, mucosas, tiempo de relleno capilar, peso, pulso digital, peristaltismo en los cuatro cuadrantes, así como posibles alteraciones de los aparatos musculoesquelético, cardiovascular, respiratorio, gastrointestinal, genitourinario y nervioso. También se realizaron análisis rutinarios de hematología sanguínea (hemograma completo) hepatograma y pruebas bioquímicas de funcionalidad renal.

4.4 PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

- Examen neurológico: En este se procedió sistemáticamente a comprobar, una secuencia que comienza en la cabeza y sigue caudalmente hasta la cola, con el animal en estación. El examen se describe de acuerdo al siguiente orden. Primero la cabeza, donde se valoró, la actitud, el estado mental, la postura y la coordinación y los nervios craneales. Seguidamente, la marcha y postura, el cuello y miembros anteriores, el tronco y miembros posteriores. Y finalmente, cola y ano (Furr & Reed, 2015).
- Ecografía abdominal: Esta prueba se realizó con el animal en la estación, contenido en el potro de contención del HVUZ y bajo sedación ligera con una dosis de Romifidina (0,03-0,08 mg/Kg). El examen ecográfico se llevó a cabo mediante una sonda convexa de 5 MHz y con un ecógrafo (Z- One, ZONARE Medical Systems Inc, California, EEUU).
- Prueba de absorción de glucosa: La preparación previa del animal para esta prueba consiste en la determinación del peso de este y el mantenimiento en ayuno 12 horas previas a la realización de la prueba. El acceso a agua se permitió hasta 2 horas antes de la misma. Se preparó 1g/kg del peso corporal de D-glucosa anhidra o monohidratada, en una

solución. Se obtuvo una muestra de sangre inmediatamente antes de la prueba (tiempo 0). La solución completa se administró mediante una sonda nasogástrica (T. Divers, Ducharme, & Mair, 2003). Las muestras de sangre se obtienen a los 30, 60, 90, 120 y 180 minutos y se remitieron al laboratorio para determinar la glucemia. Los caballos se pueden dividir en tres grupos sobre la base de los resultados de la prueba de absorción a la glucosa ("Laboklin - Labor Für Klinische Diagnostik"):

- a) Absorción normal: en el intestino delgado sin disfunción se producirá un pico de glucemia en las primeras 2 horas >85% del nivel basal, seguido de una disminución progresiva provocada por la liberación de insulina. Los niveles de glucosa en plasma se deben normalizar dentro de las siguientes 6 horas.
 - b) Malabsorción parcial: se produce un pico menor de glucemia de aproximadamente entre el 15-85% del nivel basal a las 2 horas de la administración del bolo. Se pueden observar ligeros picos de glucemia después del primero.
 - c) Malabsorción total: el pico de glucemia a las 2 horas de la administración no supera el 15% del nivel basal o es inapreciable
- Examen fondo de ojo: este examen se realizó con el caballo en estación y bajo sedación con una dosis de Romifidina (0,03-0,08 mg/Kg). Una vez el caballo estuvo sedado se le administraron gotas oftalmológicas de un midriático en ambos ojos (Tropicamida) para facilitar el examen del fondo de ojo.

Para tal fin, se utilizó la cámara Smartscope Vet 2®- Optomed (Francia). Este equipo nos facilitó la exploración del fondo del ojo y nos permitió obtener imágenes de la zona tapetal y no tapetal de la retina en alta resolución.

4.5 OTRAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

- Laparoscopia exploratoria. El procedimiento laparoscópico se realizó con los animales de pie (en estación), bajo neuroleptoanalgesia y ubicados en un potro de contención para caballos. Los caballos fueron sedados con un bolo de Romifidina (0,03-0,08 mg/Kg) y Butorfanol (0,02 mg/Kg) y el mantenimiento de la sedación durante el procedimiento quirúrgico comenzó con una dosis inferior a la habitual (0,05-0,08 mg/Kg) y, si fue necesario, se fue aumentando con bolos adicionales hasta alcanzar el plano adecuado. La inserción de cánulas laparoscópicas en la pared abdominal se realizó previa infiltración subcutánea e intramuscular de anestésico local (10- 20 ml de Lidocaína al 2% por punto). Los animales recibieron cobertura antibiótica perioperatoria (22.000 UI/Kg de Penicilina

Sódica IV cada 6 h y 6,6 mg/Kg de Gentamicina IV cada 24 h) y Flunixin Meglumine (1,1 mg/Kg cada 12 h o Fenilbutazona (2,2 mg/Kg cada 12 h) desde antes de la intervención y durante al menos 48 h post-cirugía. Para la realización de los procedimientos laparoscópicos se ha empleado el siguiente equipamiento laparoscópico: - Laparoscopio de 57 cm, 0° y 11 mm (Hopkins 62032AP, Karl Storz GmbH & Co. KG, Tuttlingen, Alemania). Las zonas de intervención fueron rasuradas y preparadas de manera aséptica colocándose a continuación los paños quirúrgicos de grandes dimensiones con el objetivo de aislar las zonas contaminadas tanto del animal como del potro de contención donde estaba alojado. Durante la intervención se exteriorizó un tramo de yeyuno y se tomó una biopsia de espesor y perímetro completo del mismo. Todos los procedimientos se realizaron de manera estéril, respetando las medidas de asepsia en todo momento (Vázquez Bringas & Giral, 2015).

4.6 METODOLOGÍA ANATOMOPATOLÓGICA

Ante la sospecha de que los animales presentaran EMND y el deteriorado estado de los dos caballos incluidos en el estudio, se procedió bajo el consentimiento del propietario a la eutanasia humanitaria de ambos animales.

Una vez realizada la necropsia del animal, se extrajeron las muestras de las localizaciones más relevantes descritas en la bibliografía, tales como, encéfalo, médula espinal, músculo y nervios periféricos y retina. Un dato importante, es que en el caso número 2 (Lucero) inmediatamente después de la muerte del caballo se decidió inyectar una cantidad suficiente de formol al 10% a través de la cisterna magna. Esta técnica permitió conservar el tejido nervioso adecuadamente para su posterior análisis.

Las muestras dichas se fijaron en formol al 10 %, se tallaron y se procesaron para su tratamiento histológico mediante deshidratación e inclusión en parafina y posterior formación de bloques. De estos bloques, tras ser refrigerados y desbastados, se obtuvieron cortes histológicos de 4 micras de grosor, que fueron posteriormente teñidos por la técnica de Hematoxilina Eosina (HE) siguiendo el protocolo que se detalla a continuación:

- Desparafinado. Consiste en 2 pases por xilol durante 10 minutos cada uno de ellos.
- Hidratación. Se sumergen los portas en concentraciones decrecientes de alcoholes 5 min cada. Se trata de 4 pases, los 2 primeros en alcohol 100 °, el siguiente en 96 ° y el último de 70 °.
- Agua corriente. Durante 5 minutos, para eliminar los restos de alcohol.

En este momento, se aplicó la técnica histológica:

- Tinción Hematoxilina – Eosina (HE). Se introducen las muestras en Hematoxilina durante 15 minutos. Al ser básica tiñe las estructuras ácidas (núcleo), aportando una coloración azul y púrpura. Después, se deja con agua corriente el tiempo necesario para retirar el exceso del primer colorante y se sumerge en Eosina durante 15 segundos. Ésta teñirá los componentes básicos (citoplasma), impregnándolos de tonos rosas, por su naturaleza aniónica.

Finalmente, las muestras realizadas se observaron mediante microscopio óptico. Adicionalmente, las muestras de ojo se observaron bajo iluminación ultravioleta.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 RESULTADOS EXAMEN CLÍNICO

Caso 1: Sandro Blue (Fig. 7)

La exploración inicial no reveló hallazgos patológicos excepto caquexia extrema, edema en prepucio y parte distal de extremidades posteriores. El peso del animal a su llegada fue de 276kg mientras que el último peso anotado fue de 269kg.

Los resultados del hematocrito y proteínas totales fueron 39% y 5,8 gr/dl, respectivamente. En el perfil bioquímico sólo se observó el calcio total y la albúmina por debajo de sus niveles normales (10.3 mg/dl y 2mg/dl, respectivamente). La densidad de orina fue normal.



Fig. 7



Fig.7 Sandro blue (Caso 1). Presenta una postura anormal, se puede observar la flacidez muscular en la zona cervical y la caquexia severa.

Fig. 8 Lucero (Caso 2). Presenta una caquexia severa, atrofia muscular generalizada y decaimiento.

Caso 2: Lucero (Fig. 8)

La exploración inicial no reveló hallazgos patológicos excepto caquexia extrema, atrofia muscular generalizada, actitud nerviosa y sudoración.

Los resultados del hematocrito y proteínas totales fueron 35% y 6 gr/dl, respectivamente. En el perfil bioquímico no se detectó ningún hallazgo anormal, mientras que en el hemograma se observó una moderada leucopenia (neutropenia leve y linfopenia severa). La densidad de orina observada fue normal.

5.2 RESULTADOS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Caso 1: Sandro Blue

- **Examen neurológico:** Presentaba una actitud buena y su estado mental estaba en alerta presentando un apetito voraz. Al examen de los pares craneales, no presentó ninguna alteración. La posición del animal en estación era anormal, su cabeza aparecía inclinada hacia abajo y los miembros posteriores estaban metidos debajo del abdomen. En cambio, los movimientos de la cabeza mediante estimulación eran correctos. En la marcha, con el caballo tanto al paso como al trote no presentaba ninguna alteración. Se pudo observar que presentaba debilidad en los miembros posteriores pero no presentaba ataxia. A simple vista el caballo parecía débil y se observaba una atrofia muscular generalizada.
- **Ecografía abdominal** se observó engrosamiento de la pared de intestino delgado (0.56 cm) y asas de intestino con motilidad pero moderadamente distendidas.
- **Prueba de absorción de glucosa:** se observó que su nivel basal de glucosa era de 80mg/dl y el pico máximo se alcanzaba con 130mg/dl a los 90 minutos del inicio de la prueba. El pico máximo debería ser de 148mg/dl, por lo que el animal presentaba una malabsorción parcial (73%).
- **Laparoscopia exploratoria:** no se observó ningún hallazgo anormal. Con el tramo de yeyuno extraído se confirmó por palpación un ligero engrosamiento de la pared observado anteriormente en la ecografía. Se tomó una biopsia del yeyuno para su posterior análisis anatomopatológico. El potro presentaba un cuadro Enfermedad Intestinal Inflamatoria, de la que, por las pruebas realizadas hasta ese momento, parecía que se podía descartar como causas un origen neoplásico o una enteropatía proliferativa. Los hallazgos histológicos observados apuntaban a una enteropatía linfocitaria plasmocítica.

Caso 2: Lucero

- Examen neurológico: el animal presentaba una actitud apática y su estado mental era de alerta aunque algo soporoso o ligeramente depresivo. Al examen de los pares craneales, no presentaba alteración alguna. La posición del animal en estación era anormal, su cabeza aparecía inclinada hacia abajo y los miembros posteriores estaban remetidos debajo del abdomen. En la marcha, con el caballo tanto al paso como al trote no presentaba ataxia ni déficits de propiocepción aunque se observó una evidente debilidad muscular sobre todo en el tren posterior. El aspecto general del animal era de aparente debilidad con una atrofia muscular generalizada bastante severa.
- Ecografía abdominal: no se reveló ningún hallazgo importante.
- Test de absorción de la glucosa: su nivel basal de glucosa era de 106mg/dl y el pico máximo se alcanzó con 176 mg/dl a los 90 minutos del inicio de la prueba. El pico máximo debería ser de 196 mg/dl, lo que implica una malabsorción parcial (76%). (Fig.9).
- Examen fondo de ojo: Se observó un patrón mosaico de pigmento marrón en el fondo tapetal del ojo, este hallazgo es típico de la EMND. (Fig.10)

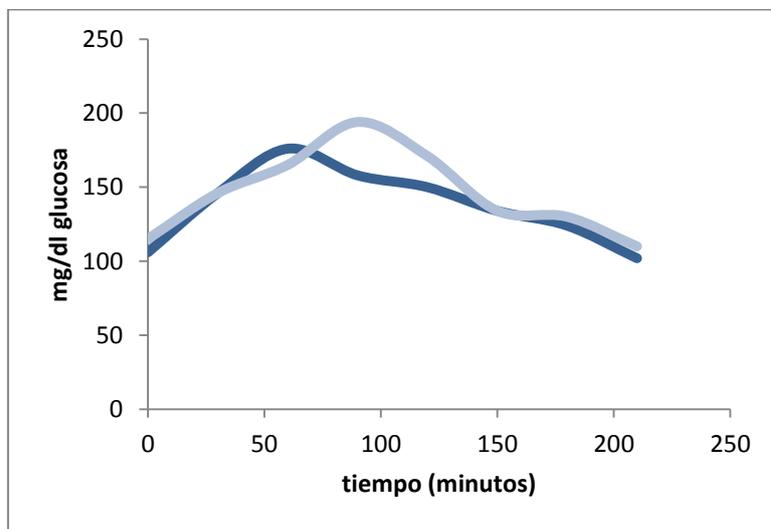


Fig. 9 Representación gráfica donde aparece la evolución de dos tests de absorción de glucosa. En azul marino, aparece representado el test de absorción de glucosa de Lucero (Caso 2). En azul cielo aparece representada una aproximación de lo que sería un test normal de absorción de glucosa en este mismo caballo, en el cual, el pico de glucosa a las 2 horas debería ser de 196 mg/dl y no de 176 mg/dl.

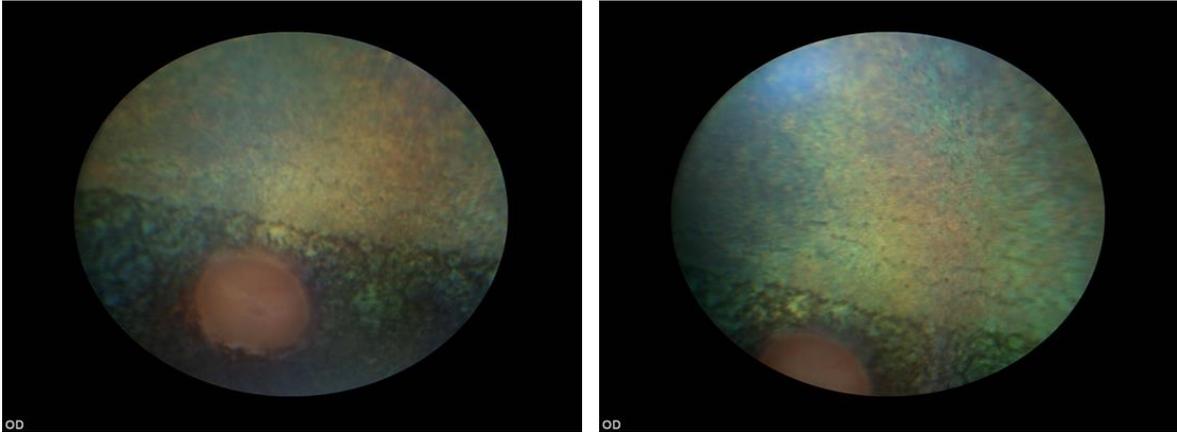


Fig. 10: Fotografía del fondo de ojo de Lucero (caso 2). Se observa el patrón mosaico en la zona tapetal.

5.3 RESULTADOS ANATOMOPATOLÓGICOS

Caso 1: Sandro Blue

▪ Lesiones macroscópicas:

El animal presentaba varias zonas de piel depilada en diversos salientes óseos. Se observó una acentuada depleción de los depósitos grasos del animal en cualquier localización orgánica (subcutánea, mesentérico, mediastino, grasa pericárdica, grasa de la médula renal). El intestino aparecía congestivo y muchos tramos intestinales aparecían engrosados por edema.

▪ Lesiones microscópicas:

El **sistema nervioso central** presentaba lesiones degenerativas, especialmente severas en diversos fragmentos de la médula espinal. Estas lesiones eran vacuolización del soma neuronal y degeneración de diferente intensidad en las neuronas motoras presentes en el asta ventral de la sustancia gris. También se observó cromatolisis, picnosis, muerte y desaparición neuronal, las cuales pueden llegar a ser muy severas, dependiendo del segmento de médula estudiado. El encéfalo presentaba focos de astrocitosis multifocal. Muchos de los nervios periféricos estudiados presentaban abundantes mixedema perineural.

El **intestino** en general mostraba una infiltración celular crónica e intensa constituida por células redondas (linfocitos, plasmáticas y macrófagos) que estaban situadas en la lámina propia y en la submucosa tanto del intestino delgado como del grueso, acompañadas de intenso edema. Aparecían grupos de células macrófagicas en la submucosa intestinal y la formación de neovasos en la lámina propia muy acusada. También, había ulceraciones multifocales del epitelio que se acompañan de hemorragias y edema en la submucosa subyacente. Además, había presencia de necrosis fibrinoide en los vasos. Se observó una atrofia y pérdida

generalizada de vellosidades en muchos tramos intestinales. La capa muscular externa intestinal estaba muy alterada, con disgregación evidente, llegando en algunos casos a la ruptura de fibras.

▪ Diagnóstico:

Degeneración de neuronas motoras de la médula espinal, de carácter grave. Edema en los nervios periféricos. Enteritis crónica asociada a la presencia de múltiples parásitos gastrointestinales.

Caso 2: Lucero

▪ Lesiones macroscópicas:

Médula espinal: desde C1 a C5 se observó una cavidad dilatada, comunicada con el cuarto ventrículo, la cual afectaba las astas dorsales que disminuían progresivamente hasta desaparecer a nivel de C5-C6. Aparente Siringomielia (Fig. 11).

▪ Lesiones microscópicas

Encéfalo: presencia multifocal a difusa de lesiones degenerativas, especialmente a nivel del tronco del encéfalo afectando principalmente la médula oblongada. Estas lesiones consisten en la presencia de numerosas neuronas con marcado acúmulo de lipofuscina y presencia de neuronas picnóticas, cromatolíticas y ocasionalmente degeneradas de forma multifocal en diferentes núcleos. De forma multifocal se observaron cuerpos de Lafora acompañado de gliosis, especialmente afectando núcleos dorsolaterales de la médula oblongada. Otros cambios difusos incluyen leve a moderada gliosis con activación de microglia, leve fibrosis perivascular y ligero edema intersticial con dilatación ocasional de los espacios de Virchow-Robin. Tal como se menciona

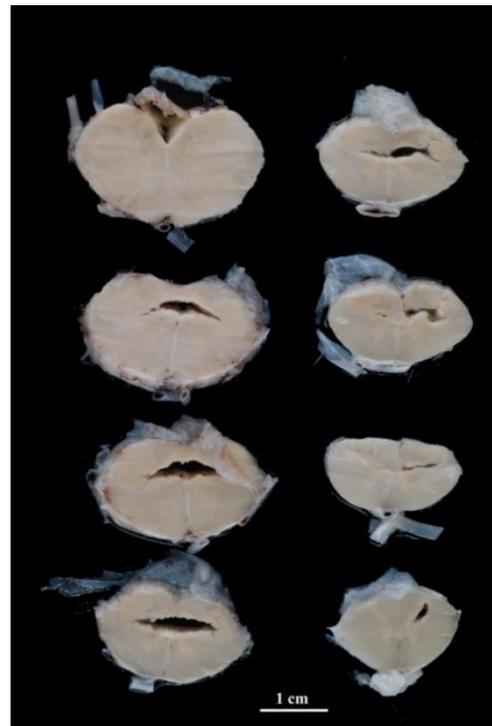


Fig. 11: Fotografía de la médula oblongada y médula espinal C1-C5. Aparente Siringomielia

previamente, las lesiones se presentaron de forma más marcada a nivel de la médula oblongada y disminuían de intensidad desde esta zona hacia el tálamo. Otros cambios degenerativos relacionados con la edad incluyen fibrosis de plexos coroideos. Distensión leve a moderada del cuarto ventrículo y acueducto mesencefálico.

Médula espinal: a nivel de los segmentos cervicales, desde C1 hasta C5 se observó una marcada distensión y ruptura del canal central que va disminuyendo progresivamente de tamaño. Esta distensión no se acompañaba de edema ni alteraciones remarcables en el parénquima adyacente. En estos segmentos se observó una moderada fibrosis leptomeníngea y distensión del espacio subaracnoideo. De forma difusa, en la sustancia gris de todos los segmentos espinales, se observó una disminución del número de motoneuronas presentes en el asta ventral (Fig.12). Las motoneuronas presentes mostraban lesiones degenerativas de intensidad variable que incluían frecuente acúmulo de lipofuscina, presencia ocasional de somas neuronales dilatados con pérdida de gránulos de Nissl (neuronas fantasma), picnosis y cromatolisis (Fig. 14 y 13) Otros cambios en la sustancia gris incluían una leve a moderada gliosis (Fig.13) con activación de microglía y presencia ocasional de cuerpos de Lafora. En la sustancia blanca los cambios son menos marcados e incluyen presencia ocasional de vainas de mielina dilatadas y raramente alguna cámara de digestión, así como espongirosis en la parte externa del funículo ventral únicamente en los segmentos lumbares.

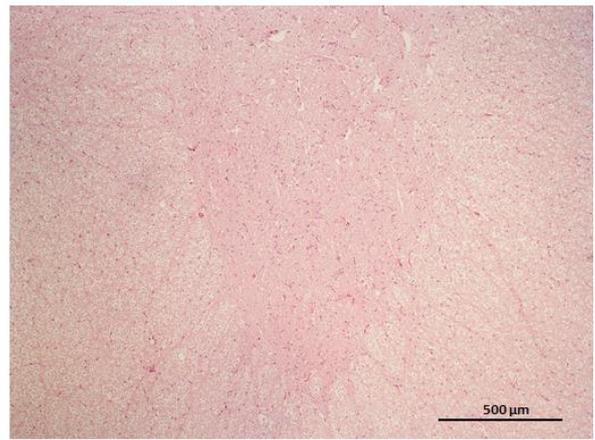
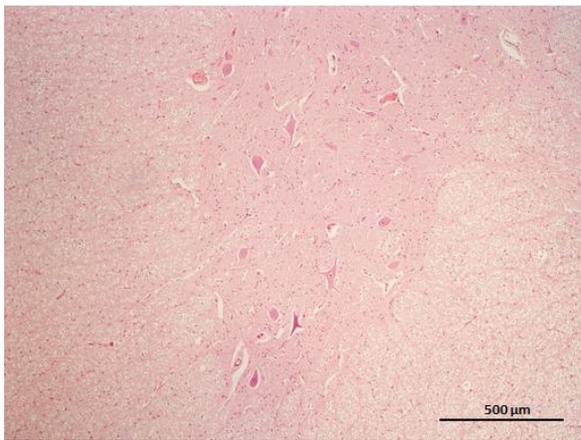


Fig 12. Microfotografía del Asta ventral de médula espinal, segmento cervical. Densidad de motoneuronas normal o levemente disminuida (izquierda) vs marcada pérdida de motoneuronas (derecha). Tinción: Hematoxilina eosina (HE).

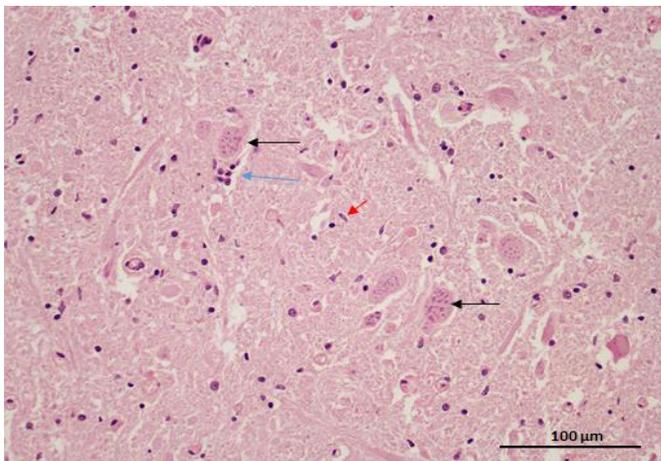


Fig.13 Microfotografía del asta ventral de la médula espinal. Múltiples motoneuronas cromatolíticas/atigradas con agregación anómala de gránulos de Nissl (flechas negras). Moderada gliosis difusa con presencia ocasional de nódulos gliales (flecha azul) y activación de microglía (flecha roja). Tinción: HE.

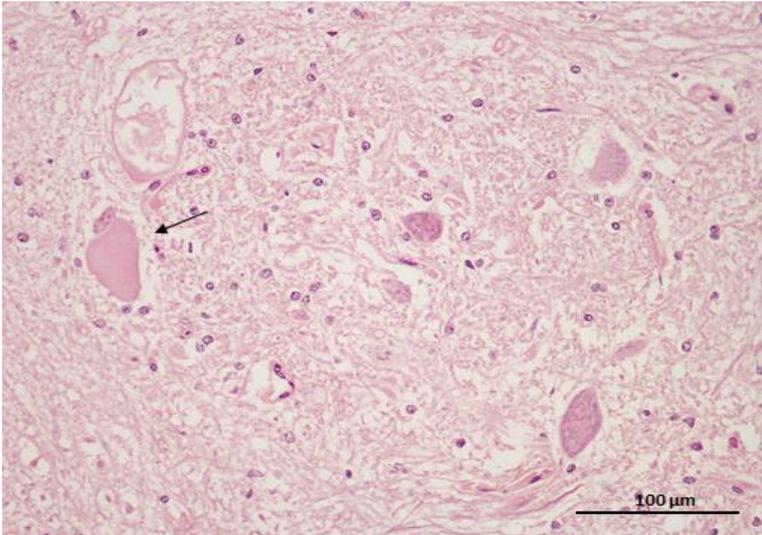


Fig. 14 Microfotografía de la médula espinal. Se observa una neurona fantasma (degenerada) con tumefacción del soma y pérdida completa de gránulos de Nissl (flecha). Tinción: HE

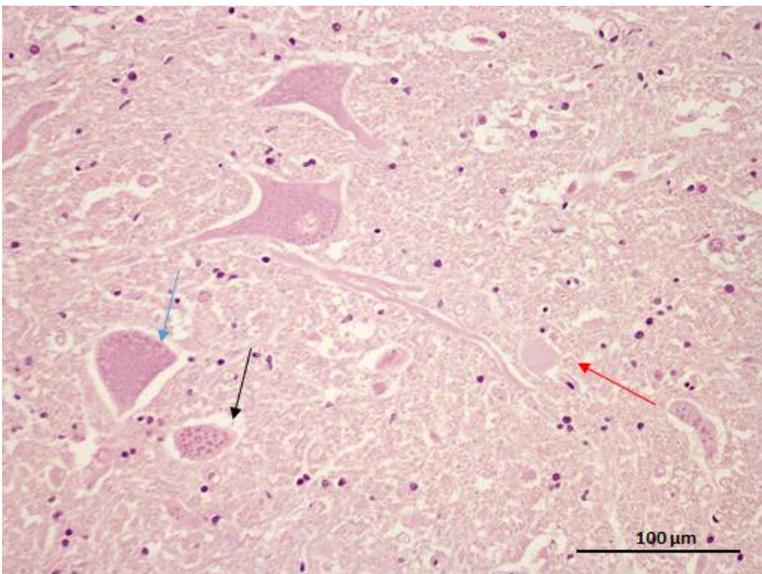


Fig. 15 Microfotografía de la médula espinal. Se observan 3 motoneuronas normales (flecha azul), 2 motoneuronas cromatolíticas/atigradas con agregación anómala de gránulos de Nissl (flecha negra) y 1 neurona fantasma caracterizada por desaparición de los gránulos de Nissl (flecha roja). Tinción: (HE).

Nervios periféricos: Radial: presentaba intensa fibrosis perineural y marcada pérdida de fibras en la mayoría de los fascículos con presencia de numerosos cuerpos de Renaud (Fig.16) y presencia de vainas de mielina dilatadas. Ciático: aparecían cambios menos intensos que en el nervio radial que incluyen, dependiendo del fascículo examinado, leve a moderada pérdida de fibras nerviosa y presencia ocasional de algunas vainas de mielina dilatadas. Accesorio: ligero edema mixoide ocupando el espacio subperineural y presencia de pequeños cuerpos de Renaud en el endoneuro, con la consiguiente disminución de la densidad de fibras nerviosas en los fascículos afectados, así como alguna vaina de mielina dilatada.

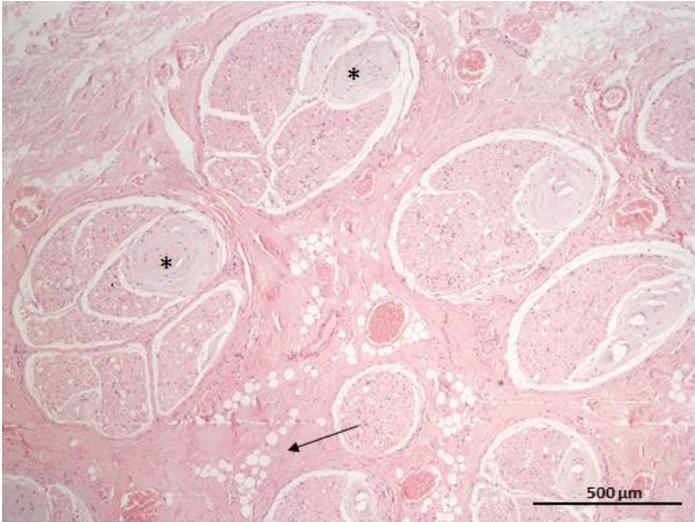


Fig. 16 Microfotografía de una sección transversal del nervio radial. Presenta una intensa fibrosis perineural (flecha negra). Dentro de los diferentes fascículos se observa presencia de Renaud bodies (*) subperineurales, leve a moderada disminución de la densidad de fibras mielínicas así como presencia de múltiples vainas de mielina dilatadas. Tinción: HE

Músculos:

-Músculo extremidad anterior (tríceps): de forma multifocal afectando los diferentes fascículos del músculo tríceps se observaron numerosas fibras atróficas de morfología angular formando pequeños grupos (atrofia neurogénica) (Fig.17).

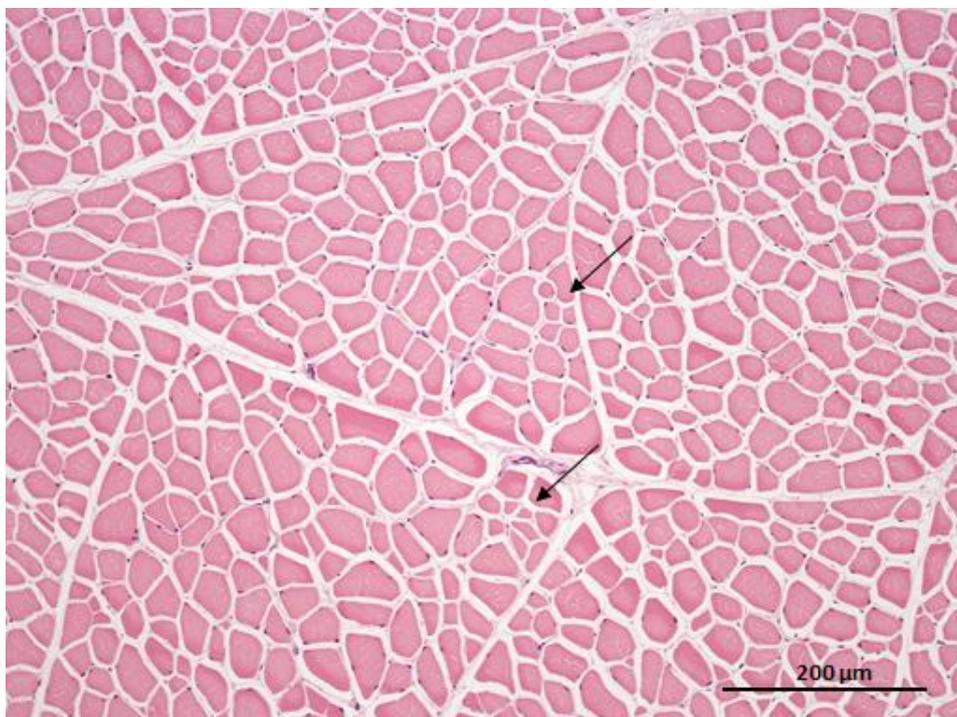


Fig.17 Microfotografía de una sección transversal del músculo tríceps braquial. Se observa una moderada variación del diámetro de miofibras en los diferentes fascículos. Nótese la presencia de pequeños grupos de fibras atróficas de morfología poligonal/angular (atrofia neurogénica) distribuidos multifocalmente. Tinción: HE

-Músculo extremidad posterior (cuádriceps): los cambios eran leves y únicamente incluyen la ocasional de algunas fibras atróficas de morfología poligonal distribuidas multifocalmente en los diferentes fascículos, o muy raramente, agrupadas en pequeños clusters.

-Músculo sacroilíaco: presencia multifocal de fibras atróficas de morfología poligonal formando pequeños grupos y algunas fibras hipereosinofílicas.

Ojos: de forma multifocal a difusa se observó una atrofia entre moderada y severa de la retina con pérdida de neuronas en las diferentes capas (Fig.18). De forma difusa las células del epitelio pigmentario de la retina presentaban hipertrofia e hiperplasia, haciendo protrusión en el espacio subretiniano (tombstoning) y ocasionalmente ocupando este espacio y extendiéndose a la retina en las áreas más atróficas y desorganizadas. Muchas de las células del epitelio pigmentario presentaban el citoplasma marcadamente distendido y ocupado por un pigmento refringente, amarillento a marrón, que presenta autofluorescencia bajo luz ultravioleta (UV), consistente con acúmulos de lipofuscina (Fig.19)

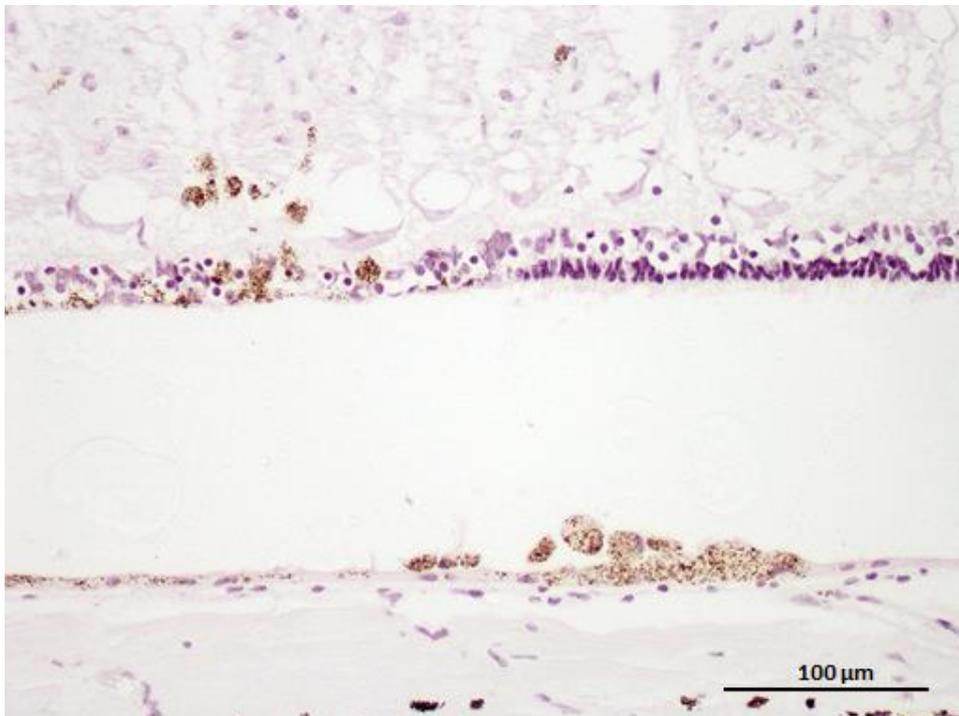


Fig. 18 Microfotografía de la retina donde se observa una atrofia de la retina con pérdida de neuronas en las diferentes capas. De forma difusa las células del epitelio pigmentario de la retina presentan hipertrofia e hiperplasia, haciendo protrusión en el espacio subretiniano (tombstoning (flecha negra)) y ocasionalmente ocupando este espacio y extendiéndose a la retina en las áreas más atróficas y desorganizadas. Muchas de las células del epitelio pigmentario presentan el citoplasma marcadamente distendido y ocupado por un pigmento refringente, amarillento a marrón.

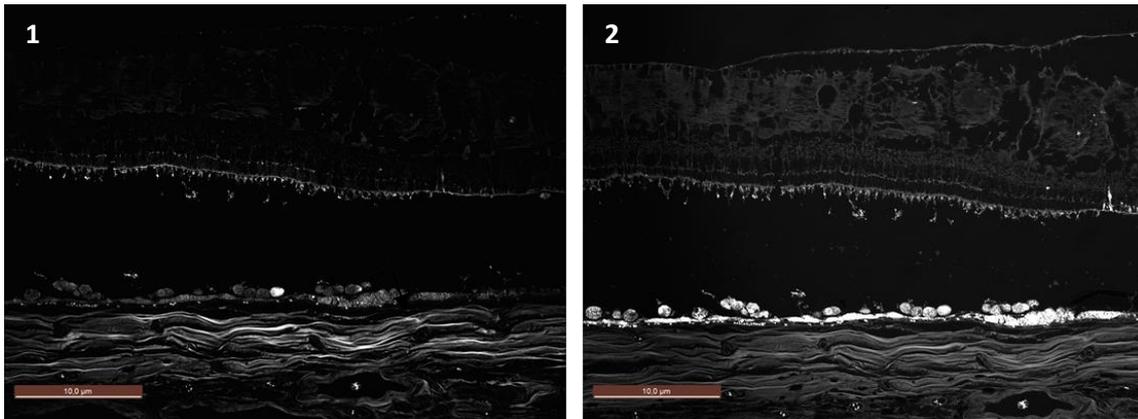


Fig. 19 Microfotografía de la retina. Imagen en blanco y negro de la retina del caso 2 bajo luz óptica (1) y ultravioleta (2). En la imagen 2 las áreas brillantes (flecha) representan la señal autofluorescente de los acúmulos de lipofuscina en células del epitelio pigmentario bajo luz ultravioleta.

▪ Diagnóstico:

Degeneración de neuronas motoras de la médula espinal, de carácter moderado. Neuropatía degenerativa con pérdida de fibras, leve (accesorio y ciático) a moderada (radial). Atrofia neurogénica multifocal en el músculo tríceps, moderada. Retinopatía degenerativa con hiperplasia del epitelio pigmentario y acúmulos de lipofuscina.

5.4 DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio retrospectivo de 2 casos clínicos se ha basado en analizar los aspectos etiopatogénicos, clínicos, diagnósticos e histopatológicos de cada uno de los casos para corroborar nuestro diagnóstico de EMND con la bibliografía existente.

En lo que se refiere a los factores de riesgo de esta enfermedad, en nuestro estudio la edad no es un factor significativo ya que, el “caso 1” era un animal joven de 2 años de edad y el “caso 2” era un animal adulto de 19 años. Al contrario, un estudio realizado con 163 caballos para observar los diferentes factores de riesgo de la EMND, concluye que la probabilidad de EMND aumenta con la edad alcanzando el pico máximo a los 16 años y después esta, disminuye (de La Rua-Domenech et al., 1995). Sin embargo, años más tarde Divers publica un artículo en el que describes casos clínicos donde la EMND aparece a partir de los 2 años (T. J. Divers et al., 2006).

Tal y como hemos comentado previamente otro factor de riesgo es el déficit de vitamina E, el cual según trabajos publicados puede deberse al acceso limitado al pasto (T. J. Divers, Cummings, de Lahunta, Hintz, & Mohammed, 2006). Sin embargo, otros autores señalan que

este déficit vitamínico puede ser la consecuencia de otros factores tales como una malabsorción debido a una enfermedad intestinal según (Furr & Reed, 2015), o bien por la presencia de agentes oxidantes para los que se requiera una elevada cantidad de vitamina E con el fin de ser neutralizados (McGorum et al., 2006). En nuestro trabajo, el primer caballo tenía acceso al pasto, sin embargo el segundo caso seguía una alimentación a base de pienso compuesto y heno. Por lo que en el “caso 1” el déficit de vitamina E podría ser la consecuencia de un proceso de malabsorción debido a la Enfermedad Intestinal Inflamatoria que manifestaba. Sin embargo, en el “caso 2” cualquiera de las teorías que hemos mencionado puede ser válida.

En cuanto a la sintomatología de la fase subaguda, los temblores, las fasciculaciones musculares, la adopción de posturas anormales, la amiotrofia de las extremidades posteriores, la sudoración, la recumbencia prolongada y la pérdida de peso son los signos más característicos (T. J. Divers et al., 2006). En nuestro caso, a pesar de que ninguno de los dos animales presentaron ni temblores ni fasciculaciones musculares, sí que mostraron el resto de los signos clínicos descritos por Divers (T. J. Divers et al., 2006), aunque la caquexia y la postura de base estrecha característica fueron los más destacables.

En lo que concierne a las pruebas laboratoriales realizadas, el test de absorción de glucosa puede verse alterado en un 50% de los casos con EMND (van der Kolk, Johannes H et al., 2005). Van der Kolk plantea en 2005 la hipótesis de que el decrecimiento manifiesto de la curva de glucosa en caballos con EMND puede ser debido a un aumento del metabolismo oxidativo de la glucosa, que a su vez se ve modificado por una disminución de la concentración de vitamina E en el plasma. En nuestro caso, confirmando esta teoría, los dos animales presentaron una malabsorción parcial: en el “caso 1” del 73% y en el “caso 2” del 76%.

Además, aunque no se realizó una biopsia del nervio espinal para confirmar el diagnóstico antemortem, debemos tener en cuenta que se trata de una prueba de gran valor diagnóstico antemortem ya que su especificidad y sensibilidad son del 94%(Jackson et al., 1996). Por lo que consideramos que en casos sospechosos de padecer EMND, sería interesante realizar esta biopsia con el fin de establecer un buen diagnóstico de esta enfermedad.

Uno de los hallazgos más fiables para el diagnóstico antemortem de esta enfermedad, es la observación del fondo de ojo en alta resolución. Un estudio que describe el uso de esta técnica para el diagnóstico de EMND (Riis et al., 1999), señala la presencia de un patrón mosaico de pigmento marrón (lipofuscina) localizado en la retina. Este hallazgo se considera como signo clínico patognomónico de EMND (Verhulst et al., 2001). En nuestro estudio, sólo se pudo realizar una observación del fondo de ojo en el “caso 2”, ya que el HVUZ no disponía del

equipo oftalmológico específico para realizar esta técnica diagnóstica cuando el “caso 1 fue atendido.

Finalmente, para el diagnóstico definitivo de EMND se realizó el examen postmortem de los animales. En el “caso 1”, las lesiones anatomopatológicas que se observaron, tales como, lesiones degenerativas en la médula, cromatolisis, muerte neuronal y mixedema perineural, son compatibles con la EMND según (Weber Polack et al., 1998). Además, el fallo de las neuronas motoras provocó atrofia muscular neurogénica y adelgazamiento del animal, a pesar de conservar el apetito. Por otro lado, en el “caso 2” las lesiones observadas también son compatibles con la EMND, especialmente la pérdida de neuronas motoras observadas en algunos de los segmentos espinales examinados (Reed et al., 2009). No obstante, cabe destacar que dada la avanzada edad del animal las lesiones presentes pueden estar acentuadas por los cambios asociados a la vejez. Por ejemplo, las lesiones oculares están también presentes en casos de retinopatía equina senil (Dubielzig, Ketring, McLellan, & Albert, 2010), así como la presencia de “Renout bodies” en el nervio radial. Estos últimos se interpretan como una adaptación del nervio al estrés mecánico como por ejemplo presión o aplastamiento, y se ha descrito en animales seniles (Furuoka et al., 1998). La siringomielia observada macroscópicamente, dada la ausencia de cambios en el tejido adyacente (Sponseller et al., 2011), se trata de un cambio artefactual posiblemente asociado a un aumento de la presión en el canal central durante la inyección de formol realizada posteriormente a la eutanasia. A parte de las lesiones encontradas en el sistema nervioso, hallamos también lesiones inflamatorias a nivel del intestino delgado en el “caso 1”, estas lesiones, se encuentran en 5 de cada 15 casos de EMND (T. Divers et al., 1994) y todos los caballos que presentan esta forma de la enfermedad son caballos jóvenes (Díez de Castro et al., 2016). Además, en un estudio realizado en ratas, se ha descrito que la deficiencia de vitamina E y de selenio causan enteritis eosinofílica (Hong & Chow, 1988). Por lo tanto, podría existir una relación de causa-efecto bidireccional entre el déficit de vitamina E y la inflamación intestinal.

6. CONCLUSIONES

- I. La EMND es un desorden neurodegenerativo cuya etiología aún se desconoce. Aun así, existen varios factores de riesgo que aumentan la susceptibilidad de desarrollar EMND, el más importante de ellos es la deficiencia crónica de antioxidantes como la vitamina E

- II. A pesar de que los signos clínicos son muy variables, en nuestros dos casos la postura de base estrecha adoptada por el caballo, la caquexia así como la atrofia muscular por denervación han sido los síntomas comunes presentados por ambos animales que y consideramos característicos de esta enfermedad.
- III. Con el fin de realizar un diagnóstico presuntivo antemortem de EMND, dada la especificidad de la biopsia del nervio accesorio y de la observación del fondo del ojo, ambas pruebas deberían realizarse en todos los casos clínicos sospechosos de padecer esta enfermedad.
- IV. Las lesiones anatomopatológicas más destacadas en nuestros dos casos son por un lado la pérdida de motoneuronas en el asta ventral de la médula espinal y, por otro lado la atrofia muscular neurogénica por denervación.
- V. Tanto las lesiones que afectan al sistema nervioso central como las lesiones encontradas en el aparato digestivo (Enfermedad intestinal inflamatoria) podrían estar asociadas por un déficit de vitamina E.
- VI. A pesar de que en nuestros casos clínicos los factores de riesgo de la EMND difieren, como por ejemplo la edad y la alimentación, en ambos casos se pudo llegar a diagnóstico definitivo postmortem de EMND.

6.1 CONCLUSIONS

- I. EMND is a neurodegenerative disorder with a unknown etiology. Even so, there are several risk factors that increase the susceptibility of developing EMND, the most important of the chronic deficiency of antioxidants such as vitamin E.
- II. Although the clinical signs are very variable, in our cases the narrow base position adopted by the horse, cachexia as well as denervation muscle atrophy have been the common symptoms presented by the animals that are considered characteristic of this disease.
- III. In order to perform a presumptive antemortem diagnosis of EMND, given the specificity of the accessory nerve biopsy and the observation of the fundus of the eye, both tests should be performed in all clinical cases suspected of having this disease
- IV. The most prominent anatomopathological lesions in our two cases are, on the one hand, loss of motor neurons in the ventral horn of the spinal cord and, on the other hand, neurogenic muscular atrophy due to denervation.
- V. Both lesions affecting the central nervous system and lesions found in the digestive tract (inflammatory bowel disease) may be associated with a vitamin E deficiency.

- VI. Despite the fact that in our clinical cases the risk factors of EMND differ, such as age and feeding, in both cases a definitive diagnosis of EMND could be reached.

7. VALORACIÓN PERSONAL

La realización de este trabajo me ha permitido profundizar en un tema muy concreto como no lo había hecho durante los estudios de grado, la neurología equina y sobretodo, la enfermedad de la motoneurona equina.

El estudio de los casos clínicos me ha ayudado a saber relacionar la información bibliográfica con casos clínicos reales y saber cómo llegar a un diagnóstico claro ya que es una enfermedad que tiene unas lesiones y signos clínicos muy variados, que pueden no aparecer en todos los casos. También me ha permitido conocer la especialidad de la anatomía patológica veterinaria, campo fundamental en la confirmación de muchas patologías que no pueden diagnosticarse únicamente por la clínica que presentan, pero que combinadas con ésta, son más sencillas de definir. Además, al conocer las lesiones que producen las enfermedades sobre el organismo, resulta más fácil relacionar la etiopatogenia con la sintomatología clínica.

Por último, me ha permitido profundizar en mis conocimientos en inglés ya que, al usar bibliografía de manera casi exclusiva en ese idioma, he ganado agilidad en lectura y léxico, sobre todo técnico.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. A. Muñoz, A., Lucas, R., Satué, K., & Benito, M. (2002). Miopatías en el caballo I. rabdomiolisis agudas y recurrentes. *Medicina Veterinaria*, (3).
2. Chamizo, V. E., & López Rivero, J. L. (2009). Síndrome de rabdomiólisis de esfuerzo en caballos atléticos: Aspectos clínico-patológicos, etiopatogénicos y epidemiológicos. *Equinus: Publicación De Información Y Práctica Veterinaria Equina*, 9(24), 16-43.
3. de La Rúa-Domenech, R., Mohammed, H., Cummings, J., Divers, T., De Lahunta, A., Valentine, B., . . . Jackson, C. (1995). Incidence and risk factors of equine motor neuron disease: An ambidirectional study. *Neuroepidemiology*, 14(2), 54-64.

4. Díez de Castro, E., Zafra, R., Acevedo, L., Pérez, J., Acosta, I., Rivero, J., & Aguilera-Tejero, E. (2016). Eosinophilic enteritis in horses with motor neuron disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(3), 873-879.
5. Divers, T. J., Cummings, J. E., de Lahunta, A., Hintz, H. F., & Mohammed, H. O. (2006). Evaluation of the risk of motor neuron disease in horses fed a diet low in vitamin E and high in copper and iron. *American Journal of Veterinary Research*, 67(1), 120-126.
6. Divers, T. J., Mohammed, H., Hintz, H., & De Lahunta, A. (2006). Equine motor neuron disease: A review of clinical and experimental studies. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 5(1), 24-29.
7. Divers, T. (1999). Comparing equine motor neuron disease (EMND) with equine grass sickness (EGS). *Equine Veterinary Journal*, 31(2), 90-91.
8. Divers, T., Lahunta, A. d., Hintz, H., Riis, R., Jackson, C., & Mohammed, H. (2001). Equine motor neuron disease. *Equine Veterinary Education*, 13(2), 63-67.
9. Divers, T., Mohammed, H., Cummings, J., Valentine, B., Lahunta, A. d., Jackson, C., & Summers, B. (1994). Equine motor neuron disease: Findings in 28 horses and proposal of a pathophysiological mechanism for the disease. *Equine Veterinary Journal*, 26(5), 409-415.
10. Divers, T., Ducharme, N., & Mair, T. (2003). *Manual de gastroenterología equina Inter-Médica*,.
11. Dubielzig, R. R., Ketring, K. L., McLellan, G. J., & Albert, D. M. (2010). *Veterinary ocular pathology: A comparative review* Elsevier Health Sciences.
12. Finno, C., Miller, A., Sisó, S., Divers, T., Gianino, G., Barro, M., & Valberg, S. (2016). Concurrent equine degenerative myeloencephalopathy and equine motor neuron disease in three young horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 30(4), 1344-1350.
13. Furr, M., & Reed, S. (2015). *Equine neurology* John Wiley & Sons.

14. Furuoka, H., Okamoto, R., Kitayama, S., Asou, S., Matsui, T., & Miyahara, K. (1998). Idiopathic peripheral neuropathy in the horse with knuckling: Muscle and nerve lesions in additional cases. *Acta Neuropathologica*, 96(4), 431-437.
15. Hong, C., & Chow, C. (1988). Induction of eosinophilic enteritis and eosinophilia in rats by vitamin E and selenium deficiency. *Experimental and Molecular Pathology*, 48(2), 182-192.
16. Jackson, C., Lahunta, A. D., Cummings, J., Divers, T., Mohammed, H., Valentine, B., & Hackett, R. (1996). Spinal accessory nerve biopsy as an ante mortem diagnostic test for equine motor neuron disease. *Equine Veterinary Journal*, 28(3), 215-219.
17. "Laboklin - Labor Für Klinische Diagnostik". *SÍNDROME DE MALABSORCIÓN EN EL CABALLO*. N.p., 2016. Web.
18. Matsuo, H., Morita, T., Ito, R., Kikuchi, K., Shimada, A., Hikasa, Y., & Amaya, T. (2009). Pathological study of neurodegenerative process of equine motor neuron disease. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 39(4), 414-414.
19. Mayhew, I. G. (1989). *Large animal neurology: A handbook for veterinary clinicians*. Lea & Febiger.
20. McGorum, B., Mayhew, I., Amory, H., Deprez, P., Gillies, L., Green, K., . . . Hahn, C. (2006). Horses on pasture may be affected by equine motor neuron disease. *Equine Veterinary Journal*, 38(1), 47-51.
21. Palencia, P., Quiroz-Rothe, E., & Rivero, J. L. (2005). New insights into the skeletal muscle phenotype of equine motor neuron disease: A quantitative approach. *Acta Neuropathologica*, 109(3), 272-284.
22. Reed, S. M., Bayly, W. M., & Sellon, D. C. (2009). *Equine internal medicine* Elsevier Health Sciences.

23. Riis, R. C., Jackson, C., Rebhun, W., Katz, M. L., Loew, E., Summers, B., . . . Mohammed, H. (1999). Ocular manifestations of equine motor neuron disease. *Equine Veterinary Journal*, 31(2), 99-110.
24. Sponseller, B. A., Sponseller, B. T., Alcott, C. J., Kline, K., Hostetter, J., Reinertson, E. L., & Fales-Williams, A. (2011). Syringohydromyelia in horses: 3 cases. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 52(2), 147-152.
25. Swerczek, T. W. (1980). Toxicoinfectious botulism in foals and adult horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 176(3), 217-220.
26. Valentine, B. A., de Lahunta, A., George, C., Summers, B. A., Cummings, J. F., Divers, T. J., & Mohammed, H. O. (1994). Acquired equine motor neuron disease. *Veterinary Pathology*, 31(1), 130-138.
27. van der Kolk, Johannes H, Rijnen, K. E., Rey, F., Graaf-Roelfsema, E. d., Grinwis, G. C., & Wijnberg, I. D. (2005). Evaluation of glucose metabolism in three horses with lower motor neuron degeneration. *American Journal of Veterinary Research*, 66(2), 271-276.
28. Vázquez Bringas, F. J., & Giral, B. (2015). Repositorio institucional de documentos.
29. Verhulst, D., Barnett, K., & Mayhew, I. (2001). Equine motor neuron disease and retinal degeneration. *Equine Veterinary Education*, 13(2), 59-61.
30. Weber Polack, E., King, J. M., Cummings, J. F., de Lahunta, A., Divers, T. J., & Mohammed, H. O. (1998). Quantitative assessment of motor neuron loss in equine motor neuron disease (EMND). *Equine Veterinary Journal*, 30(3), 256-259.
31. Wylie, C. E., & Proudman, C. J. (2009). Equine grass sickness: Epidemiology, diagnosis, and global distribution. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 25(2), 381-399.