



**XIII REUNIÓN  
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE  
ANATOMÍA PATOLÓGICA VETERINARIA**

**Facultat de Veterinària  
Universitat Autònoma de Barcelona  
28 y 29 de Junio 2001**

COMITÉ ORGANIZADOR

Mariano Domingo Álvarez  
Lluís Ferrer i Caubet  
Dolors Fondevila i Palau  
Alessandra Fondati  
Alberto Marco Valle  
Martí Pumarola i Batlle  
Rosa M. Rabanal i Prados  
Antonio Jose Ramis Salva  
Joaquim Segalés i Coma  
Natalia Majó i Masferrer

COLABORADORES

Cultek  
Pacisa Giralt SA  
La Caixa

# PROGRAMA GENERAL

## 28 – 29 de junio de 2001

- **Jueves 28 de Junio**

8:30 – 9:30 h : Registro y entrega de documentación

9:30 – 11:00 h: Ponencia. Dr. Dominique Dormont

11:00 – 11:30 h: Pausa / Café mañana

11:30 – 13:30 h: Primera sesión de comunicaciones: Enfermedades infecciosas y parasitarias en especie porcina, bovina y ovina

13:30 – 15:00 h: Almuerzo – Autoservicio Facultad

15:00 – 17:00 h: Segunda sesión de comunicaciones: Neoplasias y enfermedades cutáneas

17:00 – 17:30 h: Pausa / Café tarde

17:30 – 18:30 h: Ponencia. Dr. Juan José Badiola

18:30 – 19:30 h: Recepción Cóctel de Bienvenida – Facultad de Veterinaria

21:00 Visita a l'Aquàrium de Barcelona

- **Viernes 29 de Junio**

9:30 – 11:00 h: Tercera sesión de comunicaciones: Encefalopatías espongiiformes en animales

11:00 – 11:30 h: Pausa / Café mañana

11:30 – 12:30 h: Ponencia: Dr. Isidre Ferrer

12:30 – 13:30 h Mesa Redonda: Encefalopatía Espongiforme Bovina

13:30 – 15:00 h: Almuerzo - Autoservicio Facultad

15:00 – 16:00 h: Asamblea SEAPV

16:00 – 16:30 h: Pausa / Café tarde

16:30 – 17:30 h: Cuarta sesión de comunicaciones: Miscelania

17:30 – 19:00 h: Discusión de casos y pósters

21:30 Cena de Clausura

## PROGRAMA CIENTÍFICO

### JUEVES 28

#### **9:30 – 11:00 h: PRIMERA PONENCIA**

Transmissible spongiform encephalopathies: pathogenesis and etiologic agents.

Profesor Dr. Dominique Dormont. Departement de Research Medicale.

Service de Neurovirologie. Centre de Recherches du Service de Sante des Armeés. Fontenay aux Roses Cedex

Moderadores: Prof. Dres. Mariano Domingo y Martí Pumarola

#### **11:30 – 13:30 h: PRIMERA SESIÓN DE COMUNICACIONES:**

Enfermedades infecciosas y parasitarias en las especies porcina, bovina y ovina

**Primera parte.** Moderadores: Dres. Librado Carrasco y Joaquim Segalés

1. APOPTOSIS DE TIMOCITOS EN LA PESTE PORCINA CLÁSICA: MECANISMOS IMPLICADOS. Sánchez-Cordón, y col. Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. \*Dpto. Patología Animal, FAV.Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.
2. PATOGENIA DE LA PESTE PORCINA AFRICANA: PRODUCCIÓN DE CITOQUINAS POR LOS MACROFAGOS PULMONARES. Núñez, F.J y col. Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO. E-mail: [an1caotl@uco](mailto:an1caotl@uco).
3. CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS LESIONES LIFOIDES EN TEJIDOS DE CERDOS INFECTADOS DE FORMA NATURAL POR PCV2. F. Chianini<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA) – Departament de Sanitat i Anatomia Animals. Universitat Autònoma de Barcelona. <sup>2</sup>Dpto. de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Valdeolmos .
4. ESTUDIO PATOLÓGICO DE CERDOS INOCULADOS CON EL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRSV) Y CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 (PCV2). A. Rovira<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>CReSA – Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. Barcelona. <sup>2</sup>Fort Dodge Veterinaria, S.A., Dept. R&D, 17813 Vall de Bianya, Girona.
5. TUBERCULOSIS POR *Mycobacterium bovis* EN CERDO IBÉRICO. González Fernández, J y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. \*NEIKER. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Derio. Vizcaya.
6. INMUNOCARACTERIZACIÓN DE LAS LESIONES PULMONARES ASOCIADAS A LA INFECCIÓN NATURAL POR *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* EN GANADO PORCINO. Sarradell J<sup>1</sup>, y col. 1. Patol. Gral., Fac. de Cs. Veterinarias-UNR-Argentina 2. Dpto. Anat. y Anat.

Patol. Comp., Fac. de Veterinaria-UCO. 3. Dpto. de Morfología, Anat. y Anat. Patol. Comp., Fac. de Veterinaria-ULPGC. 4 Epidemiología y Medicina Preventiva, Dpto. de Patología Animal, Fac. de Veterinaria-ULPGC.

**Segunda Parte.** Moderadores: Dres. Valetín Pérez y Luís Luján

7. RELACIÓN ENTRE LOS TIPOS LESIONALES Y LA RESPUESTA A PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO EN LA PARATUBERCULOSIS BOVINA. González Fernández, J y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
8. VALORACIÓN DE NUEVOS ADYUVANTES EN LA VACUNACIÓN FRENTE A PARATUBERCULOSIS EN CORDEROS. Reyes, L. E y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
9. ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO, INMUNOHISTOQUÍMICO Y DE PCR EN TRES OVEJAS CON METÁSTASIS EXTRATORÁNICAS ASOCIADAS A ADENOMATOSIS PULMONAR OVINA. B. Moreno y col. NEIKER (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario), Derio, Vizcaya. \*Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Zaragoza
10. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DEL HÍGADO Y GANGLIOS HEPÁTICOS DE OVEJAS REINFECTADAS CON *Fasciola hepatica* CON Y SIN TRATAMIENTO. J. Pérez, y col. Dept. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. (3) Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Cátedra de Parasitología, (2) Unidad de Anatomía Patológica Veterinaria. Facultad de Veterinaria de Lugo.

#### **15:00 – 17:00 h: SEGUNDA SESIÓN DE COMUNICACIONES**

Neoplasias y enfermedades cutáneas

**Primera parte.** Moderadores: Dras. Elena Mozos y Alessandra Fondati

11. ADENOMAS BASALIOIDES DE LA GLÁNDULA MAMARIA EN TRES PERRAS Javier Ordás y col. Dpto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba. C.V. Thor (Córdoba) C.V. Centauro (Alcorcón) C.V. Caní Córsega (Barcelona). Dpto. de Ciencias Morfológicas. ULPG (Las Palmas de Gran Canaria).

12. CARCINOMA MATRICIAL (PILOMATRICOMA MALIGNO) METASTÁSICO. Borràs Murcia D.<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>Citopat Veterinaria SL, Barcelona. <sup>2</sup> Hospital Veterinario Taco, Taco, Sta. Cruz de Tenerife.
13. LIPOSARCOMA ÓSEO CANINO. DESCRIPCIÓN DE UN CASO. Borràs Murcia D.<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>Citopat Veterinaria SL, Font del Remei 28-30, 08023-Barcelona. <sup>2</sup> Clínica Veterinaria Gramenet, Sta. Coloma de Gramenet, Barcelona.
14. LINFOMA MALIGNO ANGIOTRÓPICO ASOCIADO A LEISHMANIOSIS EN UN PERRO DE RAZA DOBERMANN. Rodríguez-Bertos y col. Dpto Patología Animal II. Hospital Clínico Veterinario. Facultad de Veterinaria. UCM. Madrid. [arbetos@eucmax.sim.ucm.es](mailto:arbetos@eucmax.sim.ucm.es)
15. ESTUDIO CLINICO-PATOLÓGICO DE UN SCHWANOMA MÚLTIPLE CUTÁNEO EN CABALLO Martín, M.P y col. Departamentos de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y \* Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Córdoba.

**Segunda Parte.** Moderadores: Dres. Marta González y José Antonio Navarro

16. LINFANGIOSARCOMA METASTÁSICO EN UN CABALLO. B. Sánchez y col. Dpto. Patología Animal II. Fac. Veterinaria . UCM. Madrid. e-mail: [belenmal@eucmax.sim.ucm.es](mailto:belenmal@eucmax.sim.ucm.es)
17. NEOSPOROSIS CUTÁNEA EN UN PERRO EN TRATAMIENTO PARA PÉNFIGO FOLIACEO. Ordeix L.<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>Departament de Medicina y Cirugia Animals i <sup>2</sup>Hospital Clínic Veterinari, Facultad de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. <sup>3</sup>Parasite Biology, Epidemiology and Systematics Laboratory, USDA, ARS, ANRI. MD. USA.
18. COMPARACIÓN DE TRES ANTICUERPOS MONOCLONALES Y DOS POLICLONALES ANTI-IgG EN EL DIAGNÓSTICO DE PROCESOS AUTOINMUNES CUTÁNEOS EN EL PERRO. J. Pérez, y col. Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Unidad Mixta CSIC-UCO "Marcadores Genéticos de Animales Domesticos". Facultad de Veterinaria de Córdoba.
19. PRESENTACIÓN MULTIORGÁNICA DE UN LINFOMA INTRAVASCULAR. (ANGIOENDOTELIOMATOSIS MALIGNA) EN UN PERRO. J. Altimira, M. Vilafranca. Laboratorio de Diagnóstico Histopatológico Veterinario HISTOVET. Barcelona

### **17:30 – 18:30 h SEGUNDA PONENCIA**

Profesor Dr. Juan José Badiola.

Centro Nacional de Referencia de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.

Moderadores: Dres. Antonio Bernabé y Antonio Fernández

### **VIERNES 29**

#### **9:30 – 11:00 h. TERCERA SESIÓN DE COMUNICACIONES**

Encefalopatías espongiformes en animales

Moderadores: Dres. Maribel Quiroga y Francisco García Marín

20. EVALUACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS LESIONES NEUROPATOLÓGICAS OBSERVADAS EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATONES CON SCRAPIE. Vidal E.<sup>1</sup> y col. Departament de Medicina i Cirurgia animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Unidad de Neuropatología Experimental. Universitat de Barcelona. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
21. NEUROPATOLOGÍA DE RATONES TRANSGÉNICOS (BO-PRP) INOCULADOS INTRACRANEALMENTE CON EL AGENTE DE LA BSE. C. Sánchez, F.J. y col. Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. Valdeolmos, Madrid.
22. PÉRDIDA DE SINAPSIS Y ACÚMULO DE PROTEÍNA PRION RESISTENTE EN LA FASE TERMINAL DEL SCRAPIE MURINO. Sisó S.<sup>1</sup> y c ol. <sup>1</sup> Department de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. Unitat de Neuropatologia Experimental. Universitat de Barcelona. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza
23. VALORACIÓN DE DIFERENTES ANTICUERPOS PARA LA DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PrPres EN CASOS NATURALES DE E.E.B. Y SCRAPIE. García Pariente, C y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
24. DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PRP<sup>SC</sup> MEDIANTE EL USO DEL ANTICUERPO MONOCLONAL 2A11 EN BOVINOS DE EEB Y SU COMPARACIÓN CON EL 6H4. F.J. Salguero y col. Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. Valdeolmos, Madrid.
25. PRIMEROS CASOS DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (EEB) DETECTADOS EN ESPAÑA Badiola, J.J y col. Centro Nacional de Referencia de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza

26. ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN EL SNC ASOCIADAS A ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (EEB) EN CINCO CASOS DIAGNOSTICADOS EN LA COMUNIDAD DE CASTILLA Y LEÓN. Fuertes, M y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
27. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS EN BOVINOS SACRIFICADOS DE GRANJAS DE LA COMUNIDAD DE CASTILLA Y LEÓN CON UN CASO POSITIVO DE E.E.B. García Fernández, R. A y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

**11:30 – 12:30 h: TERCERA PONENCIA**

Los priones. Conceptos y características

Dr. Isidre Ferrer

Unitat de Neuropatologia. Serveid' Anatomia Patologica, Hospital Princeps D'Espanya (Bellvitge).  
Universitat de Barcelona

Moderadores: Dres. María Castaño y Miguel Angel Sierra

**12:30 –13:30 h: MESA REDONDA**

Encefalopatias espongiformes.

Profesores: Dres. Isidre Ferrer, Jose M<sup>a</sup> Nieto, Cristina Acin, Francisco García Marín y Bernardino Moreno y Martí Pumarola.

**16:30 – 17:30 h: CUARTA SESIÓN DE COMUNICACIONES**

Miscelania

Moderadores: Dres. M<sup>a</sup> Carmen Ferreras y Antonio José Ramis

28. INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL CON TANINOS CONDENSADOS DE QUEBRACHO, EN OVEJAS ADULTAS Pérez, V y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). \*Dpto. de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Estación Agrícola Experimental. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. León.
29. ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE DIFERENCIACIÓN DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS BOVINOS. H.Vala <sup>(1)</sup> y col. <sup>1</sup> Escola Superior Agrária de Viseu Instituto Politécnico de Viseu, Portugal. <sup>2</sup> Dept. de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinaria (UAB) Barcelona. <sup>3</sup> Centro Interdisciplinar de Investigaçã o em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. <sup>4</sup> Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel, Direcçã o Regional d o Desenvolvimento Agrário, Angra do Heroísmo, Açores.

30. REPRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DE LA AMILOIDOSIS AA OVINA . E. Biescas y col. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza.
31. ANASARCA FETAL OVINA. L. Luján, L. y col. Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza
32. ESTUDIO DE LA EFICACIA DEL TOLTRAZURIL (BayCox®) EN EL TRATAMIENTO DE LA MIXOSPORIDIOSIS INTESTINAL DEL RODABALLO (*Scophthalmus maximus*) .Vázquez, S y col. Departamento de Patología Animal y <sup>1</sup>Anatomía y Producción Animal. Universidad de Santiago de Compostela. <sup>2</sup>Martesanal, Quilmas, A Coruña.
33. PATOLOGIA COMPATIBLE CON INFECCION POR PARAMIXOVIRUS AVIAR TIPO 1 (PMV-1) EN PALOMAS. Ferreras, M. C y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. \*Laboratorios Ovejero. León.

**17:30 – 19:00 h: DISCUSIÓN DE CASOS Y PÓSTERS**

Moderadores: Dres. Luís Gómez y Laura Peña.

**Casos de Discusión**

1. ENCEFALITIS EN CORDERAS MENORES DE UN AÑO DE EDAD. Ferreras, M. C y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. \*Campa-Blas, S. L. Astorga. León.
2. NEOPLASIA EN NERVIÓ ÓPTICO DE UN PERRO. Pérez, V y col. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. \*Histología i Anatomia Patològica. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona.\*\* Clínica Veterinaria Norberto González. León.



## Posters

1. ESTUDIO HISTOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE LOS EFECTOS INDUCIDOS POR LÁSER DE DIODO EN TENDÓN DE CONEJO. P.M. García y col. Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Universidad de Córdoba. (1) Clínica Sagrado Corazón, U.S.P., Sevilla. (2) Licenciada en Medicina, Sevilla.
2. ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS EFECTOS INDUCIDOS POR LA IRRADIACIÓN CON LÁSER DE DIODO EN CARTÍLAGO ARTICULAR DE CONEJO P.M. García y col. Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Clínica Sagrado Corazón, Sevilla. (2) Licenciada en Medicina, Sevilla.
3. VALORACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA INGESTIÓN DE UNA FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE (PLANTABEN®) EN RATONES ICR:CD1 SOMETIDOS A UN PROTOCOLO DE CARCINOGENESIS COLORRECTAL: ESTUDIO ESTADÍSTICO PRELIMINAR. Pérez Martínez, C y col. Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. \* Dpto. Farmacología, Toxicología y Enfermería. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
4. EFECTO DE LA EXPOSICIÓN *IN UTERO* A ÁCIDO RETINOICO SOBRE LA CARCINOGENESIS INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE EN LA PIEL DE RATONES NMRI ADULTOS: VALORACIÓN DE LA CINÉTICA CELULAR. Pérez Martínez, C y col. Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
5. EFECTO DE LA EXPOSICIÓN *IN UTERO* A ÁCIDO RETINOICO SOBRE LA MORFOGENESIS DE LA EPIDERMIS Y LOS FOLÍCULOS PILOSOS DE RATONES NMRI: VALORACIÓN DE LA CINÉTICA CELULAR García Fernández, R.A y col. Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.
6. EXPRESION DE TNF- $\alpha$  POR LOS MACRÓFAGOS PULMONARES EN LA PESTE PORCINA CLASICA. A. Núñez, y col. Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, E-mail: [an1caotl@uco](mailto:an1caotl@uco).
7. VARIACIONES EN LA POBLACION DE MACROFAGOS EN TONSILA EN CERDOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON PPC. Romanini, S.<sup>1,2</sup> y col. <sup>1</sup>Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. <sup>2</sup>Dpto.

Patología Animal, FAV.Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. <sup>3</sup> Laboratorio Central de Veterinaria, Santa Fe. Granada.

8. EXPRESIÓN DE INTERLEUKINA(IL)-2 E ILL-4 EN ÓRGANOS LINFOIDES Y SU IMPLICACIÓN EN LA PATOGENIA DE LA PESTE PORCINA AFRICANA (PPA). F.J. Salguero<sup>1,2</sup>, y col. <sup>1</sup>Dpto Anatomía Patológica. Universidad de Córdoba. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. Valdeolmos, Madrid
9. DIAGNÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LOS PRIMEROS CASOS DE ILEÍTIS PORCINA EN EXPLOTACIONES DE PRODUCCIÓN INTENSIVA EN CUBA. Fernández, o.<sup>1</sup> y col. (<sup>1</sup>) histología y anatomía patológica. Facultad de veterinaria. Universidad de Extremadura. (<sup>2</sup>) Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. Facultat de veterinària (UAB). Barcelona.
10. COLISIONES ENTRE TRÁFICO MARÍTIMO Y CETÁCEOS EN CANARIAS. M. André (1) y col. 1 Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2 Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona
11. LINFOMA T EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE UN DELFÍN COMÚN (*Delphinus delphis*). L. Suárez (1) y col. 1 Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria 2Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona.
12. OBSTRUCCIÓN URINARIA POR *Crassicauda spp.* EN UN CALDERÓN TROPICAL. M. Arbelo y col. Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
13. Nasitrema Spp. ASOCIADO A LESIONES DEL SNC EN ODONTOCETOS VARADOS EN LAS ISLAS CANARIAS. E. Degollada (1,2 y col. 1Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2 Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona,
14. LESIONES HEPÁTICAS ASOCIADAS A TREMATODOS EN CETÁCEOS VARADOS EN CANARIAS Raduan, J y col. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
15. NEUMONÍA MICÓTICA POR *ASPERGILLUS FUMIGATUS* EN UN CABALLO. González Huecas, M y col. Dpto. de Patología Animal II. H.C.V. Facultad de Veterinaria. Universidad

Complutense de Madrid. \*Dpto. de Patología Animal, Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

16. IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO EN BOVINOS TUBERCULINA POSITIVOS Y SUS REPERCUSIONES SANITARIAS Y ECONÓMICAS. Carrera, D. y col. Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria de Córdoba.
17. RELACIÓN ENTRE HALLAZGOS PATOLÓGICOS Y SEROLÓGICOS FRENTE A LA PARATUBERCULOSIS Y RESPUESTA A LA PRUEBA DE LA IDTB EN GANADO VACUNO. Ana Balseiro<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>SERIDA-Laboratorio de Sanidad Animal. Jove del Medio. Gijón. <sup>2</sup>Dpto. de Pat. Animal: Medicina Animal. Fac. de Veterinaria Univ. León.
18. DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE *MYCOPLASMA AGALACTIAE* EN MUESTRAS DE MAMA DE GANADO CAPRINO LACTANTE INFECTADO NATURAL Y EXPERIMENTALMENTE. Rodríguez F<sup>1</sup>, y col. Dpto. de Morfología, Anat. y Anat. Patol. Comp. Fac. de Veterinaria-ULPGC - 2. Patol. Gral., Fac. de Cs. Veterinarias-UNR-Argentina 3. Epidemiología y Medicina Preventiva, Dpto. de Patología Animal, Fac. de Veterinaria-ULPGC.
19. DISTRIBUCIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN ABOMASO Y GANGLIOS LINFÁTICOS ABOMASALES DE CABRAS INFECTADAS Y REINFECTADAS CON *Haemonchus contortus*. J. Pérez y col. Dept. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. (1) Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio de Sanidad Animal. E-mail: an1pearj@uco.es
20. MUERTE CELULAR EN SCRAPIE. Puig B. y col. (1) Departament de Biologia Cel.lular i Anatomia Patològica. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. (2) Departament de Medicina i Cirurgia Animal. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. (3) Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.
21. EL PROGRAMA DE VIGILANCIA DE LA ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES EN RUMIANTES EN CATALUNYA: 1996-2000. Sisó S.<sup>1</sup> y col.<sup>1</sup> Departament de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. <sup>2</sup> Departament de Sanitat i Seguretat Social. Direcció General de Salut Pública. Generalitat de Catalunya.
22. FIBROMA OSIFICANTE EN UNA POTRA DE P.R.E. Vázquez F.A y col. Servicio de Anatomía Patológica. \*Servicio de Cirugía y Medicina Equina. Hospital Clínico Veterinario. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

23. DESCRIPCIÓN DE UN CASO DE TERATOMA EN EL SNC DE UN CABALLO. Novoa Martínez, C y col. Dpto. de Patología Animal II y \*Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. Madrid.
24. EXPRESIÓN DE CALPONINA EN TUMORES SIMPLES CANINOS, FELINOS Y HUMANOS. Y. Millán\* y col. Dpto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba.\*\*Dpto. de Ciencias Morfológicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.\*\*\*Dpto. de Especialidades Médico-Quirúrgicas. Universidad de Córdoba.
25. CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS EN ANILLO DE SELLO EN UN PERRO. A. Espinosa de los Monteros<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup> Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>2</sup> Departamento de Patología General. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario (Argentina).
26. CARCINOMA RICO EN LÍPIDOS DE LA MAMA CANINA. CARACTERÍSTICAS ANATOMOCLÍNICAS DE 3 CASOS. A. Espinosa de los Monteros<sup>1</sup> y col.<sup>1</sup> Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>2</sup> Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. <sup>3</sup> Departamento de Patología Animal. Unidad de Cirugía. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
27. CONDOSARCOMA PERIOSTEAL EN UN PERRO: LOCALIZACION EN LA CRESTA DE LA NUCA. Durán, M.E<sup>\*</sup> y col. (\*) Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. UEX. (\*\*) Unidad de Patología Quirúrgica y Cirugía. Facultad de Veterinaria. UEX.
28. COMUNICACIÓN INTRACARDIACA ENTRE EL VENTRÍCULO IZQUIERDO Y LA AURÍCULA DERECHA ASOCIADA A ENDOCARDITIS VALVULAR AÓRTICA. Ramírez GA<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup> Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>2</sup> Patología General, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.
29. FAEOHIFOMICOSIS INVASIVA CAUSADA POR *CURVULARIA SPP* EN UN PERRO. P. Herráez,<sup>1</sup> y col. 1.- Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. 2.- Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, USA. 3.- Department of Veterinary Pathobiology, Texas A&M University, USA.
30. ESTUDIO DE UN CASO DE ALTERACIÓN CARDÍACA ASOCIADO A LEISHMANIOSIS CANINA. C. Mirón<sup>1</sup> y col. <sup>1</sup>Unidad Docente de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. <sup>2</sup>Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. UEX.

31. DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEÍNA p53 Y DEL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO BÁSICO (FGF-b) EN SARCOMAS FELINOS ASOCIADOS A VACUNAS. Rollán E, y col. Servicio de Anatomía Patológica. Dpto. de Patología Animal II. Hospital Clínico Veterinario. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.
  
32. CUERNO CUTÁNEO VERDADERO EN UN CANARIO. Garcés-Abadías, M.B y col. Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. mbelenga@um.es
  
33. SÍNDROME DE MUERTE SOBREGUDA EN JIRAFAS BARINGO (*GIRAFFA CAMELOPARDALIS ROTHSCILD*): REVISIÓN Y CASOS CLÍNICOS. Martín, M.P.<sup>1,2</sup>, y col. <sup>1</sup>Dpto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad Veterinaria de Córdoba. <sup>2</sup>Dpto. Técnico Veterinario del Zoo de Jerez.

Dominique Dormont

CEA, Service de Neurovirologie, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, Ecole Pratique des Hautes Etudes, B.P. 6 92265 Fontenay aux Roses Cedex, France.

### **Introduction**

Transmissible subacute spongiform encephalopathies (TSE) are fatal human and animal neurological diseases that are characterised by a long asymptomatic incubation phase followed by a subacute clinical phase. They are caused by infection with Transmissible spongiform encephalopathy agent (TSA) also named prion which nature is still debated. Human transmissible spongiform encephalopathies are Creutzfeldt-Jakob Disease (1,2), Fatal Familial Insomnia (3), Kuru (4) and Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (5). In animals, TSE are natural scrapie in sheep and goats (6), bovine spongiform encephalopathy (7), feline spongiforme encephalopathy, transmissible mink encephalopathy (8), and chronic wasting disease. The analysis of purified infectious fractions removed from infected brains are mostly if not only composed of one host-encoded protein, the prion protein (PrP), and free of any detectable specific nucleic acid (9). In animal models, the infectivity titre is always associated with a proportional accumulation of PrP. Aminoacid sequences of PrP obtained from normal and infected brains are identical, and these two proteins differ only by their biochemical and biophysical behaviour: in particular, PrP from TSE individuals resists proteinase K digestion. PrP-c is the PrP found in normal individuals; PrP-res is the proteinase K resistant PrP identifiable in infected individuals. Moreover, PrP-res accumulation is never associated with an increase of PrP messenger RNAs: this accumulation is post-translational (10). Lastly, infected organisms accumulate their own PrP-res and not the PrP-res used for infection. This data points out that infectivity is strongly associated with host-coded PrP-res. Today, it is not known if PrP-res accumulation is the TSE agent itself, or if it is a neuropathological event related to spongiosis and neuronal death, although most of the recent data support the "protein only" hypotheses. This may be a new type of disease, induced by a post-translational modified host-encoded protein.

## **Biochemical and biochemical properties of TSE agents.**

### *1. Inactivation of TSE agents*

Prions resist almost all the procedures generally used to inactivate conventional viruses (see J.C. Darbord, this issue). Due to their biophysical properties, prions behave differently depending upon the biophysical and biochemical characteristics of their environment. Moreover, the sensitivities to physical and biochemical disinfectants are different from one strain to another. For instance, as examples, the following procedures or compounds do not totally inactivate the scrapie agent; 1) Dry temperatures superior to 160°C during 24 hours (11) and at 360°C during 1 hour ; 2) Autoclaving at 121°C during 1 hour reduces infectivity titre of 7.5 logs (12); 3) Ultra-violet 37% inactivation dose is 42,000 Jm<sup>-2</sup> (13); 4) 25,000 Gray of X rays only partially inactivates the agents (14); 5) No inactivation occurs after treatment with 10% formaldehyde (15); 6) Beta-propiolactone (16); 7) Sodium hypochloride 0.5% during 1 hour reduces infectivity of 4 logs (17); 8) Hydrogen peroxide 3% during one hour: 0.8 log (17); 9) these agents resist to 100% ethanol treatment.

Today, three procedures can give raise to inactivation which degree is compatible with biological safety: 1) autoclaving at 134/136 °C during 18 min; 2) treatment with sodium hydroxide 1 M during 1 hour at 20°C 3) treatment with sodium hypochloride during 1 h at 20°C (18). One should note that formaldehyde treatment before autoclaving reduces the efficacy of thermal inactivation (15).

All these inactivation data suggest that proteins play a major role in TSE agents pathogenetical properties, and that nucleic acid may not be required for TSE-infectivity.

### *2. Biochemical components of the infectious fractions in TSSE.*

The size of the prions is estimated between 15 and 40 nm (13,14). Nevertheless, this size may have been overestimated because of the main biophysical property of this class of agents, their hydrophobicity (19); these agents may easily aggregate and therefore biased any estimation of their size by serial ultrafiltration.

The inactivation processes which have been demonstrated to be efficient against scrapie agents are those denaturing or hydrolysing protein components: treatment with high doses of proteinase K or trypsin (19), SDS, diethylpyrocarbonate, guanidium thiocyanate, urea alters infectivity (20,21,22,23,24). Procedures that interact with nucleic acids do not modify infectivity titres: nucleases, UV treatment, Zn<sup>++</sup> hydrolysis, and psoralens (9,23,25). Therefore, one may hypothesise that prions are either constituted of proteins or harbour a small nucleic acid which is protected into a "shell". Today the "protein only" hypothesis is supported by the majority of experimental data although none of them is 100 % conclusive.

At the beginning of the eighties, S.B. Prusiner identified a 27-30 kDa protein associated with infectivity that was partially resistant to proteinase K digestion : the protease resistant protein PrP (26). The partial sequence of PrP was identified in 1985 (27). Molecular hybridisation with synthetic oligonucleotides specific of PrP-sequence showed that there is no DNA or RNA specific for PrP detectable in the infectious fractions. DNA and RNA specific for PrP are present in the infected and non-infected brains, in similar amounts. These results were crucial in demonstrating that PrP was a normal component of the host, accumulating according to a post-translational mechanism in the brains of infected individuals (28,29). PrP amount is 50 times greater in the brain than in other organs (19,22). PrP aminoacid and gene sequences have been identified: in man, PrP is a 253 aminoacid protein. This protein is associated with cell membranes by its hydrophobic C-terminal portion to which a glycosyl-phosphatidyl-inositol binds. Its half life is 5 hours for the normal PrP, and greater than 15 hours for the PrP associated with infectivity. The PrP gene is on the chromosome 20 in man (one copy per genome); it contains two exons, although a third one is now suspected; the whole coding sequence is in the same exon. PrP-mRNA is 2.1 kilobase long, and is detected in almost all the organs at various levels: brain, lung, spleen, heart, etc... (lowest expression in liver and testicle, highest expression in the central nervous system) (30). In the brain, PrP-mRNA are localised mostly in neurones, and are also detectable in astrocytes and microglial cells.

### *3. PrP-res is a pathological molecular isoform*

Differences between the PrP isolated from normal individuals (PrP-c) and PrP isolated from infected individuals (PrP-res or PrP-sc) have been investigated. There are no differences in the sequence in aminoacids, and the secondary structure seems identical. On the other hand, the sensitivity to proteolytic enzymes is different, since normal PrP is totally degraded by proteinase K concentrations that only partially alter the pathologic isoform, the PrP-res (31). Scrapie Associated Fibrils (SAF) or prion rods are identifiable in brain homogenates from infected individuals (32). They are composed of PrP-res; antibodies raised to PrP recognise SAF, and PrP-res precipitates in rods resembling SAF in particular physicochemical conditions (19).The presence of the PrP-res is specific for TSE. Its detection is the basis for the molecular diagnosis of this disease. The kinetics of PrP-res accumulation has been studied in a number of experimental animal models: results have confirmed that it is proportional to the increase in infectivity.

The 3D structure of the PrP-c has been now determined in mouse and in hamster (33,34); the PrP molecule is composed of a globular core (aminoacids 121-231) attached to the cell membrane by a GPI anchor, and a long flexible tail (aminoacids 1- 121) that can adopt several conformations depending on the physicochemical conditions. The globular part of the molecule includes 3 alpha helices and two small beta sheets. Mainly due to aggregability, it has not been possible to obtain the 3D structure of PrP-res until now.

Cellular trafficking of the protein is now known in several cell lines (see S. Lehmann, this issue) (35,36,37) : transconformation of PrP-s into PrP-res may occur during PrP-c reinternalization through



a caveolae like mechanism. This may explain why PrP-c is releasable by PIPLC treatment although PrP-res is not, due to its intracytoplasmic localisation.

#### 4 The role of the PrP-c

PrP-c seems to be a neuronal protein, but at present its precise function remains unknown. *In vivo* data indicate that PrP is located close to synaptic proteins in the CNS. Transgenic mice which lack a PrP gene ( $PrP^{0/0}$ ) may either grow normally, without any defect in CNS functions or have alterations in long term potentiation or rapid ageing of Purkinje cells of the cerebellum (38,39,40) In TSEs, PrP-c main role is linked to genetic susceptibility. For example, transgenic mice have been grown with the hamster PrP gene: these hamster-PrP transgenic mice react as hamsters when infected with hamster scrapie (41,42) .

Human PrP gene (*PRNP*) is the main determinant of genetic susceptibility to TSEs [for review: (43,44,45)]. In all familial cases of familial TSEs [familial Creutzfeldt-Jakob disease cases (fCJD), Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS) and Fatal Familial Insomnia (FFI)] a mutation of the *PRNP* gene has been evidenced:

- codon 102: Pro -> Leu, in GSS;
- codon 117: Ala -> Val, in GSS;
- codon 178: Asp -> Asn, in the familial CJD and FFI;
- codon 198: Phe -> Ser, in GSS;
- codon 200: Glu -> Lys, in the familial CJD
- repetitions (10, 11, 12, 13 or 14 times) have been indentified in the zone coding for the 5 repeated octapeptides of CJD.

These various mutations have been linked to the clinical evolution or specific neuropathological criteria, although it has not been possible to associate any mutation with the sporadic cases which represent the majority of Creutzfeldt-Jakob diseases (85 to 90%).

A polymorphism at codon 129 exists among the general population: valine (val) or methionine (met) could be encoded. 50% of the healthy individuals are homozygous, mainly met/met. A large and significant excess of homozygosity at the codon 129 of the PrP gene in the sporadic and iatrogenic forms of Creutzfeldt-Jakob disease (46,47,48). Aminoacid 129 is located in one of the two small B-sheets that have been evidenced in the globular domain of the PrP-c, and which may play a role in either dimerisation or initiation of the transconformation of the protein into its pathological isoform.

The role of PrP-c in prion susceptibility has been clearly demonstrated by the lack of infection of PrP transgenic mice lacking the *Prnp* gene ( $PrP^{0/0}$ ) (49).

#### **Pathogenesis of prion diseases**

Two major questions have to be raised in the field of prion diseases: 1) what are the mechanisms by which PrP-res induces neuronal death and gliosis that are observed in infected individuals? what are the target cells of TSE agents in periphery, before they make their neuroinvasion?

Recently, PrP-derived peptides (PrP 106-126) have been shown to exert a toxic function on neurones in culture. These peptides aggregate into fibrils similar to prion rods or SAF. This toxic effect is related to apoptosis, and occurs only if neurones express PrP-c on their membrane, and if microglial cells are present in the cell culture. This neuronal death may be related to neurotoxic factors released by glial cells. Moreover, exposure of microglial cells is capable to induce pro-inflammatory cytokine gene expression (IL-1 $\beta$  and IL-6), that is comparable to what is observed in experimental mouse scrapie. Furthermore, PrP-res and Pr 106-126 are capable to induce GFAP gene overexpression by astrocytes, which mimics gliosis observed *in vivo* during TSE. Several experimental data have shown that PrP-res accumulation is capable to induce neuronal spongiosis and gliosis (50) only in PrP-c expressing cells. These facts might suggest that PrP-res accumulation constitutes the starting event of neurodegeneration, and is therefore the critical determinant of the neuronal death (50).

Infection of individuals by peripheral route results in a primary infection of the immune system: for example, after oral route, the presence of infectivity is detectable in the Peyer patches of infected animals soon after their inoculation (51). This infection of primary replication sites is followed by a dissemination of the agent into secondary lymphoid structures from which neuroinvasion is possible through retrograde axonal transport of the agent using peripheral nerves that innervate lymph nodes. After infection of the CNS, the infectivity develops almost exponentially until the appearance of clinical signs and death. These facts illustrate two main characteristics of TSE: 1) Certain organs of the infected individual, and particularly the brain, are highly infectious long before clinical signs appear; 2) These diseases develop without interruption and without any disappearance of the infectious agent during clinical latency. The nature of the cells involved in primary replication and in transport of prion to lymph node is not known, although elegant experimental data support the implication of B lymphocytes (52). In lymph nodes, follicular dendritic cells (FDC) are the site of TSE agent replication as assessed by immunohistochemistry: this cell type may permit TSE agent persistence, and therefore be critical for neuroinvasion.

### **The nature of the causative agent: current hypotheses**

Any hypothesis related to TSE agent nature should take into consideration the following facts:

- TSEs have a long incubation phase, without clinical symptoms
- When started, the clinical course of the disease is slowly evolving, without remission. These diseases are always fatal;
- No inflammatory process is identifiable in both blood and cerebrospinal fluid (CSF): none of the usual immunological stigma or specific signs of chronic infections are observed in infected individuals;
- Neither immunostimulation nor immunosuppression alters the course of the disease;
- No virus or micro-organism like structure is identifiable in the brains of infected patients.
- Transmissibility can be effected by injecting ultrafiltrates of organ extracts from infected individuals: the central nervous system is by far the most infectious; so is the spleen but 10<sup>4</sup> times less than the brain.

- It is possible to demonstrate "strain specificities" suggesting the presence of an infectious agent, and not only a transmissible agent.
- Infectivity depends on the amount injected and on the route of infection: the intracerebral route (IC) is the most effective and the oral route (OR) the least effective (1 IC infectious unit = 25,000 OR infectious units).
- There is no interference with other viruses;
- There is no cytopathogenic effect in cultured cells *in vitro*.
- *In vivo*, there is no alteration of the B, T, and non-T-non-B cells (quantitative or functional).
- Today, no specific nucleic acid has been detected in association with purified infectious fractions; moreover, no non-self coded protein is associated with infectivity; this has to be taken into consideration with regard to infectious titres which may reach more than  $10^9$  infectious units per gram of brain in animal models.
- The main component of infectious fractions is PrP-res; accumulation of PrP-res is proportional to infectivity, and neutralisation of infectivity is obtained by anti-PrP antibodies.
- Familial cases are linked to PrP gene mutations
- Mice devoid of PrP are not susceptible to TSE agent infection.

Even among the most recent hypotheses, not one gives a definite and complete account of the biologic, epidemiological and clinical observations. Several hypotheses have been raised:

- 1) the virino hypothesis according to which the agent would consist of a nucleic acid enveloped by host proteins (accounting therefore for the lack of an immune response),
- 2) the unknown conventional virus,
- 3) the animal equivalent of plant viroid (the lack of sensitivity of TSA/Prions to nucleases is not compatible to the RNase sensitivity of viroids),
- 4) Retroviruses have been also evoked as potential etiologic agents of TSE: it is well known that retrovirus may induce spongiosis in central nervous system of mouse (CasBR-E), but viral antigens are detected in infected cells, which is never observed in TSSE,
- 5) Other hypotheses accord a pre-eminent role to PrP as the agent or a major constituent of the infectious fractions.

- The prion hypothesis/post-translational disease hypothesis: this theory is strongly supported by the most recent molecular results. In this model, PrP-c may be converted into PrP-res by an autocatalytic process. The differences between the 3D structures of PrP-c and PrP-res are not known today; recently, it was hypothesised that transconformation occurs through direct interactions between PrP-res and PrP-c and that part of the alpha helices are transformed into beta sheet structures during this conversion process (53). Cellular factors, like chaperone molecules can participate to PrP-c transconformation (54). This transconformation of PrP could be facilitated by cellular factors (factor X) as demonstrated recently by Telling et al (54). The prion hypothesis is supported by the possibility of PrP-res to convert PrP-c into a protease resistant isoform by direct contact in an acellular experimental system (55); infectivity of this *de novo* transconverted PrP-res needs to be still demonstrated.

An other theory has been proposed Liautard (56): the chaperonin molecule disease. Chaperonin are proteins which role is to ensure the folding of normal proteins in the cell; several proteins (as Heat Shock Protein Hsp60) are their own chaperonin. One may suggest that PrP is its own chaperonin, and that PrP-sc are abnormally refolded proteins; in the presence of PrP-res, unfolded-PrP folding is driven into abnormal conformation. This lack of functional refolding might therefore became autocatalytic-like.

## Conclusion

Several features have highlighted TSEs in the past decade. First, the scientific data that support the prion hypothesis are more and more convincing, although not 100% demonstrative. This new concept on 3D-structure protein-related pathogenicity is stimulating and me be extended to other situations of the medicine. Second, the occurrence of bovine spongiform encephalopathy in UK and at lower levels in other European countries has demonstrated the risk linked to these agents and their major economic consequences. Third, there are many consequences of the emergence of the new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. If the link between BSE is proven, it demonstrates that certain strains of animal prions are capable to contaminate humans and to induce clinical spongiform encephalopathies. Whatever the origin of the vCJD is, its emergence raises the question of a specific risk associated with tissue grafting, organ transplantation and blood transfusion. The distribution of infectivity in the organism of infected individual is then of crucial importance. Few is known on the infectivity in vCJD at the clinical stage of the disease; it has been recently reported that PrP-res could be identifiable in tonsils, in spleen and in lymph nodes (57,58) in opposite to that has been found in familial and sporadic CJD. This presence of vCJD agent in the lymphoreticular tissues raises the question of the risk associated with blood transfusion and tissue/organ transplantation. This will require special and careful investigations that will have to be extended to the inactivation spectrum of the vCJD agent in order to prevent its dissemination through the daily medical and/or surgical practice.

## References

1. Creutzfeldt HG. Über eine eigenartige herdförmige Erkrankung des zentralnervensystems. Z Neurol U Psychiatr 1920; 57: 1-18.
2. Jakob A. Über eine eigenartige Erkrankung des Zentral-nervensystems mit bemerkenswertem anatomischem Befunde (spastische pseudosklerotische Encephalomyelopathie mit disseminierten Degenerationsherden) . Dtsch Z Nervenheilk 1921; 70: 132-146.
3. Medori R, Tritschler HJ, Leblanc A, Villare F, Manetto V, Chen HY, Xue R, Leal S, Montagna P, Cortelli P, Tinuper P, Avoni P, Mochi M, Baruzzi A, Hauw JJ, Ott J, Lugaresi E, Autilio-Gambetti L, Gambetti P. Fatal Familial Insomnia, a Prion Disease with a Mutation at Codon-178 of the Prion Protein Gene. N Engl J Med 1992; 326: 444-449.
4. Gajdusek DC, Zigas V. Degenerative disease of the central nervous system in New Guinea: the endemic occurrence of "kuru" in the native population. N Engl J Med 1957; 257: 974-978.
5. Gerstmann J, Sträussler E, Scheinker I. Über eine eigenartige hereditär-familiäre Erkrankung des Zentralnervensystems. Z. Neurol. 1936; 154: 736-762.
6. Cuillé J, Chelle PL. La tremblante du mouton est bien inoculable. C. R. Acad. Sci. Paris 1938; 206: 78-79.

7. Wells GAH, Scott AC, Johnson CT, Gunning RF, Hancock RD, Jeffrey M, Dawson M, Bradley R. A novel progressive spongiform encephalopathy in cattle. *Vet Rec* 1987; 121: 419-420.
8. Marsh RF, Burger D, Hanson RP. Transmissible mink encephalopathy: behavior of the disease agent in mink. *Amer. J. Vet. Res.* 1969; 30: 1637-1642.
9. Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982; 216: 136-144.
10. Bolton DC, Bendheim PE. A modified host protein model of scrapie. In *CF Symposium. Novel infectious agents and the central nervous system.* John Wiley & Sons, 1988 : 135; 164-177.
11. Dickinson AG, Taylor DM. Resistance of scrapie to decontamination. *New Eng J Med* 1978; 299: 1413-1414.
12. Brown P, Rohwer RG, Green EM, Gajdusek DC. The effects of chemicals, heat, and histopathologic processing on high-infectivity hamster adapted scrapie virus. *Virus non conventionnels et affections du système nerveux central.* LA Court. Paris. Masson, 1983: : 156-163.
13. Latarget R, Muel B, Haig DA, Clarke MC, Alper T. Inactivation of the scrapie agent by near monochromatic ultraviolet light. *Nature* 1970; 227: 1341-1343.
14. Latarget R. Inactivation of the agents of scrapie, Creutzfeldt-Jakob disease, and kuru by radiations. In *SB Prusiner & WJ Hadlow. Slow transmissible diseases of the nervous system.* Academic Press, 1979 : 2; 387-408.
15. Taylor DM, McConnell I. Autoclaving does not decontaminate formol-fixed scrapie tissues. *Lancet* 1988; 1: 1463-1464.
16. Haig DA, Clark MC. The effect of  $\beta$  propiolactone on the scrapie agent. *J. Gen. Virol.* 1968; 3: 281-283.
17. Brown P, Rohwer RG, Green EM, Gajdusek DC. The effect of chemicals, heat, and histopathologic processing on high infectivity hamster-adapted scrapie virus. *Virus non conventionnels et affections du système nerveux central.* L Court. Paris. Masson, 1983: : 156-163.
18. Ernst DR, Race RE. Comparative Analysis of Scrapie Agent Inactivation Methods. *J Virol Methods* 1993; 41: 193-201.
19. Prusiner SB, McKinley MP, Bowman KA, Bolton DC, Bendheim PE, Groth DF, Glenner GG. Scrapie prions aggregate to form amyloid-like birefringent rods. *Cell* 1983; 35: 349-358.
20. Dickinson AG, Bruce ME, Outram GW, Kimberlin RH. Scrapie strain differences: the implications of stability and mutation. *Proceedings of workshop on slow transmissible diseases (Japanese).* J Tateishi. Tokyo. Tateishi, J., 1984: : 105-118.
21. Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of mouse scrapie: effect of route of inoculation on infectivity titres and dose-response curves. *J of Comp Pathol* 1978; 88: 39-47.
22. Prusiner SB, McKinley MP, Groth DF, Bowman KA, Mock NI, Cochran SP, Masiarz FR. Scrapie agent contains a hydrophobic protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 6675-6679.
23. Prusiner SB, Groth DF, Cochran SP, Masiarz FR, Mckinley MP, Martinez HM. Molecular properties, partial purifications, and assay by incubation period measurements of the hamster scrapie agent. *Biochemistry* 1980; 19: 4883-4891.
24. Brown P, Rohwer RG, Gajdusek DC. Newer data on the inactivation of scrapie virus or Creutzfeldt-Jakob disease virus in brain tissue. *J. Inf. Dis.* 1986; 153: 1145-1148.
25. Mckinley MP, Masiarz FR, Isaacs ST, Hearst JE, Prusiner SB. Resistance of the scrapie agent to inactivation by psoralens. *Photochem Photobiol* 1983; 37: 539-545.
26. Prusiner SB, Groth DF, McKinley MP, Cochran SP, Bowman KA, Kasper KC. Thiocyanate and hydroxyl ions inactivate the scrapie agent. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1981; 78: 4606-4610.
27. Oesch B, Westaway D, Walchli M, Mckinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB, Weissmann C. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 1985; 40: 735-746.
28. Prusiner SB, Gabizon R, Mckinley MP. On the biology of prions. *Acta neuropathol (Berl)* 1987; 72: 299-314.

29. Hope J, Baybutt H. The key role of the nerve membrane protein PrP in scrapie-like diseases. *Seminars in the Neurosciences* 1991; 3: 165-171.
30. Oesch B, Westaway D, Prusiner SB. Prion protein genes: evolutionary and functional aspects. In BW Chesebro. *Current topics in microbiology and immunology. Transmissible spongiform encephalopathies: scrapie, BSE and related disorders.* Springer-Verlag, 1991 : 109-124.
31. Prusiner SB, Fūzi M, Scott M, Serban D, Serban H, Taraboulos A, Gabriel JM, Wells GAH, Wilesmith JW, Bradley R, DeArmond SJ, Kristensson K. Immunologic and Molecular Biologic Studies of Prion Proteins in Bovine Spongiform Encephalopathy. *J Infect Dis* 1993; 167: 602-613.
32. Merz PA, Somerville RA, Wisniewski HM, Iqbal K. Abnormal fibrils from scrapie-infected brain. *Acta Neuropathologica* 1981; 54: 63-74.
33. Riek R, Hornemann S, Wider G, Billeter M, Glockshuber R, Wūthrich K. NMR structure of the mouse prion protein domain PrP (121-231). *Nature* 1996; 382: 180-182.
34. Riek R, Hornemann S, Wider G, Glockshuber R, Wūthrich K. NMR characterization of the full-length recombinant murine prion protein mPrP(23-231). *FEBS Letters* 1997; 413: 282-288.
35. Caughey B. In vitro expression and biosynthesis of prion protein. In BW Chesebro. *Current topics in microbiology and immunology - Transmissible spongiform encephalopathies: scrapie, BSE and related human disorders.* Springer-Verlag, 1991 : 172; 93-107.
36. Lehmann S, Harris DA. A mutant prion protein displays an aberrant membrane association when expressed in cultured cells. *J. Biol. Chem.* 1995; 270: 24589-24597.
37. Lehmann S, Harris DA. Mutant and infectious prion proteins display common biochemical properties in cultured cells. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 1633-1637.
38. Būeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp H-P, DeArmond SJ, Prusiner SB, Aguet M, Weissmann C. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell surface PrP protein. *Nature* 1992; 356: 577-582.
39. Collinge J, Whittington MA, Sidle KCL, Smith CJ, Palmer MS, Clarke AR, Jefferys JGR. Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 1994; 370: 295-297.
40. Sakagushi S, Katamine S, Nishida N, Morluchi R, Shigematsu K, Sugimoto T, Nakatani A, Kataoka Y, Houtani T, Shirabe S, Okada H, Hasegawa S, Miyamoto T, Noda T. Loss of cerebellar Purkinje cells in aged mice homozygous for a disrupted PrP gene. *Nature* 1996; 380: 526-531.
41. Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Mirenda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA, Hoppe PC, Westaway D, DeArmond SJ. Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. *Cell* 1990; 63: 673-686.
42. Prusiner SB. Transgenic Investigations of Prion Diseases of Humans and Animals. *Philos Trans R Soc Lond [Biol]* 1993; 339: 239-254.
43. Laplanche JL, Beaudry P, Ripoll L, Launay JM. Protéine Prion : structure, fonctions, et polymorphismes associés aux encéphalopathies spongiformes humaines. *Path. Biol.* 1995; 43: 104-113.
44. Laplanche JL, Chatelain J, Dussaucy M, Bounneau C, Launay JM, Brandel JP, Delasnerie-Laupretre N. Inherited Prion Disease. *Br Med J* 1993; 306: 794-795.
45. Prusiner SB, Hsiao KK. Human Prion Diseases. *Ann Neurol* 1994; 35: 385-395.
46. Palmer MS, Dryden AJ, Hughes JT, Collinge J. Homozygous prion protein genotype predisposes to sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Nature* 1991; 352: 340-342.
47. Deslys JP, Marcé D, Dormont D. Similar genetic susceptibility in iatrogenic and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *J Gen Virol* 1994; 75: 23-27.
48. Labauge P, Pages M, Blard JM, Chatelain J, Laplanche JL. Valine Homozygous 129 PrP Genotype in a French Growth-Hormone Related Creutzfeldt-Jakob Disease Patient. *Neurology* 1993; 43: 447.

49. Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M, Weissmann C. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993; 73: 1339-1347.
50. Brandner S, Iseemann S, Raeber A, Fischer M, Sailer A, Kobayashi Y, Marino S, Weissmann C, Aguzzi A. Normal host prion protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 1996; 379: 339-343.
51. Kimberlin RH, Walker CA. Pathogenesis of mouse scrapie: dynamics of agent replication in spleen, spinal cord and brain after infection by different routes. *J Comp Pathol* 1979; 89: 551-562.
52. Klein MA, Frigg R, Fleschsig E, Raeber AJ, Kalinke U, Bluethmann H, Bootz F, Suter M, Zinkernagel RM, Aguzzi A. A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature* 1997; 390: 687-690.
53. Cohen FE, Pan KM, Huang Z, Baldwin M, Fletterick RJ, Prusiner SB. Structural Clues to Prion Replication. *Science* 1994; 264: 530-531.
54. Telling GC, Scott M, Mastriani J, Gabizon R, Torchia M, Cohen FE, DeArmond SJ, Prusiner SB. Prion propagation in mice expressing human and chimeric PrP transgenes implicates the interaction of cellular PrP with another protein. *Cell* 1995; 83: 79-90.
55. Kocisko DA, Come JH, Priola SA, Chesebro B, Raymond GJ, Lansbury PT, Caughey B. Cell-free formation of protease-resistant prion protein. *Nature* 1994; 370: 471-474.
56. Liutard JP. Are prions misfolded molecular chaperones? *FEBS Lett.* 1991; 294: 155-157.
57. Hill AF, Zeldler M, Ironside J, Collinge J. Diagnosis of new variant Creutzfeldt-Jakob disease by tonsil biopsy. *The Lancet* 1997; 349: 99-100.
58. Hill AF, Butterworth RJ, Jioner S, Jackson G, Rossor MN, Thomas DJ, Frosh A, Tolley N, Bell JE, Spencer M, King A, Al-Sarral S, Ironside JW, Lantos PL, Collinge J. Investigation of variant Creutzfeldt-Jakob disease and other human prion diseases with tonsil biopsy samples. *Lancet* 1999; 353: 183-189.

## LOS PRIONES. CONCEPTOS Y CARACTERÍSTICAS

Isidre Ferrer

Unitat de Neuropatologia. Servei d'Anatomia Patològica . Hospital Princesps d'Espanya (Bellvitge).

Universitat de Barcelona

### *Introducción*

Las prionopatías son un grupo de enfermedades en las que la proteína de membrana PrP<sup>C</sup> se transforma en una isoforma PrP<sup>SC</sup> o PrP<sup>CJD</sup> que es patogénica (Hadlow, 1995; Wells, Wilesmith, 1995; DeArmond y Prusiner, 1997a y b; Prusiner, 1997a, b, c y d; Caughey, Chesebro, 1997; Aguzzi, Weissmann, 1997; Collinge, Palmer, 1997; McLean et al., 1998).

Las formas anormales son dañinas para las membranas neuronales y producen su destrucción, que se manifiesta inicialmente como microvacuolización de las células nerviosas y del neuropilo. Esta microvacuolización del encéfalo determina el nombre de encefalopatía espongiiforme. La enfermedad priónica se acompaña de activación microglial y de astrocitos, que es variable según la especie. El daño oligodendroglial, aunque presente, es más limitado (El Hachimi et al., 1998). La destrucción de las membranas progresa hacia la muerte neuronal.

La proteína priónica anormal tiene unas propiedades únicas. Una es la resistencia a agentes físicos y químicos, incluyendo la resistencia a proteasas. Otra es la capacidad de producir cambios conformacionales en las proteínas priónicas vecinas y de favorecer el progreso de la enfermedad. Finalmente, el daño producido por la proteína priónica anormal puede transmitirse de un animal a otro. Un hecho importante es que el desarrollo de la enfermedad requiere un periodo de incubación largo antes de que se produzcan los síntomas de deterioro neurológico. De este modo, las enfermedades priónicas son enfermedades espongiiformes transmisibles (EETs) con un periodo largo de incubación y con una penetrancia muy variable dependiendo de la cepa de proteína PrP, del receptor, de la vía de transmisión y de la llamada carga priónica que es la cantidad de proteína con capacidad contagiante.

Las principales enfermedades priónicas naturales son la tembladera o *scrapie* en las ovejas y cabras, y el kuru, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, el insomnio fatal (letal) familiar y el síndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker en el ser humano. Una EET rara en animales cuyo origen no queda bien establecido es la enfermedad crónica devastadora de ciervos y renos circunscrita a pequeñas zonas rurales del norte de Estados Unidos.

El kuru es una enfermedad ligada al canibalismo ritual de tribus de Nueva Guinea. La transmisión de la enfermedad se producía por vía alimentaria. La desaparición del canibalismo ha convertido el kuru en una entidad residual.

La enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ), a su vez, puede ser a.- una enfermedad esporádica, hecho que ocurre en más del noventa por ciento de los casos; b.- una enfermedad infecciosa secundaria a injertos de duramadre, córnea o extractos hipofisarios utilizados para el tratamiento con hormona de crecimiento; c.- una enfermedad hereditaria familiar producida por mutaciones en el gen que codifica la PrP y que en el ser



humano se encuentra en el cromosoma 20. No se conoce el origen de la ECJ y tampoco la forma de transmisión; en cualquier caso, no existe evidencia de transmisión por vía alimentaria.

El insomnio letal familiar es una enfermedad priónica hereditaria asociada a una mutación del codon 178 del gen que codifica la PrP en pacientes homocigotos para metionina (met) en el codon 129 del mismo gen. Este aspecto es interesante ya que la misma mutación en el codon 178 en el mismo gen, pero con valina en el codon 129 da lugar a un cuadro de ECJ familiar muy semejante al manifestado en las formas esporádicas de ECJ. La presencia de homocigotismo para metionina (met/met) en el codon 129 determina, por tanto, un fenotipo particular. Este genotipo también es relevante en las formas de ECJ infecciosa y en la nueva variante de ECJ (ver más adelante). El síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker incluye, en sentido estricto, formas familiares genéticamente determinadas de prionopatía, ligadas a mutaciones en el codon 102 del gen que codifica PrP. Sin embargo, este término se ha utilizado para designar otras formas hereditarias de enfermedad priónica.

El *scrapie* ha sido una enfermedad restringida a ovejas y cabras, sin capacidad aparente de daño al ser humano y a otras especies animales. Sin embargo, la utilización en el Reino Unido de carcasas de ovejas enfermas transformadas en harinas cárnicas en unas condiciones que no destruyen la proteína priónica anormal PrP<sup>Sc</sup> resultó en la transmisión del *scrapie* al ganado vacuno y en la aparición de una nueva enfermedad en 1985 que se conoce como encefalopatía espongiiforme bovina (EEB) o enfermedad de las vacas locas. La prohibición tardía de las condiciones inseguras de fabricación de harinas y de su comercialización, junto al libre mercado de carne y harinas y, muy particularmente, al fraude, han contribuido a que la enfermedad se haya extendido a la mayoría de países europeos.

Consecuencia de la EEB y asociada a ella, se encuentran otras prionopatías artificiales que han afectado al ser humano y a otros animales.

La llamada nueva variante ECJ (nvECJ: variante británica de ECJ) se describió por primera vez en el Reino Unido diez años más tarde de la aparición de la BSE. Curiosamente, los pacientes descritos como nvECJ son todos met/met en el codon 129. Otras formas nuevas de enfermedad priónica en los animales son la encefalopatía espongiiforme de los visones, la encefalopatía espongiiforme de los gatos (encefalopatía espongiiforme felina), y encefalopatías espongiiformes de otros felinos y de rumiantes en parques y zoológicos. En todos estos casos, la forma de transmisión más plausible de la enfermedad es la vía alimentaria.

### *La proteína PrP*

La proteína priónica (PrP<sup>C</sup>) es una glicoproteína anclada en la membrana celular con cuatro dominios helicoidales- $\alpha$  y dos cadenas laterales de carbohidratos ligados a asparagina, con un peso molecular de 27 kDa-35 kDa (Prusiner, 1997a, b, c y d; DeArmond, Prusiner, 1997a y b; Caughey, Chesebro, 1997). Las diferencias de peso molecular se deben a cambios post-translacionales producidos por glicosilación (Haraguchi et al., 1989). La proteína priónica se encuentra en neuronas (Kretzschmar et al., 1986), astrocitos (Moser et al., 1995; van Keulen et al., 1995), microglia (Brown et al., 1998a), linfocitos (Cashman et al., 1990), células foliculares dendríticas (McBride et al., 1992), células musculares (Brown et al., 1998c) y distintas células tumorales (Caughey et al., 1988). La proteína priónica se une a la membrana mediante un anclaje GPI (grupo glicosil-fosfatidil-inositol) y está ampliamente representada en distintos animales, aunque

tiene características propias de especie (Wopfner et al. 1999). Estas diferencias de la PrP ha explicado cierta barrera o resistencia de contagiosidad priónica entre las especies.

Se han identificado y clonado en diferentes especies los genes que codifican la proteína PrP (Oesch et al., 1985; Basler et al., 1986; Lochter et al., 1986; Kretzschmar et al., 1986).

En las enfermedades priónicas, el agente PrP se transforma en una isoforma plegada anormalmente en láminas  $\beta$  que es patogénica (Prusiner, 1982; Prusiner, 1989; Prusiner, 1991; Caughey et al., 1991; Prusiner, 1993; Pan et al., 1993). La proteína anómala muestra propiedades particulares como son la resistencia a distintos agentes incluyendo la resistencia a proteasas (Meyer et al., 1986).

La función de la PrP no es conocida. Los ratones PrP nulos crecen normalmente, y no se observan alteraciones en el sistema nervioso ni muscular a la edad de 24 meses (Büeler et al., 1992; Manson et al., 1994). Sin embargo, se han descrito alteraciones de los ritmos circadianos y del sueño (Tobler et al., 1996). También se ha observado una alteración de la potenciación a largo plazo y una reducción de la inhibición rápida mediada por receptores GABA<sub>A</sub> en secciones de hipocampo de ratones nulos para PrP (Collinge et al., 1994). Por otra parte, no se han observado alteraciones en la excitabilidad neuronal y en la transmisión sináptica en la región CA1 del hipocampo ni en las células de Purkinje del cerebelo (Herms et al., 1995; Lledó et al., 1996). Sin embargo, otros trabajos han mostrado disrupción de corrientes de potasio mediadas por calcio en secciones de hipocampo de ratones PrP nulos (Colling et al., 1996). Algunos animales nulos generados en Japón muestran ataxia y pérdida de neuronas de Purkinje con la edad (Sakaguchi et al., 1996), pero estas anomalías no se han observado en los ratones nulos generados en otros lugares (Klein y Aguzzi, 2000). Estos datos indican que PrP participa de un modo aparentemente sutil en la transmisión sináptica.

Curiosamente, los ratones que sobre-expresan PrP muestran miopatía necrotizante, neuropatía desmielinizante y vacuolización focal en el sistema nervioso central (Yang et al., 1994).

Después de la inoculación intracerebral de proteína priónica anormal, la cantidad de PrP<sup>SC</sup> aumenta, al tiempo que la cantidad de PrP<sup>C</sup> disminuye, sugiriendo que la PrP normal se convierte en PrP anómala (DeArmond y Prusiner, 1997). Más aún, se requiere la presencia de PrP<sup>C</sup> para sufrir la enfermedad, ya que ratones nulos para PrP son resistentes a la inoculación de PrP anómalo (Büeler et al., 1992; Büeler et al., 1993; Prusiner et al., 1993; Sailer et al., 1994). La expresión constitutiva de PrP es necesaria también para la infección *in vitro* ya que las células corticales nulas para PrP son resistentes al péptido patogénico (Brown et al., 1994). Ratones nulos para PrP son resistentes a la infección incluso cuando los niveles de PrP<sup>SC</sup> aumentan (Brandner et al., 1996). La introducción de PrP de hamster en ratones PrP nulos restaura la infectividad para el *scrapie* de hamster pero no para el *scrapie* de ratón (Büeler et al., 1993; Fischer et al., 1996).

Se conoce que la región octapeptídica repetida de PrP tiene lugares de unión al cobre (Hornshaw et al., 1995; Miura et al., 1996; Brown et al., 1997b; Stockel et al., 1998) y que PrP puede regular el transporte de cobre y jugar un papel en el estado oxidativo de la células mediando en el proceso neurodegenerativo (Waggoner et al., 1999) actuando como una chaperonina de cobre (Harrison et al., 2000). La unión a cobre modifica la estructura secundaria y terciaria de la proteína y cambia su sensibilidad a la proteinasa (Wong et al., 2000b).

### *Localización intracelular de PrP*

Estudios *in vitro* han mostrado que la proteína priónica se sintetiza en el retículo endoplásmico, se transfiere al aparato de Golgi y posteriormente se transporta mediante vesículas a la membrana celular. También se ha visto que PrP<sup>SC</sup> se deposita en vesículas en el citoplasma y en la membrana celular. Ambas isoformas pueden extruirse al espacio extracelular (DeArmond y Prusiner, 1997; Prusiner, 1997a y b). Estudios *in vivo* han mostrado el transporte de PrP<sup>C</sup> en axones del sistema nervioso central y periférico (Borchelt et al., 1994). PrP<sup>SC</sup> también puede transportarse a lo largo del axon en modelos experimentales de prionopatía y en la ECJ (Fraser, Dickinson, 1985; Jendroska et al., 1991; Ferrer et al., 2000). PrP se localiza en los botones sinápticos (Fournier et al., 1995; Salès et al., 1998), y estudios de fraccionamiento celular han mostrado PrP<sup>C</sup> en terminales presinápticos (Herms et al., 1999). Estudios con inmunohistoquímica y microscopía electrónica han demostrado la presencia de PrP en las sinapsis centrales y en la unión neuromuscular (Haberlé et al., 2000; Fournier et al., 2000; Brown, 2001).

Después de la inyección, la PrP anormal se acumula en los procesos neuronales y en las regiones sinápticas (Bruce et al., 1989; DeArmond et al., 1987; Jeffrey et al., 1992; Kitamoto et al., 1992; DeArmond y Prusiner, 1995; DeArmond y Prusiner, 1997; Ferrer et al., 2000).

### *Alteraciones generales en las EETs*

Las alteraciones en el sistema nervioso central en las EETs consisten en pérdida neuronal, microespongiosis confluyente en el neuropilo y vacuolización neuronal, astrocitosis y depósitos de PrP anormal. Estas alteraciones son variables en las encefalopatías espongiiformes humanas y animales, y también en las diferentes formas de prionopatías humanas (Masters, Gajdusek, 1982; Beck, Daniel, 1987; Lantos, 1992; Bell, Ironside, 1993; DeArmond, Prusiner, 1995; DeArmond, Prusiner, 1997; Ironside, 1996; Ironside, Bell, 1997). Existen alteraciones dendríticas discretas inmunorreactivas para ubiquitina (Suenaga et al., 1990; Cammarata, Tabaton, 1992).

Estudios con microscopía electrónica en enfermedades priónicas humanas, animales y experimentales han mostrado dilataciones del retículo endoplásmico, y vacuolizaciones dendríticas y sinápticas con acumulación de restos membranosos laxos (Chou et al., 1980; Landis et al., 1981; Beck, Daniel, 1987; Liberski et al., 1990). Las alteraciones de la arborización dendrítica también son aparentes con el método de Golgi, mediante el que se demuestra pérdida de ramificaciones dendríticas, así como varicosidades de las dendritas y pérdida de espinas dendríticas que son lugares post-sinápticos (Ferrer et al., 1981; Landis et al., 1981; Hogan et al., 1987; Ferrer et al., 1988; Berciano et al., 1990). La alteración de sinapsis también se ha comprobado mediante la demostración de reducción de la expresión de proteínas sinápticas en enfermedades priónicas humanas y animales (Kitamoto et al., 1992a y b; Jeffrey et al., 1995; Ferrer et al., 1999; Ferrer et al., 2000).

La vulnerabilidad celular no es bien conocida. Sin embargo, se ha demostrado que las neuronas GABAérgicas de la corteza cerebral que son inmunorreactivas para la proteína ligadora de calcio parvalbúmina son especialmente vulnerables en las enfermedades priónicas humanas y animales (Ferrer et al., 1993; Guentchev et al., 1997; Guentchev et al., 1998; Guentchev et al., 1999). Esta afectación selectiva puede estar en relación con una reducción de la inhibición cortical y con la presencia de

alteraciones en el registro electroencefalográfico y en la aparición de movimientos mioclónicos en los enfermos.

### **Depósito de PrP y alteración sináptica**

Existen evidencias de que PrP actúa en las sinapsis y que existe una alteración general de las sinapsis en las enfermedades priónicas. Sin embargo, la relación causal entre depósito anómalo de PrP y pérdida de proteínas sinápticas y de sinapsis no está tan clara. Algunos trabajos han destacado la pérdida de sinapsis como un hecho inicial en las enfermedades priónicas (Clinton et al., 1993). Sin embargo, otros trabajos no han mostrado una relación estrecha entre el depósito de PrP o la cantidad de PrP anómala depositada y la cantidad de pérdida sináptica en un determinado sistema neuronal (Ferrer et al., 2000). Se ha señalado que la alteración de terminales axonales sucede posteriormente a la reducción del número de las neuronas de las que proceden estos terminales (Jeffrey y Halliday, 1994; Jeffrey et al., 1995). Por otra parte, estudios con microscopía electrónica han mostrado ausencia de alteraciones neuríticas y de terminales en asociación con depósitos extracelulares de PrP anormal (Jeffrey et al., 1994). Sin embargo, no puede descartarse que la síntesis y el transporte de proteínas relacionadas con las sinapsis, al igual que las de otras proteínas, no esté modificado en las células infectadas de PrP anormal.

#### *PrP y aspectos generales del daño celular. Papel de la glía*

El mecanismo de daño celular por PrP no está claro. Algunos estudios *in vitro* han mostrado aumento de calcio intracelular y compromiso de receptores NMDA en el daño opor PrP<sup>SC</sup> (Kristensson et al., 1993; Müller et al., 1993). El fragmento de PrP que contiene los aminoácidos 106-126 es resistente a proteasas, forma fibrillas y es tóxico en cultivos neuronales (Forloni et al., 1993; Brown et al., 1994; Brown et al., 1997a; Brown et al., 1998b y e). Los posibles ligandos no han sido identificados con seguridad, pero proteínas semejantes a tubulinas parecen ser buenos candidatos de unión de PrP exógeno con proteínas de la célula en cultivo (Brown et al., 1998e). El fragmento de PrP, sin embargo, no es tóxico para células que provienen de animales PrP nulos (Brown et al., 1994). Curiosamente, parece ser que el daño celular no es directo sino que requiere de la presencia de células microgliales (Brown et al., 1996a y b). Otros trabajos han mostrado la probable implicación de los astrocitos en la mediación de daño inducido por PrP; la toxicidad del péptido PrP en cultivos corticales depende de la presencia de astrocitos con PrP<sup>C</sup> y está mediada por glutamato (Brown, 1999). A favor del papel de los astrocitos en la mediación del daño neuronal por PrP<sup>SC</sup> está el hecho de que la inoculación de *scrapie* de hamster a ratones PrP nulos PrP, pero que expresan PrP de hamster en células astrogliales a través de un promotor ligado a proteína glial fibrilar ácida, determina la aparición de la enfermedad en los animales receptores (Raeber et al., 1997).

#### *PrP y daño oxidativo*

Ratones que presentan sobre-expresión de PrP<sup>C</sup> expresan niveles normales de ARNm de Cu,Zn superóxido dismutasa, pero los niveles de la proteína son más elevados; tienen una menor resistencia al estrés oxidativo y un aumento de los niveles de peroxidasa de glutatión. Estos datos han sugerido que PrP<sup>C</sup> regula la actividad de Cu,Zn superóxido dismutasa por la influencia de la incorporación de cobre en la molécula (Brown, Besinger, 1998). Así mismo, se ha observado una reducción de la actividad de sintasa de óxido

nítrico neuronal (nNOS) en ratones y en cultivos de neuroblastoma infectados por scrapie (Ovadia et al., 1996). Curiosamente, los ratones PrP nulos también muestra reducción de actividad. Además, la localización intracelular de nNOS es diferente en animales normales y en animales infectados por scrapie o en animales PrP nulos lo que indica que PrP interviene en la localización, y posiblemente en la función de nNOS (Keshet et al., 1999). Otros trabajos han mostrado mayor sensibilidad al estrés oxidativo en neuronas y en astrocitos de ratones nulos para PrP (Brown et al., 1997c; Brown et al., 1998d).

Los cerebros de hamster infectados con *scrapie* presentan una reducción de actividad de la superóxido dismutasa mitocondrial (Choi et al., 1998). Cultivos neuronales infectados con PrP han mostrado un aumento en la sensibilidad al estrés oxidativo, así como un aumento de la peroxidación lipídica y signos de apoptosis asociados a una reducción de las actividades de los sistemas antioxidantes dependientes de glutatión y de superóxido dismutasa (Milhavet et al., 2000). En modelos *in vivo* se ha demostrado una relación entre la actividad total de superóxido dismutasa y los niveles de expresión de PrP (Wong et al., 2000a). Finalmente, se ha encontrado aumento de inmunorreactividad neuronal a nitrotirosina, utilizado como marcador de estrés oxidativo, en ratones infectados con *scrapie* lo que sugiere la posibilidad de daño por radicales libres en las prionopatías (Guentchev et al., 2000).

#### *Muerte celular y depósito de PrP anómalo*

Estudios en *scrapie* han mostrado muerte celular reconocible con el método de marcaje *in situ* del ADN fragmentado (Giese et al., 1995; Lucassen et al., 1995). Estudios en el ser humano han producido resultados dudosos debidos al efecto post-mortem sobre la sensibilidad del método de marcaje *in situ* de ADN fragmentado (Gray et al., 1997; Dorandeu et al., 1998; Ferrer, 1999). En cualquier caso, la hipótesis de trabajo alternativa y complementaria ha sido examinar la expresión de proteínas vinculadas a fenómenos de muerte y supervivencia celular en enfermedades priónicas humanas. Los resultados preliminares han mostrado una respuesta compleja en el cerebelo en ECJ (Puig y Ferrer, 2001). Se ha observado aumento de expresión de proteínas señalizadoras de muerte celular en las células de Purkinje, relativamente resistentes a PrP<sup>CJD</sup>, pero no en las células granulares, más vulnerables a PrP<sup>CJD</sup>. Se ha encontrado caspasa-3 activa en el citoplasma de células de Purkinje no asociada a muerte celular, pero también expresión de caspasa-3 activa en células con características apoptóticas de la capa molecular y granular del cerebelo. Estos datos indican que existe muerte celular por apoptosis en las enfermedades priónicas, pero también que apoptosis no es la única, ni probablemente la más frecuente, forma de muerte celular en las prionopatías.

#### *Propagación de PrP*

La expresión específica de PrP en las neuronas es suficiente para recibir y propagar la enfermedad, al menos después de la inoculación intracerebral de PrP anómala en animales que contienen PrP normal (Race et al., 1995). Sin embargo, esta vía no explica la mayoría de formas de EETs en los humanos y en animales. Se ha observado que las células foliculares dendríticas son un compartimento patogénico en la progresión del *scrapie* (Kitamoto et al., 1991; McBride et al., 1992). También se conoce que las deficiencias de linfocitos B retrasan o impiden el desarrollo de la enfermedad (Klein et al., 1997), si bien no es necesaria la expresión de PrP en los linfocitos B para que se produzca la progresión de la enfermedad (Klein et al.,

1998). Parece que la implicación de linfocitos B es más importante que la fracción de células foliculares dendríticas en la progresión de *scrapie* (Raeber et al., 1999; Klein, Aguzzi, 2000). Sin embargo, no está claro como los linfocitos entran en contacto con PrP y que estructuras de membrana permiten la interacción de PrP con los linfocitos. Tampoco está claro como los linfocitos actúan de puente con las células nerviosas. Se ha propuesto un contacto con los nervios periféricos y transporte por vía axonal al sistema nervioso central. Además de los elementos celulares, se ha descubierto que la PrP anormal puede ligarse al plasminógeno, lo que permitiría una forma de transporte complementario de PrP en la sangre (Fischer et al., 2000).

Una vez en el sistema nervioso, la implicación de células intermediarias en la propagación de PrP y en el daño neuronal ha sido destacado en distintos modelos *in vitro* e *in vivo* (Brown et al., 1996a y b; Raeber et al., 1997; Brown, 1999). Las células astrogliales contienen PrP (Moser et al., 1995), aparecen infectadas en fases tempranas de la enfermedad cerebral (Diedrich et al., 1991) y presentan alteraciones en las EETs humanas y animales (Eklund et al., 1967; Beck, Daniel, 1987). La proliferación astrogliosa ocurre posteriormente en paralelo con el progresivo depósito de PrP anormal en el sistema nervioso (Jendroska et al., 1991; DeArmond et al., 1992). La aparición de alteraciones neuropatológicas en el *scrapie* experimental se asocia con expresión de varias citoquinas, el origen glial de las cuales no puede descartarse (Campbell et al., 1994; Williams et al., 1994). Estudios recientes han mostrado expresión de NF $\kappa$ B en astrocitos en *scrapie* inducido (Kim et al., 2000). La concatenación de estos datos es, sin embargo, dificultosa. Distintos estudios han mostrado una activación temprana de la microglia, antes de que aparezcan otras lesiones tisulares, en el cerebro de ratones infectados con *scrapie* y se ha propuesto que la activación microglial es un factor determinante en el daño neuronal asociado a *scrapie* (Williams et al., 1994a y b; Betmouni et al., 1996; Williams et al., 1997; Giese et al., 1998).

Estudios con el péptido PrP 106-126 han mostrado que el péptido favorece la proliferación astrocitaria (Brown et al., 1998; Brown, 1999). Este efecto parece precedido por activación microglial (Brown et al., 1996a y b) y se ha propuesto una activación astrocitaria mediada por factores microgliales (Brown et al., 1998f). Por otra parte, la sobre-expresión de proteína PrP favorece la toxicidad por el péptido PrP 106-126 y este efecto es mediado por la microglia (Brown, 1998f). Tomados en su conjunto, estos datos otorgan a las células gliales un papel crucial en la afectación del sistema nervioso por *scrapie* y, quizás, por otras prionopatías.

#### *Comentarios finales y perspectivas de estudio*

En pocos años ha habido descubrimientos importantes para un mejor conocimiento de las EETs, empezando por la particular naturaleza del agente causal. Sin embargo, hay muchos hechos todavía oscuros. Aspectos clave en el desarrollo y la progresión de la enfermedad priónica son: 1.- vías de entrada, de las cuales se conoce como muy posible la vía alimentaria en el kuru, en la EEB y en la nvECJ, pero se desconoce la forma de transmisión en otros casos, como es la forma esporádica de ECJ; 2.- transporte de la proteína anómala por la sangre en el *scrapie*, en donde los linfocitos B tienen un papel relevante; 3.- acumulación de PrP<sup>SC</sup> en órganos linfoides secundarios incluyendo el bazo, los ganglios linfáticos y amígdalas, al menos en algunas enfermedades priónicas, pero no con seguridad en la forma clásica de ECJ; 4.- llegada y propagación en el sistema nervioso central, quizás con la mediación de las células gliales

astrocitos y microglia, cuanto menos en *scrapie* experimental; 5.- invasión del tejido nervioso donde es fundamental la presencia de PrP normal para que se produzca el la conversión de PrP<sup>C</sup> en PrP<sup>SC</sup>; 6.- posible intervención de proteínas o agentes intermedios que modifiquen la conformación de la proteína dando lugar a la isoforma patogénica; 7.- interacción con el sistema de transporte intraneuronal y con el sistema de señalización de las membranas neuronales, incluyendo proteínas de membrana y proteínas asociadas a la membrana. 8.- posible ampliación del daño celular por estrés oxidativo y por daño excitotóxico mediado, este último, por receptores de glutamato; 9.- activación específica y no específica de vías de reparación y de muerte neuronal.

## REFERENCIAS

- Aguzzi A, Weissmann C. Prion research: the next frontiers. *Nature* 1997;389:795-798
- Basler K, Oesch B, Scott M, Westaway D, walchli M, Grth DF, McKinley MP, Prusiner SB, Weissmann C. Scrapie and cellular PrP isoforms are encoded by the same chromosomal gene. *Cell* 1986;46:417-428
- Beck E, Daniel PM. Neuropathology of transmissible spongiform encephalopathies. In *Prions: Novel Infectious Pathogens Causing Scrapie and Creutzfeldt-Jakob disease* (ed. Prusiner S.B. and McKinley M.P.), 1987, pp. 331-385. Academic Press, Orlando.
- Bell JE, Ironside JW Neuropathology of spongiform encephalopathies in humans. *Brit Med Bull* 1993;49:738-777
- Berciano J, Berciano MT, Polo JM, Figols J, Ciudad J, Lafarga M. Creutzfeldt-Jakob disease with severe involvement of cerebral white matter and cerebellum. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1990;417: 533-538
- Betmouni S, Perry VH, Gordon JL. Evidence for an early inflammatory response in the central nervous system of mice with early scrapie. *Neuroscience* 1996;74:1-5
- Borchelt DR, Koliatsos VE, Guarnieri M, Pardo CA, Sisodia SS, Price DL. Rapid anterograde transport of the cellular prion glycoprotein in the peripheral and central nervous system. *J Biol Chem* 1994;269:14711-14714
- Brandner S, Isenmann S, Raeber A, Fischer M, Sailer A, Kobayashi Y, Marino S, Weissmann C, Aguzzi A. Normal host protein necessary for scrapie-induced neurotoxicity. *Nature* 1996;379:339-343
- Brown DR. Prion protein-overexpressing cells show altered response to a neurotoxic prion protein peptide. *J Neurosci Res* 1998;54:331-340
- Brown DR. Prion protein peptide neurotoxicity can be mediated by astrocytes. *J Neurochem* 1999;73:1105-1113
- Brown DR. Prion and prejudice: normal protein and the synapse. *Trends Neurosci* 2001;24:85-90
- Brown DR, Besinger A. Prion protein expression and superoxide dismutase activity. *Biochem J* 1998;334:423-429
- Brown DR, Besinger A, Herms JW, Kretschmar HA. Microglia expression of the prion protein. *NeuroReport* 1998a;9:1425-1429
- Brown DR, Herms J, Kretschmar HA. Mouse cortical cells lacking cellular PrP survive in culture with a neurotoxic PrP fragment. *NeuroReport* 1994;5:2057-2060
- Brown DR, Herms J, Schmidt B, Kretschmar HA. Different requirements for the neurotoxicity of fragments PrP and  $\beta$ -amyloid. *Eur J Neurosci* 1997a;9:162-1169
- Brown DR. Pitschke M, Riesner D, Kretschmar HA. Cellular effects of a neurotoxic prion protein peptide are related to its  $\beta$ -sheet configuration. *Neurosci Res Commun* 1998b;23:119-128
- Brown DR, Qin K, Herms JW, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser PE, Kruck T, von Bohlens A, Schulz-Schaeffer W, Giese A, Westaway D, Kretschmar H. The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature* 1997b;390:684-687
- Brown DR, Schmidt B, Groschup MH, Kretschmar HA. Prion protein expression in muscle cells and toxicity of a prion protein fragment. *Eur J cell Biol* 1998c;75:29-37

- Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA. Role of microglia and host prion protein in neurotoxicity of a prion fragment. *Nature* 1996a;380:345-347
- Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA. A neurotoxic prion protein fragment enhances proliferation of microglia but not astrocytes in culture. *Glia* 1996b;18:59-67
- Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA. Effects of copper on survival of prion protein knockout neurons and glia. *J Neurochem* 1998d;70:1686-1693
- Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA. Prion protein fragment interacts with PrP-deficient cells. *J Neurosci Res* 1998e;52:260-267
- Brown DR, Schmidt B, Kretzschmar HA. A prion protein fragment primes type 1 astrocytes to proliferation signals from microglia. *Neurobiol Dis* 1998f;4:410-422
- Brown DR, Schulz-Schaeffer WJ, Schmidt B, Kretzschmar HA. Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity. *Exp Neurol* 1997c;146:104-112
- Bruce ME, McBride PA, Farquhar CF. Precise targeting of the pathology of the sialoglycoprotein PrP and vacuolar degeneration in mouse scrapie. *Neurosci Lett* 1989;102:1-6
- Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenreid P, Aguet M, Weissmann C. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 1993;73:1339-1347
- Büeler H, Fisher M, Lang Y, Blurthmann H, Lipp HP, DeArmond SJ, Prusiner SB, Aguet M, Weissmann C. Normal development and behavior of mice lacking the neuronal surface PrP protein. *Nature* 1992;365:577-582
- Cammarata S, Tabaton M. Ubiquitin-reactive axons have a widespread distribution and are unrelated to prion protein plaques in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neurol Sci* 1992;110:32-36
- Campbell IL, Eddleston M, Kemper P, Oldstone MB, Hobbs MV. Activation of cerebral cytokine gene expression and its correlation with onset of reactive astrocyte and acute-phase response gene expression in scrapie. *J Virol* 1994;68:2383-2387
- Cashman NR, Loetscher R, Nalbantoglu J, Shaw I, Kacsak RJ, Bolton DC, Bendheim PE. Cellular isoform of the scrapie agent participates in lymphocyte activation. *J Virol* 1994;68:2383-2387
- Caughey B, Chesebro B. Prion protein and the transmissible spongiform encephalopathies. *Trends Cell Biol* 1997;7:56-62
- Caughey BW, Dong A, Bhat KS, Ernst D, Hayes SF, Caughey WS. Secondary structure analysis of the scrapie-associated protein PrP 27-30 in water by infrared spectroscopy. *Biochemistry* 1991;30:7672-7680
- Caughey B, Race RE, Chesebro B. Detection of prion protein mRNA in normal and scrapie-infected tissues and cell lines. *J Gen Virol* 1988;69:711-716
- Choi SI, Ju WK, Choi EK, Kim J, Lea HZ, Carp RI, Wisniewski HM, Kim YS. Mitochondrial dysfunction induced by oxidative stress in the brains of hamsters infected with 263K scrapie agent. *Acta Neuropathol* 1998;96:279-286
- Chou SM, Payne WN, Gibbs CJ, Gajdusek DC. Transmission and scanning electron microscopy of spongiform change in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 1980;103: 885-904
- Clinton J, Forsyth C, Royston MC, Roberts GW. Synaptic degeneration is the primary neuropathological feature in prion disease: a preliminary study. *NeuroReport* 1993;4: 65-68
- Colling SB, Collinge J, Jefferys JG. Hippocampal slices from prion protein null mice: disruption of Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> currents. *Neurosci Lett* 1996;209:49-52
- Collinge J, Palmer MS (eds). *Prion diseases*. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo, 1997
- Collinge J, Whittington MA, Sidle KCL, Smith J, Palmer MS, Clarke AR, Jeffreys JGR. Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 1994;370: 295-297
- DeArmond SJ, Kristensson K, Bowler RP. PrPSC causes nerve cell death and stimulates astrocyte proliferation: a paradox. *Progr Brain Res* 1992;94:437-446



- DeArmond SJ, Mabley WC, De Mott DL, Barry RA, Beckstead JH, Prusiner SB. Changes in the localization of brain prion proteins during scrapie infection. *Neurology* 1987;37: 1271-1280
- DeArmond SJ, Prusiner SB. Etiology and pathogenesis of prion diseases. *Am J Pathol* 1995;146: 785-811
- DeArmond SJ, Prusiner SB. Prion diseases. En: *Greenfield's Neuropathology*, (ed. Graham D.I. and Lantos P.L.), 1997a, vol. 2, pp. 235-280, Arnold, London, Sydney, Auckland
- DeArmond SJ, Prusiner SB. Molecular neuropathology of prion diseases. En: *The molecular and genetic basis of neurological disease* (ed. Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL), 1997b, pp. 145-163, Butterworth-Heinemann, Boston, Oxford, Johannesburg, Melbourne, New Delhi, Singapore
- Diedrich JF, Bendheim PE, Kim YS, Carp RI, Haase AT. Scrapie-associated prion protein accumulates in astrocytes during scrapie infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:375-379
- Dorandeu A, Wingerstmann L, Chrétien F, Delisle MB, Vital C, Parchi P, Montagna P, Lugaresi E, Ironside JW, Budka H, Gambetti P, Gray F. Neuronal apoptosis in fatal familial insomnia. *Brain Pathol* 1998;8: 531-537
- Eklund CM, Kennedy RC, Hadlow WJ. Pathogenesis of scrapie virus infection in the mouse. *J Infect Dis* 1967;117:15-22
- El Hachimi KH, Chaunu MP, Brown P, Foncin JF. Modifications of oligodendroglial cells in spongiform encephalopathies. *Exp Neurol* 1998;154:23-30
- Ferrer I. Nuclear DNA fragmentation in Creutzfeldt-Jakob disease: does a mere positive in situ nuclear end-labeling indicate apoptosis? *Acta Neuropathol* 1999;97:5-12
- Ferrer I, Casas R, Rivera R. Parvalbumin-immunoreactive cortical neurons in Creutzfeldt-Jakob disease. *Ann Neurol* 1993;34:864-866
- Ferrer I, Costa F, Grau Veciana JM. Creutzfeldt-Jakob disease: a Golgi study. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1981;7: 237-242
- Ferrer I, Kulisewski J, Vázquez J, González A, Pineda M. Purkinje cells in degenerative diseases of the cerebellum and its connections: a Golgi study. *Clin Neuropathol* 1988;7: 237-242
- Ferrer I, Ribera R, Blanco R, Martí E. Expression of proteins linked to exocytosis and neurotransmission in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Neurobiol Dis* 1999;6:92-100
- Ferrer I, Puig B, Blanco R, Martí E. Prion protein deposition and abnormal synaptic protein expression in the cerebellum in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuroscience* 2000;97:715-726
- Fischer MB, Roeckl C, Parizek P, Schwarz HP, Aguzzi A. Binding of disease-associated prion protein to plasminogen. *Nature* 2000;408: 479-483
- Fischer M, Rülcke T, Raeber A, Sailer A, Moser M, Oesch B, Brandner S, Aguzzi A, Weissmann C. Prion protein (PrP) with amino-proximal deletions restoring susceptibility of PrP knockout mice to scrapie. *EMBO J* 1996;15:1255-1264
- Forloni G, Angeretti N, Chiesa R, Monzani E, Salmona M, Bugiani O, Tagliavini F. Neurotoxicity of a prion protein fragment. *Nature* 1993;362:543-546
- Fournier JG, Escaig-Haye F, Billette de Villemeur T, Robain O. Ultrastructural localization of cellular prion protein (PrP<sup>C</sup>) in synaptic boutons of normal hamster hippocampus. *CR Acad Sci III* 1995;318: 339-344
- Fournier GJ, Escaig-Haye F, Grigoriev V. Ultrastructural localization of prion proteins: physiological and pathological implications. *Microscop Res Tech* 2000;50:76-88
- Fraser H, Dickinson AG. Targeting of scrapie lesions and spread of the agent via the retino-tectal projection. *Brain Res* 1985;346: 32-38
- Giese A, Brown DR, Groschup MH, Feldman C, Haist I, Kretzschmar HA. Role of microglia in neuronal cell death in prion disease. *Brain Pathol* 1998;8:449-457
- Giese A, Groschup M, Hess B, Kretzschmar H. Neuronal cell death in scrapie-infected mice is due to apoptosis. *Brain Pathol* 1995;5: 213-221
- Gray F, Delisle MB, Vital A, Wingerstmann L, Julien J, Géraud G, Vital C. Neuronal apoptosis in human prion diseases. *Brain Pathol* 1997;7:1268

- Guentchev M, Groschup MH, Kodek R, Liberski PP, Budka H. Severe, early and selective loss of a subpopulation of GABAergic inhibitory neurons in experimental transmissible spongiform encephalopathies. *Brain Pathol* 1998;8:615-623
- Guentchev M, Hainfellner JA, Trabattoni GR, Budka H. Distribution of parvalbumin-immunoreactive neurons in brain correlates with hippocampal and temporal cortical pathology in Creutzfeldt-Jakob disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 1997; 56: 1119-1124
- Guentchev M, Voigtländer T, Haberler C, Groschup MH, Budka H. Evidence for oxidative stress in experimental prion disease. *Neurobiol Dis* 2000;7:270-273
- Guentchev M, Wanschitz J, Voigtländer T, Flicker H, Budka H. Selective neuronal vulnerability in human prion diseases: fatal familial insomnia differs from other types of prion diseases. *Am J Pathol* 1999;155:1453-1457
- Hadlow WJ. Neuropathology and the scrapie-kuru connection. *Brain pathol* 1995;5:27-32
- Haeberlé AM, Ribaut-Barassin C, Bombarde G, Mariani J, Hussmann G, Grassi J, Bailly Y. Synaptic prion immunoreactivity in the rodent cerebellum. *Microsc Res Tech* 2000;50:66-77
- Haraguchi T, Fisher S, Olofson S, Endo T, Groth D, Tarentino A. Asparagine-linked glycosylation of the scrapie and cellular prion proteins. *Arch Biochem Biophys* 1989;274:1-13
- Harrison MD, Jones CE, Soloioz M, Dameron CT. Intracellular copper routing: the role of copper chaperones. *Trends Biol sci* 2000;25:29-32
- Herms JW, Kretschmar HA, Tilz S, Keller BU. Patch-clamp analysis of synaptic transmission to cerebellar Purkinje cells of prion protein knockout mice. *Eur J Neurosci* 1995;12: 2508-2512
- Herms JW, Tings T, Gall S, Madlung A, Giese A, Siebert H, Schürmann P, Windl O, Brose N, Kretschmar H. Evidence of presynaptic location and function of the prion protein. *J Neurosci* 1999;15: 8866-8875
- Hogan RN, Baringer JR, Prusiner SB. Scrapie infection diminishes spines and increases varicosities of dendrites in hamsters: a quantitative Golgi study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1987;46: 461-473
- Hornshaw MP, McDermott JR, Candy JM. Copper binding to the N-terminal tandem repeat regions of mammalian and avian prion protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;207:621-629
- Ironside JW. Review: Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Pathol* 1996;6:379-388
- Ironside JW, Bell JE. Pathology of prion diseases. In: *Prion Diseases*, (ed. Collinge J. and Palmer M.S.), 1997, pp. 56-88. Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.
- Jeffrey M, Fraser JR, Halliday WG, Fowler N, Goodsir CM, Brown DA. Early unsuspected neuron and axon terminal loss in scrapie-infected mice revealed by morphometry and immunohistochemistry. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1995;21:41-49
- Jeffrey M, Goodsir CM, Bruce ME, McBride PA, Scott JR, Halliday WG. Infection scrapie prion protein (PrP) accumulates on neuronal plasmalemma in scrapie infected mice. *Neurosci Lett* 1992;147:106-109
- Jeffrey M, Goodsir CM, Bruce ME, McBride PA, Farquhar C. Morphogenesis of amyloid plaques in 87V murine scrapie. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1994;20: 535-542
- Jeffrey M, Halliday WG. Numbers of neurons in vacuolated and nonvacuolated neuroanatomical nuclei in bovine spongiform encephalopathy-affected brains. *J Comp Path* 1994;110: 287-294
- Jendroska K, Heinzl FP, Torchia M, Stowring L, Kretschmar HA, Kon A, Stern A, Prusiner SB, DeArmond SJ. Proteinase-resistant prion protein accumulation in Syrian Hamster brain correlates with regional pathology and scrapie infectivity. *Neurology* 1991;41:1482-1490
- Keshet GI, Ovadia H, Taraboulos A, Gabizon R. Scrapie-infected mice and PrP knockout mice share abnormal localization and activity of neuronal nitric oxide synthase. *J Neurochem* 1999;72:1224-1231
- Klein MA, Aguzzi A. The neuroimmune interface in prion diseases. *News Physiol Sci* 2000;15: 250-254
- Klein MA, Frigg R, Flechsig E, Raeber AJ, Kalinke U, Bluethmann H, Bootz F, Suter M, Zinkernagel RM, Aguzzi A. A crucial role for B cells in neuroinvasive scrapie. *Nature* 1997;390:687-690

- Klein MA, Frigg R, Raeber AJ, Flechsing E, Hegyi I, Zinkernagel RM, Weissmann C, Aguzzi A. PrP expression in B lymphocytes is not required for prion neuroinvasion. *Nature Med* 1998;4:1429-1433
- Kim KI, Ju WK, Choi JH, Kim J, Choi EK, Carp RI, Wisniewski HM, Kim YS. Expression of cytokine genes and increased nuclear factor-kappa B activity in the brains of scrapie-infected mice. *Mol Brain Res* 1999;73:17-27
- Kitamoto T, Don-ura K, Muramoto T, Niyazono M, Tateishi J. The primary structure of the prion protein influences the distribution of abnormal prion protein. *Am J Pathol* 1992a;141: 271-272
- Kitamoto T, Muramoto T, Mohri S, Don-ura K, Tateishi J. Abnormal isoform of prion protein accumulates in follicular dendritic cells in mice with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Virol* 1991;65:6292-6295
- Kitamoto T, Shin RW, Don-ura K, Tonokane N, Miyazono N, Muramoto T, Tateishi J. Abnormal isoform of prion protein accumulates in the synaptic structures of the central nervous system in patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *Am J Pathol* 1992b;140:1285-1294
- Kretzschmar HA, Prusiner SB, Stowring LE, DeArmond SJ. Scrapie prion proteins are synthesized in neurons. *Am J Path* 1986;122:1-5
- Kretzschmar HA, Stowring LE, Westaway D, Stubblebine WH, Prusiner SB, DeArmond SJ. Molecular cloning of a human prion protein cDNA. *DNA* 1986;5:315-324
- Kristensson K, Fuerstein B, Tarabou8los A, Huyn WC, Prusiner SB, DeArmond SJ. Scrapie prions alter receptor-mediated calcium responses in cultured cells. *Neurology* 1993;43:2335-2341
- Landis DN, Williams RS, Masters CL. Golgi and electronmicroscopic studies of spongiform encephalopathies. *Neurology* 1981;31: 538-549
- Lantos PL. From slow virus to prions: a review of transmissible spongiform encephalopathies. *Histopathology* 1992;20:1-11
- Liberski P, Yanigahira R, Asher DM, Gibbs CJ, Gajdusek DC. Reevaluation of the ultrastructural pathology of experimental Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain* 1990;113:121-137
- Lledó PM, Tremblay P, DeArmond SJ, Prusiner SB, Nicoll RA. Mice deficient for prion protein exhibit normal neuronal excitability and synaptic transmission in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:2403-2407
- Locht C, Chesebro B, Race R, Keith JM. Molecular cloning and complete sequence of prion protein cDNA from mouse brain infected with scrapie agent. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:6372-6376
- Lucassen PJ, Williams A, Chung WC, Fraser H. Detection of apoptosis in murine scrapie. *Neurosci Lett* 1995;198:185-188
- Manson JCClarke AR, Hooper ML, Aitchison L, McConnell I, Hope J. 129/Ola mice carrying a null mutation in PrP that abolishes mRNA production are developmentally normal. *Mol Neurobiol* 1994;8:121-127
- Masters CL, Gajdusek DC. The spectrum of Creutzfeldt-Jakob disease and the virus-induced subacute spongiform encephalopathies. In: *Advances in Neuropathology* (ed. Thomas Smith W. and Cavanagh J.B.), vol. 2, 1982, pp. 139-143, Churchill Livingstone, Edinburgh, London, Melbourne, New York.
- McBride PA, Eikelenboom P, Kraal G, Fraser H, Bruce ME. PrP protein is associated with follicular dendritic cells of spleens and lymph nodes in uninfected and scrapie-infected mice. *J Pathol* 1992;168:413-418
- McLean CA, Ironside JW, Alpers MP, Brown PW, Cervenakova L, Anderson RM, Masters CL. Comparative neuropathology of kuru with the new variant of Creutzfeldt-Jakob disease. Evidence for strain and agent predominating over genotype of host. *Brain pathol* 1998;8:429-438
- Meyer RK, McKinley MP, Bowman KA, Barry RA, Prusiner SB. Separation and properties of cellular and scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:2310-2314
- Milhavet O, McMahon EM, Rachidi W, Nishida N, Katamine S, Mangé A, Arlotto M, Casanova D, Riondel J, Favier A, Lehmann S. Prion infection impairs the cellular response to oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:13937-13942

- Miura T, Hori IA, Takeuchi H. Metal-dependent  $\alpha$ -helix formation promoted by the glycine-rich octapeptide region of prion protein. *FEBS Lett* 1996;396:248-252
- Moser M, Colello RJ, Pott U, Oesch B. Developmental expression of the prion protein gene in glial cells. *Neuron* 1995;14:509-517
- Müller WEG, Ushijima H, Schröder HC, Forrest JMS, Schatton WHFH, Rytic PG, Heffner-Laue M. Cytoprotective effect of NMDA receptor antagonists on prion protein (PrP<sup>Sc</sup>): Induced toxicity in rat cortical cell cultures. *Eur J Pharmacol* 1993;246:261-267
- Oesch B, Westaway D, Wälchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB, Weissmann C. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 1985;40:735-746
- Ovadia H, Rosenmann H, Shezen E, Halimi M, Ofra I, Gabizon R. Effect of scrapie infection on the activity of neuronal nitric-oxide synthase in brain and neuroblastoma cells. *J Biol Chem* 1996;271:16856-16861
- Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen FE, Prusiner SB. Conversion of  $\alpha$ -helices into the  $\beta$ -sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10962-10966
- Prusiner SB. Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science* 1982;216:136-144
- Prusiner SB. Scrapie prions. *Annu Rev Microbiol* 1989;43:345-374
- Prusiner SB. Molecular biology of prion diseases. *Science* 1991;252:1515-1522
- Prusiner SB. Transgenic investigations of prion diseases of humans and animals. *Philos Trans R Soc Lon Biol* 1993;339:239-254
- Prusiner SB. Cell biology and transgenic models of prion diseases. In: *Prion diseases* (ed. Collinge J. and Palmer M.S.), 1997a, pp. 130-162, Oxford University Press, Oxford, New York, Tokyo.
- Prusiner SB. Prion diseases and the BSE crisis. *Science* 1997b;278:245-251
- Prusiner SB. Biology of prions. En: *The molecular and genetic basis of neurological disease* (ed. Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL), 1997c, pp. 103-143, Butterworth-Heinemann, Boston, Oxford, Johannesburg, Melbourne, New Delhi, Singapore
- Prusiner SB. The prion diseases of human and animals. En: *The molecular and genetic basis of neurological disease* (ed. Rosenberg RN, Prusiner SB, DiMauro S, Barchi RL), 1997d, pp. 165-186, Butterworth-Heinemann, Boston, Oxford, Johannesburg, Melbourne, New Delhi, Singapore
- Prusiner SB, Groth D, Serban A, Koehler R, Foster D, Torchia M, Burton D, Yang SL, DeArmond SJ. Ablation of the prion protein (PrP) gene in mice prevents scrapie and facilitates production of anti-PrP antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:10608-10612
- Puig B, Ferrer I. Cell death signaling in the cerebellum in Creutzfeldt-Jakob disease. *Acta Neuropathol* 2001 (en prensa)
- Raeber AJ, Klein MA, Frigg R, Flechsig E, Aguzzi A, Weissmann C. PrP-dependent association of prions with splenic but not circulating lymphocytes of scrapie-infected mice. *EMBO J* 1999;18:2702-2706
- Raeber AJ, Race RE, Brandner S, Priola SA, Sailer A, Bessen RA, Mucke L, Manson J, Aguzzi A, Oldstone MBA, Weissmann C, Chesebro B. Astrocyte-specific expression of hamster prion protein (Prp) renders PrP knockout mice susceptible to hamster scrapie. *EMBO J* 1997;16:6057-6065
- Race RE, Priola SA, Bessen RA, Ernst D, Dockter J, Rall GF, Mucke L, Chesebro B, Oldstone MB. Neuron-specific expression of a hamster prion protein minigene in transgenic mice induces susceptibility to hamster scrapie agent. *Neuron* 1995;15:183-1191
- Sailer A, Büeler H, Fischer M, Aguzzi A, Weissmann C. No propagation of prions in mice devoid of PrP. *Cell* 1994;77:967-968
- Sakaguchi S, Katamine S, Nishida N, Moriuchi R, Shigematsu K, Sugimoto T, Nakatani T, Kataoka Y, Houtani H, Shirabe S, Okada H, Hasegawa S, Myamoto T, Noda T. Loss of cerebellar Purkinje cells in aged mice homozygous for a disrupted PrP gene. *Nature* 1996;380:528-531

- Salès N, Rodolfo K, Hasssig R, Fancheaux B, DiGianbardino L, Moya KL. Cellular prion protein localization in rodent and primate brain. *Eur J Neurosci* 1998;10:2464-2471
- Stockel J, Safar J, Wallace AC, Cohen FE, Prusiner SB. Prion protein selectively binds copper(II) ions. *Biochem* 1998;37:7185-7193
- Suenaga T, Hirano A, Llana JF, Ksiezak-Reding H, Yen SH, Dickson DW. Ubiquitin immunoreactivity in kuru plaques in Creutzfeldt-Jakob disease. *An Neurol* 1990;28:174-177
- Tobler I, Gaus SE, Deboer T, Achermann P, Fisher M, Rüdlicke T, Moser M, Oesh B, McBride PA, Manson JC. Altered circadian activity rhythms and sleep in mice devoid of prion protein. *Nature* 1986;380:639-642
- van Keulen LJ, Schreuder BE, Meloen RH, Poelen-van der Berg M, Mooji-Harkes G, Vromans ME, Langeveld JP. Immunohistochemical detection and localization of prion protein in brain tissue of sheep with natural scrapie. *Vet Pathol* 1995;32:299-308
- Waggoner DJ, Bartnikas TB, Gitlin JD. The role of copper in neurodegenerative disease. *Neurobiol Dis* 1999;6:221-230
- Wells GAH, Wilesmith JW. The neuropathology and epidemiology of bovine spongiform encephalopathy. *Brain Pathol* 1995;5:91-103
- Williams AE, Lawson LJ, Perry VH, Fraser H. Characterization of microglial response in murine scrapie. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1994a;20:47-55
- Williams A, Lucassen PJ, Ritchie D, Bruce M. PrP deposition, microglial activation and neuronal apoptosis in murine scrapie. *Exp Neurol* 1997;444:433-438
- Williams AE, van DAM, Man AHWK, Berkenbosch F, Eikelenboom P, Fraser H. Cytokines, prostaglandins and lipocortin-1 are present in the brains of scrapie-infected mice. *Brain Res* 1994b;654:200-206
- Wong BS, Pan T, Liu T, Li R, Gambetti P, Sy MS. Differential contribution of superoxide dismutase activity by prion protein in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2000a;273:136-139
- Wong BS, Vénien-Bryan C, Williamson RA, Burton DR, Gambetti P, Sy MS, Brown DR, Jones IM. Copper refolding of prion protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2000b;276:1217-1224
- Wopfner F, Weindenhöfer G, Schneider R, von Brunn A, Gilch S, Schwarz TF, Werner T, Schatzl HM. Analysis of 27 mammalian and 9 avian PrPs reveals high conservation of flexible regions of the prion protein. *J Mol Biol* 1999;289:1163-1178
- Yang SL, Torchia M, Carlson GA, Prusiner SB. Degeneration of skeletal muscle, peripheral nerves, and central nervous system in transgenic mice overexpressing wild type prion protein. *Cell* 1994;76:117-129

## **RESÚMENES COMUNICACIONES**

## 1.- APOPTOSIS DE TIMOCITOS EN LA PESTE PORCINA CLÁSICA: MECANISMOS IMPLICADOS.

Sánchez-Cordón, P.; Salguero, J.; Romanini, S\*.; Ruiz-Villamor, E.; Carrasco, L.; Gómez-Villamandos, J.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. \*Dpto. Patología Animal, FAV.Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.

La PPC se caracteriza por una intensa linfopenia y la atrofia del timo, producida por una disminución de la corteza. Sin embargo, se desconocen los mecanismos responsables de estos fenómenos y su relación con la infección vírica.

El objetivo de este trabajo sería determinar los cambios que sufren los monocitos/macrófagos, principales células blanco del virus, y su posible relación con los fenómenos de apoptosis linfocitaria.

Las muestras de timo de tomaron de 44 cerdos Largewhite x Landrace, de 3 meses de edad, inoculados con la cepa virulenta "Alfort" del virus, siendo sacrificados en lotes de 4 animales desde el día 2 al 23 post-inoculación (dpi). 4 cerdos de similares características fueron utilizados como controles. Las muestras se fijaron en formol tamponado, solución de Bouin y glutaraldehído al 2'5%. El estudio IHQ se realizó utilizando una batería de anticuerpos (gp55, MAC-387, SWC3, C1q, TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) mediante la técnica de la avidina-biotina-peroxidasa (ABC). Técnicas ultraestructurales rutinarias junto a la técnica de Tunel se utilizaron para el estudio de los fenómenos de apoptosis.

La atrofia del timo producida por la disminución de la corteza se asocia a fenómenos de apoptosis linfocitaria, detectados desde el 3dpi, siendo evidentes desde el 7dpi. El antígeno vírico se detectó desde el 2dpi, siendo su presencia significativa a partir del 7dpi, principalmente en macrófagos, fibroblastos y células dendríticas de la médula principalmente, pero no en linfocitos. Se produjo un incremento en el número de macrófagos en la primera fase de la enfermedad tanto en médula como en corteza. Con el estudio IHQ se comprobó la existencia de distintos mediadores químicos (TNF $\alpha$ , IL-1, IL-6) producidos por los macrófagos, que presentaron signos de actividad secretora y fagocítica observados mediante técnicas ultraestructurales. Los fenómenos de apoptosis linfocitaria podrían estar relacionados con la presencia de macrófagos activados y con la liberación de mediadores químicos, descartándose la infección vírica de los linfocitos como la causa principal de dicha apoptosis.

Este trabajo ha sido financiado por la DGESIC (PB 98-1033)

## **2.- PATOGENIA DE LA PESTE PORCINA AFRICANA: PRODUCCIÓN DE CITOQUINAS POR LOS MACROFAGOS PULMONARES.**

Núñez, F.J. Salguero, S. Romanini, F. Diaz-San Segundo, M.J. Bautista y **L.Carrasco**.

Dpto de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). E-mail: [an1caotl@uco](mailto:an1caotl@uco).

Con el objetivo de estudiar la posible participación de las citokinas (IL-1 y TNF) en la aparición del edema pulmonar, característico de las formas agudas de la Peste Porcina Africana (PPA), se inocularon 21 cerdos por vía intramuscular con el virus de la PPA (aislado E70). Los animales inoculados fueron sacrificados en grupos de tres entre el primer y séptimo día post inoculación, utilizándose dos animales adicionales como control. Las muestras de pulmón fueron fijadas en formol, solución de Bouin y glutaraldehído, procesándose de forma rutinaria para el estudio inmunohistoquímico y ultraestructural. El estudio inmunohistoquímico se llevó a cabo mediante la técnica del ABC utilizando anticuerpos frente a IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , SWC-3 y el antígeno vírico Vp73.

En los animales inoculados se observó una intensa activación de los macrófagos intravasculares pulmonares (MIPs), acompañada de un incremento en la expresión de IL-1 $\alpha$  y TNF- $\alpha$ , coincidiendo con la aparición de la replicación del virus en estas células. Cambios que fueron observados previamente a la aparición del edema intersticial y del secuestro de neutrófilos y formación de microtrombos de fibrina en los capilares septales. Sin embargo, los macrófagos alveolares no mostraron cambios significativos en la expresión de ninguna de estas citocinas, aunque en un pequeño número de estas células se observó la replicación del virus de la PPA.



### 3.- CARACTERIZACIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LAS LESIONES LINFOIDES EN TEJIDOS DE CERDOS INFECTADOS DE FORMA NATURAL POR PCV2

F. Chianini<sup>1</sup>, N. Majó<sup>1</sup>, J. Segalés<sup>1</sup>, J. Domínguez<sup>2</sup> and M. Domingo<sup>1</sup>. <sup>1</sup>Centre de Recerca en Sanitat Animal (CRESA) – Departament de Sanitat i Anatomia Animals (Universitat Autònoma de Barcelona), 08193 Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup>Dpto. de Mejora Genética y Biotecnología, INIA, Valdeolmos 28040 Madrid

El objetivo de este trabajo fue estudiar los cambios de las poblaciones celulares del sistema inmunitario en tejidos de cerdos infectados de forma natural por PCV2, mediante inmunohistoquímica (IMHQ). Se utilizaron diez cerdos, de 2,5 meses de vida, con una sintomatología compatible con síndrome de adelgazamiento post-destete (PMWS). Estos cerdos procedían de una granja convencional de ciclo cerrado de 1300 cerdas, seronegativa frente al virus del síndrome respiratorio y reproductivo porcino al virus de la enfermedad de Aujeszky y a parvovirus porcino. Después del sacrificio se necropsiaron y se tomaron las siguientes muestras: linfonodos (inguinal superficial, submandibular, mesentérico), timo, tonsila, bazo, placa del Peyer, pulmón, riñón y hígado. Las muestras se procesaron de forma rutinaria para estudio histopatológico. Como controles negativos se utilizaron tejidos precedentes de cerdos sanos no infectados por PCV2. El estudio IMHQ se realizó mediante la técnica de ABC utilizando como anticuerpos primarios anti-CD3 (linfocitos T), anti-CD79 $\alpha$  y 3C3/9 (CD45RA) (linfocitos B), anti-lisozima (células del sistema mononuclear fagocítico (SMF)), MAC387 (granulocitos) y BL2H5 (SLAII-DQ) (células presentadoras de antígeno). PCV2 se detectó mediante IMHQ con un anticuerpo policlonal y una técnica de hibridación *in situ*. En todos los animales se observaron lesiones de moderadas a intensas en los órganos linfoides seleccionados. Éstas se caracterizaron por depleción linfocitaria, infiltración histiocitaria y, en algunos casos, presencia de células sincitiales; en órganos linfoides de 5 animales se detectaron cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos. En todos los animales se observó neumonía intersticial de intensidad variable y en tres casos nefritis intersticial leve. En todos los casos tanto el antígeno como el genoma de PCV2, se detectaron, en cantidad variable, en el citoplasma de células del SMF. En el estudio se observó ausencia de linfocitos CD79 $\alpha$  y CD45RA, disminución de linfocitos CD3 y un marcado aumento de células positivas a lisozima. Además se detectó un cambio en la distribución de células presentadoras de antígeno (BL2H5). Estos resultados indican que el PCV2 se asocia a una depleción de moderada a severa de linfocitos y un aumento del número de células del SMF en tejidos linfoides de cerdos afectados de forma natural por PMWS.

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por los proyectos QLRT-PL-199900307 del Quinto Programa Marco 1998-2002 de la Comisión Europea, y 2-FEDER-1997-1341 del Plan Nacional de I+D.

#### **4.- ESTUDIO PATOLÓGICO DE CERDOS INOCULADOS CON EL VIRUS DEL SÍNDROME REPRODUCTIVO Y RESPIRATORIO PORCINO (PRRSV) Y CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2 (PCV2)**

A. Rovira<sup>1</sup>, M. Balasch<sup>2</sup>, J. Segalés<sup>1</sup>, L. Garcia<sup>2</sup>, J. Plana-Duran<sup>2</sup>, C. Rosell<sup>1</sup>,  
M. Domingo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CReSA – Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals (UAB), 08193 Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup>Fort Dodge Veterinaria, S.A., Dept. R&D, 17813 Vall de Bianya, Girona.

El objetivo del presente estudio fue reproducir el síndrome de adelgazamiento post-destete en cerdos convencionales mediante doble inoculación con el PRRSV y PCV2. Se dispuso de 24 lechones repartidos en cuatro grupos: control (n=5), PRRSV (n=5), PCV2 (n=7) y PRRSV+PCV2 (n=7). PCV2 fue inoculado 7 días después de la inoculación de PRRSV, ambos por vía intranasal. Se tomaron temperaturas rectales, pesos y muestras de sangre periódicamente. A los 32 días post-inoculación de PRRSV (PIP) se eutanasiaron y necropsiaron los animales. Se tomaron muestras en formol para su estudio histopatológico, y se realizaron técnicas de detección de PCV2 por hibridación *in situ* y de PRRSV por inmunohistoquímica. Además se realizaron técnicas de PCR para la detección de PCV2 y de PRRSV.

Se observó un menor crecimiento en los cerdos con PRRSV y PRRSV+PCV2. Los cerdos con PRRSV+PCV2 (3/7) tuvieron fiebre entre los días 22 y 29 PIP. Uno de ellos desarrolló un cuadro respiratorio grave y murió el día 25 PIP.

En la necropsia se observó un ligero aumento del tamaño de los linfonodos en 5/5 cerdos del grupo con PRRSV, 3/7 del grupo con PCV2 y 7/7 del grupo con PRRSV+PCV2. El cerdo que enfermó y murió mostraba una moderada depleción linfocitaria con infiltración histiocitaria de los órganos linfoides, y en el citoplasma de histiocitos se observó la presencia de cuerpos de inclusión víricos. Además, este cerdo sufría una neumonía intersticial difusa, moderada a intensa. Dos cerdos del grupo con PCV2 y dos más del grupo con PRRSV+PCV2 tenían lesiones similares en los órganos linfoides pero más leves. La mayoría de cerdos inoculados con los virus desarrollaron neumonía intersticial. PCV2 fue detectado por hibridación *in situ* y PCR en todos los cerdos inoculados con este virus. PRRSV fue detectado por inmunohistoquímica en 2 cerdos y por PCR en 11 de los 12 cerdos inoculados.

Estos resultados indican que un cierto porcentaje de animales pueden desarrollar síndrome de adelgazamiento post-destete cuando presentan una infección doble por PRRSV y PCV2.

## **5.- TUBERCULOSIS POR *Mycobacterium bovis* EN CERDO IBÉRICO.**

González Fernández, J.; Reyes, L. E.; Pérez, V.; Ferreras, M. C.; Geijo, M. V.\*; García Marín, J. F. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

\*NEIKER. Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario. Berreaga, 1. 48160 Derio. Vizcaya

En junio del año 2000, nos fueron remitidas vísceras procedentes de 3 cerdos ibéricos sacrificados en matadero, que mostraban lesiones pulmonares compatibles con tuberculosis, en las que se aisló *Mycobacterium bovis* como agente implicado. Posteriormente, se estudiaron 56 animales de 1 año de edad, de la misma explotación, sacrificados en matadero, en los que se valoraron las lesiones macroscópicas. De 20 de los mismos, se tomaron muestras de sangre para el diagnóstico serológico y de ganglio traqueo-bronquial para el diagnóstico histopatológico y etiológico. En animales adultos de la explotación se realizaron pruebas de ELISA e intradermorreacción (IDR) con PPD bovina, para el diagnóstico de tuberculosis.

En la inspección de las canales, en 44 (79%) de los cerdos se observaron lesiones asociadas a tuberculosis, localizadas, en todos los casos, en los ganglios submandibulares y/o retrofaríngeos laterales. En 38 animales se apreciaron focos de necrosis por caseificación en ganglios bronquiales, de los cuales 6 mostraban lesiones pulmonares graves y extensas. Además, en 10 cerdos se observaron lesiones en hígado y ganglios hepáticos, en 1 en vértebras torácicas, en 3 una tuberculosis perlada en la pleura parietal y en 8, en ganglios linfáticos inguinales. Histológicamente, todas las lesiones se correspondían con granulomas característicos de tuberculosis, en los que la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes fue nula. De los 20 cerdos sacrificados en los que se realizó la técnica ELISA, 15 (todos con lesiones), mostraron una respuesta humoral muy elevada, correlacionándose la gravedad lesional con una mayor respuesta serológica. En los animales adultos, el porcentaje de positividad a las dos pruebas empleadas fue muy elevado, confirmándose la presencia de la infección tuberculosa en todo el colectivo.

## 6.- INMUNOCARACTERIZACIÓN DE LAS LESIONES PULMONARES ASOCIADAS A LA INFECCIÓN NATURAL POR *MYCOPLASMA HYOPNEUMONIAE* EN GANADO PORCINO.

Sarradell J<sup>1</sup>, Andrada M<sup>1</sup>, Gómez-Villamandos JC<sup>2</sup>, Herráez P<sup>3</sup>, Ramírez GA<sup>3</sup>, Ramírez AS<sup>4</sup>, Rodríguez F<sup>3</sup>.

1. Patol. Gral., Fac. de Cs. Veterinarias-UNR-Argentina 2. Dpto. Anat. y Anat. Patol. Comp., Fac. de Veterinaria-UCO. 3. Dpto. de Morfología, Anat. y Anat. Patol. Comp., Fac. de Veterinaria-ULPGC. 4 Epidemiología y Medicina Preventiva, Dpto. de Patología Animal, Fac. de Veterinaria-ULPGC.

*Mycoplasma (M.) hyopneumoniae* es el agente etiológico primario de la Neumonía Enzootica Porcina (NEP). Es una enfermedad respiratoria contagiosa distribuida mundialmente, presente en el 90-95% de las explotaciones y afecta el 70-100% de los cerdos. Macroscópicamente la lesión más importante es una consolidación de la región craneoventral del pulmón de coloración rosa violácea. Histológicamente una neumonía broncointersticial catarral con proliferación peribronquial y perivascular del Tejido Linfoide Asociado a los Bronquios (TLAB). La pared de los alvéolos afectados presenta una hiperplasia de neumocitos tipo II.

En este trabajo nos planteamos caracterizar mediante el uso de la técnica inmunohistoquímica (IHQ) de ABC las poblaciones celulares que componen el TLAB de cerdos infectados naturalmente con *M. hyopneumoniae*, para lo cual se recogieron muestras de la región craneoventral de pulmones de matadero que presentaron lesiones compatibles con NEP y se seleccionaron 25 animales por la ausencia de indicios de contaminación bacteriana secundaria, aislamiento de *M. hyopneumoniae* e IHQ positiva. Como controles se emplearon 4 muestras sin indicios de neumonía, IHQ y cultivo de *M. hyopneumoniae* o bacterias patógenos para el aparato respiratorio negativos. Para determinación de las poblaciones celulares se utilizaron anticuerpos para la detección de los antígenos Lisozima, S-100, Antígeno Mieloide/Histiocítico, CD2, CD3, CD4, CD8, MHC II, IgG–porcina e IgA–porcina.

Del presente trabajo podemos concluir que en los animales infectados naturalmente con *M. hyopneumoniae* se produce un incremento significativo de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> a nivel del TLAB, lo que revela la importancia que poseen los linfocitos Th1 (principalmente inmunidad celular) y Th2 (principalmente inmunidad humoral). Por otra parte, el aumento significativo que se produce en los linfocitos IgG<sup>+</sup> e IgA<sup>+</sup> indica un papel importante en la inmunidad humoral frente a los micoplasmas a nivel del tracto respiratorio.

## **7.- RELACIÓN ENTRE LOS TIPOS LESIONALES Y LA RESPUESTA A PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO INMUNOLÓGICO EN LA PARATUBERCULOSIS BOVINA.**

González Fernández, J.; Pérez, V.; Corpa, J. M.; Reyes, L. E.; Ferreras, M. C.; García Marín, J. F. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

Recientemente, en las especies ovina y caprina, se ha podido establecer una detallada clasificación lesional de la paratuberculosis, basada en el estudio tanto de animales clínicos como subclínicos, que ha permitido la asociación de la respuesta inmune periférica del animal a pruebas diagnósticas con tipos lesionales concretos. El objetivo del estudio es llevar a cabo un estudio similar en la especie bovina. Este trabajo, donde se presentan resultados preliminares, se refiere exclusivamente a las lesiones multifocales y difusas.

En un total de 33 vacas adultas, provenientes de explotaciones bovinas con casos clínicos de paratuberculosis, se llevó a cabo el estudio histológico de diferentes tramos de intestino (válvula ileocecal, íleon, yeyuno), así como de ganglios ileales e ileocecales. En 23 de estos animales se realizaron pruebas de valoración de la respuesta inmune humoral (ELISA e IDGA) y en 19 de la celular (IDR y  $\gamma$ -IFN).

Los 33 animales mostraron claras lesiones asociadas a paratuberculosis, clasificadas en base a su localización e intensidad, tipos celulares predominantes y presencia y cantidad de bacilos ácido-alcohol resistentes (BAAR). En 3 individuos se encontró una forma de lesión denominada ganglionar, consistente en la presencia de pequeños granulomas múltiples, con presencia esporádica de BAAR y localizados exclusivamente en la cortical de los ganglios mesentérico caudal e íeal. En ellos no se observó lesión en la muestra de intestino adyacente. En 16 vacas, la lesión se denominó difusa-multibacilar, caracterizada por un infiltrado difuso de macrófagos con elevado número de BAAR tanto en intestino como en ganglios. Doce vacas mostraron una lesión denominada difusa-linfocítica, al ser éste el tipo celular predominante, junto con células gigantes de Langhans y pequeños grupos de macrófagos, tanto en intestino como en ganglios. El número de BAAR era escaso. En 2 animales, la lesión fue clasificada como intermedia entre las formas multibacilar y linfocítica. Todos, excepto uno, de los animales con lesión multibacilar o intermedia fueron positivos a las prueba de ELISA y sólo uno a las de inmunidad celular. Por el contrario, las pruebas de inmunidad celular mostraron una mayor sensibilidad para la detección de formas linfocíticas y ganglionares. Estas últimas no se han descrito en las especies ovina y caprina.

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto FEDER-CICYT 1FD97-2224

## **8.- VALORACIÓN DE NUEVOS ADYUVANTES EN LA VACUNACIÓN FRENTE A PARATUBERCULOSIS EN CORDEROS.**

Reyes, L. E.; García Marín, J. F.; González Fernández, J.; Pérez, V.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

Las vacunas más comúnmente utilizadas frente a paratuberculosis producen efectos adversos locales y generales en los animales, potenciados en parte por los tipos de adyuvante empleados. El objetivo de este trabajo es evaluar nuevos compuestos adyuvantes en la vacunación frente a esta enfermedad, que minimicen estos efectos indeseables induciendo una respuesta inmune adecuada. Se emplearon 40 corderos de 1 mes de edad, divididos en 4 grupos de 10 (A, B, C, D). En el grupo A se utilizó una vacuna comercial (Gudair®) elaborada con bacilos muertos de *Mycobacterium paratuberculosis* y un adyuvante de aceite mineral en doble emulsión estable. En los grupos B y C se cambió exclusivamente el adyuvante. En el B consistió en una mezcla de aceite mineral y aceite metabolizable y surfactante, y en el C elementos orgánicos. El grupo D se utilizó como control no vacunado. Se estudiaron la respuesta inmune periférica y las características anatomopatológicas del nódulo vacunal y el ganglio preescapular en sacrificios a los 15, 30 y 75 días post-vacunación.

Los corderos del grupo B presentaron la mayor respuesta inmune celular, considerada la más efectiva en micobacteriosis, y la mejor conformación de los nódulos vacunales, siendo de tamaño medio, redondeados, móviles, fibrosos y con una distribución más homogénea del antígeno, asociada a una mayor presencia de macrófagos y linfocitos. En el grupo A los nódulos eran más grandes, irregulares, infiltrantes y con un gran centro necrótico que en algunos casos fistulizó al exterior. La respuesta humoral en este caso fue superior a la observada en el resto de los grupos. Los corderos del grupo C desarrollaron nódulos muy pequeños, formados por granulomas aislados, y una respuesta inmune que en la mayoría de los casos no alcanzó el umbral de positividad establecido para las técnicas de valoración empleadas. En conclusión, el adyuvante empleado en el grupo B indujo la respuesta inmune más adecuada y una reacción local más favorable, lo cual podría ser debido a la menor concentración de hidrocarburos de cadena corta presentes en los aceites minerales y una mejor presentación del antígeno.

## **9.- ESTUDIO ANATOMOPATOLÓGICO, INMUNOHISTOQUÍMICO Y DE PCR EN TRES OVEJAS CON METÁSTASIS EXTRATORÁDICAS ASOCIADAS A ADENOMATOSIS PULMONAR OVINA**

B. Moreno, M. García-Gotí, \*M. de las Heras y N. Gómez

NEIKER (Instituto Vasco de Investigación y Desarrollo Agrario), Berreaga, 1. 48160 - Derio, Vizcaya.

\*Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, 50013, Zaragoza

La adenomatosis Pulmonar Ovina es un tumor pulmonar contagioso asociado a un retrovirus que se observa habitualmente en animales de 2-4 años. Aunque metástasis microscópicas en ganglios pulmonares pueden observarse hasta en un 10% de los casos, las metástasis extratorácicas son muy raras. Este trabajo describe las características anatomopatológicas, inmunohistoquímicas y de PCR de tres casos de adenomatosis con metástasis intra y extratorácicas en dos ovejas y un carnero. La inmunohistoquímica se realizó utilizando un anticuerpo policlonal frente a la proteína de la cápside del virus. La PCR se hizo en muestras fijadas en formol y congeladas.

Los tres animales eran de más de cuatro años, perteneciendo las ovejas a la misma explotación. La sintomatología era extrema delgadez en las ovejas y dificultad de movimiento en el carnero.

Los tres ovinos presentaban lesiones tumorales en las zonas craneoventrales del pulmón y presencia de numerosos nódulos demostrables tras palpación en el resto del parénquima. Las metástasis se observaron en los ganglios pulmonares, pleura costal e hígado de los tres animales, en el riñón de una oveja y en la musculatura del carnero. Las lesiones tumorales hepáticas y renales se correspondían con pequeños nódulos de menos de 2 cms mientras que las de la musculatura, ganglios y pleura costal eran bastante extensas e irregulares. Microscópicamente, las metástasis eran similares a lo observado en pulmón correspondiéndose con un adenocarcinoma tubular. En las metástasis también se observaron abundantes neutrófilos. El virus se detectó por inmunohistoquímica, localizado en células glandulares, y por PCR en todas las metástasis.

## **10.- ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO E INMUNOHISTOQUÍMICO DEL HÍGADO Y GANGLIOS HEPÁTICOS DE OVEJAS REINFECTADAS CON *Fasciola hepatica* CON Y SIN TRATAMIENTO.**

J. Pérez, R. Sánchez-Andrada(1), E., Torres, C. López(2), Martínez-Moreno (3)

Dept. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. (3) Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Cátedra de Parasitología, (2) Unidad de Anatomía Patológica Veterinaria. Facultad de Veterinaria de Lugo.

En este estudio se analizaron un grupo control y 5 grupos de ovejas reinfectadas con distintas dosis de *Fasciola hepática*, dos de ellos también fueron tratados con Triclabendazol. Todas las ovejas infectadas mostraron lesiones hepáticas características de fasciolosis crónica, tales como trayectos fibróticos, fibrosis portal, hiperplasia de canalículos biliares e infiltrado linfoplasmocitario principalmente a nivel portal, y de leucocitos globulares en canalículos biliares. También era frecuente la presencia de granulomas en parénquima hepático y tromboémbolos en venas centrolobulillares y portales, asociados a huevos del parásito. Estas lesiones fueron más severas en los grupos reinfectados con dos series de 7 dosis, tanto tratados como no tratados.

En el parénquima hepático se produjo una intensa respuesta inmune celular y humoral, con abundante infiltrado de linfocitos T (CD3<sup>+</sup>) y B (CD79a<sup>+</sup>), así como células plasmáticas IgG<sup>+</sup>. El infiltrado linfoplasmocitario en parénquima hepático era más intenso en las ovejas reinfectadas con dos series de 7 dosis, lo que indica que la infecciones sucesivas estimulan la respuesta inmune local. Los ganglios linfáticos hepáticos mostraron signos de una intensa respuesta inmune, particularmente de tipo humoral con una marcada hiperplasia de folículos y de cordones medulares conteniendo numerosas células plasmáticas IgG.

Agradecimientos: estudio financiado mediante proyecto (Xuga26104-B98) y Junta de Andalucía (AGR 137).



**11.- ADENOMAS BASALIOIDES DE LA GLÁNDULA MAMARIA EN TRES PERRAS** Javier Ordás, Yolanda Millán, Javier Andrés\*, Miguel Angel Valera\*\*, Carlos Rodríguez\*\*\*, Antonio Espinosa de los Monteros\*\*\*\* y Juana Martín de las Mulas.

Depto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba. (\*) C.V. Thor (Córdoba) (\*\*) C.V. Centauro (Alcortón) (\*\*\*) C.V. Caní Córsega (Barcelona) (\*\*\*\*) Dpto. de Ciencias Morfológicas. ULPG (Las Palmas de Gran Canaria).

El adenoma basaloide de la mama es un tumor benigno caracterizado por la proliferación monomorfa y uniforme de células epiteliales en cordones y nidos sólidos. Se describió por primera vez en 1977 en perras *beagle* tratadas con progestágenos (solos o en combinación con estrógenos) durante largos periodos de tiempo y después se han descrito casos espontáneos de forma aislada. En este trabajo presentamos tres casos de adenoma basaloide desarrollados en sendas perras de pura raza, edad media, no ovariectomizadas, y sin tratamiento hormonal. Dos eran nulíparas, y una había tenido pseudogestaciones manifiestas. La evolución postquirúrgica ha sido favorable.

Las lesiones fueron múltiples en distintas mamas (2 casos) o única, menores de 1 centímetro de diámetro (1 caso), y de color blanquecino homogéneo. El estudio histológico reveló múltiples nódulos bien delimitados rodeados por tejido conjuntivo fibroso denso y constituidos por células epiteliales de núcleos redondeados u ovalados sin atipias dispuestas en cordones o nidos sólidos y separadas por escasa cantidad de estroma conjuntivo fibroso denso o edematoso. A veces, los núcleos de las células más próximas al estroma se disponían en empalizada y las células centrales presentaban diferenciación escamosa con formación de queratina. Las lesiones eran intramamarias, sin relación con la piel o los anejos cutáneos. La población celular proliferante expresó citoqueratina 14 y citoqueratinas 5+8, y carecía de receptores de estrógenos y de progesterona. Entre las células proliferantes se observaron células aisladas que expresaron citoqueratina 14, citoqueratinas 5+8 y calponina (células mioepiteliales) ó citoqueratinas 8+18+19 (células epiteliales glandulares).

Este trabajo ha sido financiado por la DGEICyT (Área de la Salud) del MEC (PM98-0164).

## **12.- CARCINOMA MATRICIAL (PILOMATRICOMA MALIGNO) METASTÁSICO.**

Borràs Murcia D.<sup>1</sup>, Pérez Rivero A<sup>2</sup>, Melo Carmona J<sup>2</sup>, Kabdur Gómez de Segura A<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Citopat Veterinaria SL, Barcelona.

<sup>2</sup> Hospital Veterinario Taco, Taco, Sta. Cruz de Tenerife.

Paciente Schnauzer gigante, macho, de 5 años de edad que ingresa por cojera de miembro anterior derecho de una semana de evolución. Se aprecia un tumor en hombro izquierdo asociado a linfadenomegalia regional. En la exploración se evidencia dolor en la flexión y la extensión de la articulación humeral distal y en la palpación del cóndilo medial de húmero derecho. Radiográficamente no se observan alteraciones óseas.

El cuadro evoluciona de forma rápida a postración y dolor generalizado, decidiéndose la eutanasia un mes después del ingreso.

Se recibe una primera biopsia de tipo "punch" que muestra una proliferación de células de tipo epitelial, de morfología basaloide, organizadas en nidos compactos de pequeño diámetro asociados a necrosis del tejido circundante, con imágenes de infiltración en tejido conjuntivo. Dichas células contienen un citoplasma escaso, basófilo, con núcleo redondo, pequeño, a menudo de bordes irregulares, discretamente anisocariótico, hipercromático o con patrón cromatínico finamente reticulado. No se observan mitosis. Numerosos nidos muestran centros de queratinización matricial. Se emite un diagnóstico inicial de carcinoma de células basales queratinizante o pilomatricoma maligno, solicitándose una segunda biopsia confirmatoria. Dada la evolución del paciente se remite material postmortem que incluye muestras de la lesión cutánea, ganglio linfático y masas pulmonares. Se confirma el diagnóstico presuntivo de pilomatricoma maligno, con metástasis ganglionares y pulmonares.

### **13.- LIPOSARCOMA ÓSEO CANINO. DESCRIPCIÓN DE UN CASO.**

Borràs Murcia D.<sup>1</sup>, López Nájera D.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Citopat Veterinaria SL, Font del Remei 28-30, 08023-Barcelona.

<sup>2</sup> Clínica Veterinaria Gramenet, Sta. Coloma de Gramenet, Barcelona.

Paciente American Staffordshire Terrier de 1,6 meses de edad, hembra que acude a consulta por cojera repentina de la extremidad anterior izquierda, con antecedentes referidos de traumatismo. En la exploración se aprecia dolor en la región carpiana. Se instaura un tratamiento con Carprofeno durante 7 días, sin respuesta. Se realiza un examen radiológico que muestra actividad osteolítica del cúbito distal.

Se recibe biopsia de tejido óseo que muestra una proliferación densa formada por células de tipo mesenquimatoso en crecimiento sólido, con abundante material osteoide intercalado. Dichas células constan de un citoplasma de escaso a moderado, basófilo, con núcleo pleomorfo, discretamente anisocariótico, de cromatina clara o hipercromática. En muchos casos las células muestran un citoplasma transparente, vacuolizado, con desplazamiento excéntrico del núcleo. No se observan mitosis. Se emite un diagnóstico de liposarcoma óseo, con pronóstico desfavorable a corto plazo.

#### **14.- Linfoma maligno angiotrópico asociado a leishmaniosis en un perro de raza DobermanN**

Rodríguez-Bertos, Antonio; Peña, Laura; Pérez-Alenza, Dolores; Pizarro, Manuel; Tabanera, Enrique y Castaño, Maria. Dpto Patología Animal II.

Hospital Clínico Veterinario. Facultad de Veterinaria. UCM. Madrid – 28040.

[arbetos@eucmax.sim.ucm.es](mailto:arbetos@eucmax.sim.ucm.es)

El linfoma maligno intravascular angiocéntrico es una proliferación de linfocitos neoplásicos dentro de la luz y pared de vasos sanguíneos en ausencia de una masa primaria extravascular. Es un proceso neoplásico muy raro que ha sido descrito en el hombre y pequeños animales (perro y gato) (Steinberg, 1996) aunque existen escasas referencias bibliográficas. Esta neoplasia afecta a los vasos de numerosos órganos, pero tiene una especial afinidad por el sistema nervioso central, la piel y los pulmones. En patología humana (Chu y col., 1996; Lapointe y col., 1997) inicialmente se creía que podría tener un origen endotelial, de ahí otra acepción con la que se conoce a este proceso “*angioendoteliomatosis maligna*”. En la especie canina se ha confirmado la naturaleza linfoide de esta neoplasia mediante estudios ultraestructurales e inmunocitoquímicos.

Presentamos un caso de un perro macho de 6 años de edad y raza Dobermann que estaba siendo tratado de Leishmaniosis visceral en el Hospital Clínico Veterinario (UCM) y que posteriormente mostró un cuadro de incoordinación motora y transtornos en el comportamiento. Debido al deterioro físico del animal y a los resultados de las pruebas laboratoriales, incluyendo un elevado título por inmunofluorescencia indirecta frente a *Leishmania* spp. (1/6400 ++), se decidió el sacrificio humanitario del animal. En la necropsia se observaron lesiones características asociadas a la Leishmaniosis, pequeñas áreas de neumonía focal en los lóbulos craneales pulmonares, cistitis crónica y una amplia hemorragia submeníngea en la región temporal derecha acompañada al corte de pequeñas zonas de necrosis. Histológicamente se comprobó la hemorragia meníngea, trombosis y necrosis fibrinoide de la pared de las arteriolas de mediano calibre de la meníngea, observándose en el espacio perivascular un infiltrado de linfocitos maduros y neutrófilos. En dichos vasos y en las arteriolas de pequeño calibre de la meníngea y sustancia blanca adyacente existió una proliferación intravascular e intramural de células neoplásicas grandes, redondas, basófilas y pleomórficas que presentan un alto índice mitótico. Existieron focos de malacia asociados a trombosis vasculares en la sustancia blanca del cortex de la región temporal derecha. Asimismo, se observaron imágenes semejantes en los vasos sanguíneos de distintos órganos, sobre todo en pulmón y vejiga de la orina. No existió evidencia macroscópica o microscópica de un linfoma primario extravascular. Con técnicas inmunocitoquímicas y utilizando un panel de anticuerpos (citoqueratinas, Factor VIII, CD3, CD79a e inmunoglobulina IgG) se comprobó que la mayor parte de las células neoplásicas presentaban una fuerte inmunorreacción nuclear y citoplasmática frente al marcador de células linfoides T- CD3, por lo que concluimos en el diagnóstico de linfoma T maligno angiotrópico de distribución multisistémica localizado en los vasos sanguíneos, principalmente arteriolas de mediano y pequeño calibre.

## **15.- ESTUDIO CLINICO-PATOLÓGICO DE UN SCHWANOMA MÚLTIPLE CUTÁNEO EN CABALLO**

Martín, M.P., Arola, J., Ginel, P.J.,\* Riber, C.,\* Mozos, E.

Departamentos de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas y \* Medicina y Cirugía Animal.  
Facultad de Veterinaria. Campus de Rabanales. 14014 Córdoba.

El schwannoma es una neoplasia de las células de Schwann muy poco frecuente en el caballo y su presentación múltiple en la piel equina no ha sido descrita previamente.

Este trabajo describe los aspectos clínicos, histopatológicos e inmunohistoquímicos de un schwannoma múltiple en un caballo de raza Silla francés, entero, de 8 años de edad, al que le fueron extirpados dos tumores cutáneos localizados en la axila y cara interna de la extremidad pelviana izquierdas. Ambos tumores eran de tamaño similar (3x4x2cm aproximadamente), bien delimitados y no ulcerados. Previamente se había extirpado otra lesión similar de la cara caudal del muslo izquierdo. Los tumores fueron fijados en formol tamponado al 10%. Para el estudio inmunohistoquímico se ha utilizado el método de la Avidina-biotina-peroxidasa.

Las características clínicas coinciden con las descritas previamente, si bien la localización de las lesiones difiere aparente predilección por la piel de los párpados descrita en estudios previos. El examen histopatológico demostró que los 3 nódulos extirpados correspondían a una neoplasia altamente celular, de células fusiformes o pleomórficas dispuestas en haces o fascículos y con frecuencia se apreció la ordenación en empalizada de los núcleos (patrón Antoni tipo A). El diagnóstico fue de Schwannoma (variante celular). El diagnóstico diferencial incluyó sarcoide equino y fibrosarcoma. Las células tumorales presentaron un patrón de inmunorreacción vimentina +, proteína S100 + y PAGF +/-, similar al descrito para los schwannomas en otras especies, aunque difiere en cuanto a la expresión de la PAGF por parte de numerosas células tumorales.

En conclusión, el schwannoma cutáneo puede presentarse en el caballo de forma múltiple manteniendo características clínico-patológicas e inmunohistoquímicas similares a las descritas en los tumores únicos.

## **16.- LINFANGIOSARCOMA METASTÁSICO EN UN CABALLO**

B. Sánchez, A. Nieto, P. García, M.A. Ruiz de León, J. Rodríguez, J.M. Flores

Dpto. Patología Animal II. Fac. Veterinaria . UCM. Madrid

e-mail: belenmal@eucmax.sim.ucm.es

El linfangiosarcoma es un tumor maligno, originado a partir de las células endoteliales de los vasos linfáticos, raro en los animales domésticos.. En medicina humana está asociado a linfoedemas crónicos. En los animales domésticos ha sido descrito en perros, gatos, vacas y recientemente se ha descrito el primer caso de linfangiosarcoma en un caballo sin metástasis a distancia.

Al Hospital Clínico de la Facultad de Veterinaria de Madrid fue remitida una yegua de 12 años de edad con historia de edemas recurrentes en la zona ventral del torax y abdomen. En la necropsia, se observó edema difuso en el tejido conjuntivo subcutáneo, junto con ascitis e hidrotórax.. Los ganglios linfáticos mediastínicos, mesentéricos, iliacos y renales estaban aumentados de tamaño, blancos y con áreas necróticas. En el omento se apreciaron linfangiectasias muy evidentes. Histológicamente se observó, en los ganglios, numerosos canales desorganizados, tapizados por células grandes, poliédricas y cuyas luces vasculares carecían de hematíes. Se apreciaron además metástasis en bazo, pulmón y riñón. Mediante el estudio inmunohistoquímico se evidenció una inmunorreacción de las células tumorales frente a la queratina, vimentina y factor VIII.

La historia clínica, los hallazgos macroscópicos e histológicos de la necropsia y el estudio inmunohistoquímico condujeron a un diagnóstico de linfangiosarcoma mesentérico y mediastínico con metástasis múltiples, siendo el primer caso de estas características descrito en el caballo.

## 17.- NEOSPOROSIS CUTÁNEA EN UN PERRO EN TRATAMIENTO PARA PÉNFIGO FOLIACEO

Ordeix L.<sup>1</sup>, Lloret A.<sup>2</sup>, Fondevila D.<sup>1</sup>, Dubey J.P.<sup>3</sup>, Ferrer L.<sup>1</sup>, Fondati A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departament de Medicina y Cirugia Animals i <sup>2</sup>Hospital Clínic Veterinari,

Facultad de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra. Barcelona. Espanya. <sup>3</sup>Parasite Biology, Epidemiology and Systematics Laboratory, USDA, ARS, ANRI. MD 20705-2350. USA.

Un perro Rottweiler, macho no castrado de 4 años de edad se presentó a la consulta con un cuadro de dermatitis papulo-nodular de 10 días de duración. En el momento de la visita se estaba tratando con prednisona y azatioprina por un pénfigo foliáceo diagnosticado a los dos años de edad. El examen físico general no reveló ninguna alteración. El examen dermatológico reveló múltiples pápulas y nódulos en la parte lateral derecha del tronco, algunos de ellos alopecicos y con la superficie costrosa. No se detectaron anormalidades en la analítica sanguínea. El examen citológico reveló una inflamación piogranulomatosa en la que no se observaron agentes infecciosos. Se realizaron múltiples biopsias cutáneas y el examen histopatológico reveló una dermatitis piogranulomatosa perianexal y una foliculitis intraluminal con presencia de numerosas estructuras basófilas semejantes a taquizoitos en el interior de células epidérmicas y en el citoplasma de algunos macrófagos. Se confirmó una neosporosis cutánea mediante una técnica inmunohistoquímica y mediante un test de aglutinación en suero para *Neospora caninum*. Las técnicas inmunohistoquímicas y las pruebas serológicas para *Leishmania infantum* y *Toxoplasma gondii* resultaron negativas. Se realizó un examen con microscopio electrónico de las muestras cutáneas para investigar las características estructurales del protozoo. Ultraestructuralmente se observaron numerosos taquizoitos de *N. caninum* en el interior de los queratinocitos así como en el interior de los macrófagos. Los taquizoitos se localizaban en vacuolas parasitóforas en el interior del citoplasma de las células del huésped. Los taquizoitos medían 2,25-4  $\mu\text{m}$  x 1,7-2,8  $\mu\text{m}$  y contenían roptris electron-densos y numerosos micronemas.

Se instauró un tratamiento con clindamicina y se suprimió la terapia inmunosupresora obteniéndose una remisión clínica prolongada.

## **18.- COMPARACIÓN DE TRES ANTICUERPOS MONOCLONALES Y DOS POLICLONALES ANTI-IgG EN EL DIAGNÓSTICO DE PROCESOS AUTOINMUNES CUTÁNEOS EN EL PERRO**

J. Pérez, C. Arce(1), A. Moreno(1), Y. Millán, P.M. García, E. Mozos, D. Llanes(1)

Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Unidad Mixta CSIC-UCO "Marcadores Genéticos de Animales Domésticos". Facultad de Veterinaria de Córdoba.

El diagnóstico de las enfermedades autoinmunes cutáneas del perro se realiza mediante evaluación clínica, histopatología, y mediante demostración de depósitos de anticuerpos, particularmente IgG, en las membranas de los queratinocitos o la membrana basal de la epidermis. Los anticuerpos policlonales usados hasta ahora para tal fin tienen varios inconvenientes: ruido de fondo en la queratina, o los falsos positivos en dermatitis crónicas de diferentes orígenes.

El objetivo de este estudio ha sido evaluar la posible utilidad de tres anticuerpos monoclonales que reconocen IgG canina para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes cutáneas en el perro. Las muestras empleadas habían sido diagnosticadas mediante evaluación clínica e histopatológica como lupus eritematoso discoide (LED), 12 casos; penfigus foliaceus (PF), 10 casos; y dermatitis hiperplásicas crónicas alérgicas y/o bacterianas (DHC), 12 casos. También se usaron dos anticuerpos policlonales anti-IgG canina comercializados por Nordic e ICN, respectivamente.

El anticuerpo monoclonal CA4E7 fue el que mejor resultado dio, ya que reaccionó con todos los casos de LED y PF, y sólo con una DHC, siendo el resultado dudoso en otra. Con los anticuerpos CA4F1 y CA3H1 se observó una inmunorreacción débil o ausente en la epidermis de aproximadamente la mitad de los casos de LED y PF, a pesar de la intensa inmunorreacción observada en células plasmáticas del infiltrado. Con los dos anticuerpos policlonales se observó mayor ruido de fondo en la epidermis lo que dificultaba la interpretación de los resultados, y además, reaccionaron con 6 de las 12 DHC.

Según nuestros resultados el anticuerpo monoclonal CA4E7 puede ser utilizado en el diagnóstico de procesos autoinmunes cutáneos en el perro.



## **19.- PRESENTACIÓN MULTIORGÁNICA DE UN LINFOMA INTRAVASCULAR (ANGIOENDOTELIOMATOSIS MALIGNA) EN UN PERRO**

J. Altimira, M. Vilafranca

Laboratorio de Diagnóstico Histopatológico Veterinario HISTOVET

Montserrat, 9. St. Quirze del Vallès-08192, Barcelona

Un perro hembra de 6 años, de raza Boxer presentó múltiples nódulos subcutáneos en tronco y muslo, dolorosos a la palpación, algunas con adherencias profundas, de 2 a 9 cm de diámetro. Debido a un empeoramiento del estado del animal, éste fue eutanasiado a las cinco semanas. En las muestras cutáneas, el estudio histopatológico mostró una intensa infiltración intravascular de células redondas marcadamente pleomórficas afectando la totalidad de la dermis y el tejido subcutáneo, y causando dilatación de las estructuras vasculares. Esta población celular mostraba atipia nuclear y presentaba numerosas figuras mitóticas. El infiltrado se acompañaba de proliferación de células endoteliales y trombos de fibrina. El estudio inmunohistoquímico mostró en las células neoplásicas positividad a CD45ra y a CD3, mientras que resultaron negativas a CD79a, resultados compatibles con una histogénesis de linfocitos T. Se observó infiltración intravascular por células neoplásicas igualmente en el páncreas, pulmón, bazo y tejido graso mesentérico; se detectaron focos de pancreatitis aguda y necrosis de la grasa peripancreática. El Linfoma Intravascular (antes Angioendoteliosomatosis Maligna) es una enfermedad linfoproliferativa infrecuente en la especie canina (1-3) que puede afectar múltiples órganos y de la que muy raramente se describe la afección cutánea como primera manifestación del proceso (3). El fenotipo de las células neoplásicas es muy variable, siendo el de linfocitos T el predominante (como el caso que se describe), contrariamente a los hallazgos en casos de la especie humana, en los que predominan los de fenotipo B (4).

### Referencias

1. McDonough, S.; Summers, B.; VanWinkle, T.; Valentine, B.; vanGessel, Y. Immunophenotypic heterogeneity of Canine Intravascular Lymphoma (Malignant Angioendotheliomatosis. *Veterinary Pathology* 1998; 35: 438. (resumen).
2. Cullen, C.L.; Caswell, J.L.; Grahn, B.H. Intravascular Lymphoma presenting as bilateral panophtalmitis and retinal detachment in a dog. *JAAHA* 2000; 36:337-42.
3. VanGessel, Y.; McDonough, S.; McCormick, H.; Summers, B. Cutaneous presentation of canine intravascular lymphoma (malignant angioendotheliomatosis). *Veterinary Dermatology* 2001; 11: 291-7.
4. Perniciaro, C; Winkleman, R.K.; Daoud, M.S.; Daniel Su, W.P. Malignant angioendotheliomatosis is an angiotropic intravascular lymphoma: Immunohistochemical, ultrastructural, and genetic studies. *Am. J. Dermatopath.* 1995; 17: 242-8.

## **20.- EVALUACIÓN MORFOMÉTRICA DE LAS LESIONES NEUROPATOLÓGICAS OBSERVADAS EN LA INFECCIÓN EXPERIMENTAL DE RATONES CON SCRAPIE.**

Vidal E.<sup>1</sup>, Puig B.<sup>2</sup>, Sisó S.<sup>1</sup>, Vargas A.<sup>3</sup>, Badiola J.<sup>3</sup>, Ferrer I.<sup>2</sup>, Pumarola M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Medicina i Cirurgia animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona, Spain. <sup>2</sup> Unidad de Neuropatologia Experimental. Departamento de Patologia y Biologia Celular Universitat de Barcelona. Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain. <sup>3</sup> Departamento de Patologia Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. Zaragoza Spain.

### **Objetivos del estudio**

Se han realizado estudios morfométricos de todo el encéfalo de ratones inoculados con scrapie en fase terminal con la finalidad de evaluar el patrón lesional descrito en les enfermedades priónicas (vacuolización, pérdida neuronal, acúmulo de PrPsc, astrogliosis y microgliosis). Los resultados se compararon con ratones control inoculados con un placebo.

### **Materiales y Métodos**

Diez ratones C57BL fueron inoculados con la isoforma RML de scrapie y 4 con un placebo. Una vez en estado terminal de la enfermedad los animales fueron sacrificados y procesados para su estudio histopatológico en H/E e inmunohistoquímico. La pérdida neuronal se evaluó con un marcador de núcleo neuronal (NeuN), el acúmulo de PrP con el anticuerpo 6H4 (Prionics®), la astrocitosis con una IHQ de GFAP y la microgliosis con una técnica de histoquímica con Lectina. Los estudios morfométricos se realizaron mediante un software analizador de imágenes (MIP 4 advanced).

### **Resumen de resultados y conclusiones**

La vacuolización, acumulo de PrPsc, y, en menor medida, pérdida neuronal se localizan principalmente en el puente, tálamo, mesencéfalo, corteza cerebelar, hipocampo y cortex cerebral. Los estudios morfométricos demostraron una buena correlación, no solo con la valoración semiquantitativa previamente realizada, sino que también se observa una coincidencia de la distribución lesional con el acúmulo de PrPsc.

## **21.- NEUROLOGÍA DE RATONES TRANSGÉNICOS (BO-PRP) INOCULADOS INTRACRANEALMENTE CON EL AGENTE DE LA BSE**

C. Sánchez, F.J. Salguero, J. Castilla, A. Brun, M.A. Ramírez, J.M. Torres, J.M. Sánchez-Vizcaíno. Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. 28130 Valdeolmos, Madrid.

En este experimento fueron utilizados ratones “knock out” transgénicos, obtenidos en nuestro laboratorio, que expresaban el gen de la proteína prion (PrP) bovina. 20 ratones fueron inoculados intracranealmente con diferentes macerados de cerebros procedentes de bovinos afectados de EEB. 4 animales de similares características fueron utilizados como control de la experiencia y no recibieron ningún inóculo. Tanto los animales inoculados como los controles, recibieron alimento y agua ad libitum. A los 250 días post inoculación (dpi), los animales infectados comenzaron a presentar signos clínicos consistentes en pelo erizado, dorso encorvado, ataxia, indiferencia, paresia y parálisis posterior y atrofia muscular y fueron sacrificados a los 270-480 dpi. Se tomaron muestras de cerebro y fueron fijadas en formol salino al 10% durante 48-72 horas e incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 5 micras de grosor y fueron procesados para estudios histopatológicos (HE) e inmunohistoquímicos (ABC, sABFA) para la detección de la PrPsc. La histopatología demostró la presencia de fenómenos de vacuolización en obex, cerebelo y corteza cerebral, así como pérdida neuronal, y en algunos casos, gliosis. La positividad frente a PrP se caracterizó por depósitos granulares presentes en neuropilo y soma neuronal, y en ocasiones, en células de glia. Los animales control no presentaron signos clínicos ni cambios histológicos ni presentaron positividad frente a PrP. Con este trabajo se demuestra la transmisión de la EEB a ratones transgénicos que expresan el gen bovino de la PrP, lo cual es una herramienta muy útil para el estudio de las encefalopatías espongiformes transmisibles, dado el acortamiento de los períodos de incubación, y la posibilidad de trabajar con más facilidad y mayor número de animales.

## **22.- PÉRDIDA DE SINAPSIS Y ACÚMULO DE PROTEÍNA PRION RESISTENTE EN LA FASE TERMINAL DEL SCRAPIE MURINO.**

Sisó S.<sup>1</sup>, Vidal E.<sup>1</sup>, Puig B.<sup>2</sup>, Acin C.<sup>3</sup>, Badiola J.<sup>3</sup>, Ferrer I.<sup>2</sup>, Pumarola M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup> Unitat de Neuropatologia Experimental. Department de Biologia Cel.lular i Patologia. Universitat de Barcelona. Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

<sup>3</sup> Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza, Zaragoza.

### Objetivo

Estudiar la distribución de los depósitos de PrPsc en todo el encéfalo de ratones inoculados con una isoforma de scrapie, y su correlación con modificaciones en la expresión de proteínas implicadas en la transmisión y el transporte sináptico.

### Materiales y Métodos

Siete ratones machos C57BL fueron inoculados i.p con la isoforma Rocky Mountain Laboratory y 4 con un placebo. Se anestesiaron y perfundieron de forma intracardiaca los ratones en fase terminal de la enfermedad y los controles; y se procesaron los encéfalos para técnicas de rutina (H/E) y de inmunohistoquímica para evaluar la PrPsc (con el anticuerpo monoclonal 6H4) y distintas proteínas sinápticas (sinaptofisina, SNAP-25, sinapsina-1, syntaxina-1, alfa-sinucleína y beta-sinucleína).

### Resumen de los resultados y conclusiones

En todos los ratones enfermos se observa una marcada reducción de algunas proteínas sinápticas (sinaptofisina y SNAP-25). Además esta reducción es mayor en las areas con mayor depósito de PrPsc. Por el contrario, en todos los casos patológicos se observa un aumento de inmunoreactividad para las sinucleínas en las mismas areas. Estos hallazgos no se observan en los casos control. Además, todos los ratones inoculados con la isoforma de scrapie presentan un marcaje anómalo de proteínas sinápticas en el perikarion de algunas neuronas; esta localización anómala de la positividad no se observó en los animales control.

Confirmamos pues, que existe una alteración de la transmisión y transporte sináptico y sinapsis estructural en el scrapie murino.

### **23.- VALORACIÓN DE DIFERENTES ANTICUERPOS PARA LA DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE PrPres EN CASOS NATURALES DE E.E.B. Y SCRAPIE**

García Pariente, C.; Pérez, V.; Fuertes, M.; González Fernández, J.; García Fernández, R. A.; Ferreras, M. C.; García Marín, J. F.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

Los métodos inmunohistoquímicos se consideran como un complemento indispensable del estudio histopatológico para el diagnóstico definitivo de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles de los animales y del hombre, en particular de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) y del Scrapie ovino. En este trabajo se realiza el estudio comparativo de la detección inmunohistoquímica de PrPres utilizando anticuerpos monoclonales, tanto en EEB como Scrapie, en muestras de SNC de cinco y seis casos naturales, respectivamente, de estas enfermedades, todas ellas pertenecientes a diferentes rebaños.

Los resultados preliminares obtenidos en cortes histológicos de médula oblongada inmunoteñidos con los anticuerpos P4 y 6H4 muestran diferente patrón de tinción de la PrPres. En cortes seriados de la de la misma muestra de animales afectados de EEB, el anticuerpo P4 presenta una escasa o nula capacidad de detección de PrPres intraneuronal, al contrario de lo que ocurre cuando se emplea el anticuerpo 6H4. Ambos anticuerpos marcan de forma evidente la PrPres de localización perineuronal y en neuropilo. En las muestras de Scrapie, la localización de PrPres no varía con el anticuerpo empleado, pudiendo detectarse intra y perineuronamente y en el neuropilo, con un predominio evidente de estas dos últimas localizaciones. Otra diferencia importante entre ambos anticuerpos fue su capacidad de detección de PrPres en relación con el origen de la muestra (Scrapie o EEB). El anticuerpo P4 mostró una buena sensibilidad en las muestras de Scrapie ovino y muy escasa en EEB, al contrario de lo observado con el anticuerpo 6H4. Basándonos en este hecho, se propone una posible diferenciación entre PrPsc y PrPbse en secciones histológicas. Este estudio se completa con la valoración de otros anticuerpos.

Este trabajo se ha realizado con el apoyo de la Junta de Castilla y León.

## **24.- DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PRP<sup>Sc</sup> MEDIANTE EL USO DEL ANTICUERPO MONOCLONAL 2A11 EN BOVINOS DE EEB Y SU COMPARACIÓN CON EL 6H4**

F.J. Salguero, C. Sánchez, A. Brun, J. Castilla, M.A. Ramírez, J.M. Torres, y J.M. Sánchez-Vizcaíno.

Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. 28130 Valdeolmos, Madrid.

La Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB) es una enfermedad caracterizada por diversas alteraciones en SNC como son la espongiosis, gliosis y pérdida neuronal, afectando fundamentalmente al tronco cerebral. Asimismo, se produce un depósito de la Proteína Prion (PrP) alterada (PrP<sup>Sc</sup>) en diferentes localizaciones. En este trabajo, describimos la detección inmunohistoquímica de la PrP<sup>Sc</sup> en el tronco del encéfalo de bovinos afectados por esta enfermedad. Para ello, hemos utilizado un anticuerpo monoclonal (2A11), desarrollado por nuestro grupo mediante la inoculación de la PrP recombinante bovina (rboPrP) en ratones "knock-out", y que ha manifestado una gran especificidad frente a la PrP celular (PrP<sup>C</sup>) y a la PrP<sup>Sc</sup> en técnicas de Western blot, y el anticuerpo comercial 2A11. Las técnicas inmunohistoquímicas utilizadas en este estudio han sido la de la Avidina-Biotina-Peroxidasa y la Streptavidina-Fosfatasa Alcalina. Los cortes de tejido fueron pretratados con ácido fórmico, proteinasa K y autoclavado, para la inactivación de la PrP<sup>C</sup> y el desenmascaramiento antigénico de la PrP<sup>Sc</sup>. Los anticuerpos monoclonales fueron utilizados en diluciones de 1:400 (2A11) y 1:10 (6H4). La inmunotinción positiva consistió en ambos casos en un punteado granular, que en algunas ocasiones formaba depósitos de mayor diámetro. Esta positividad fue observada principalmente en el neuropilo, aunque se observaron numerosos somas neuronales de los núcleos del tronco del encéfalo, con un fino punteado que en ocasiones alcanzaba el núcleo celular. Muestras de tronco del encéfalo de bovinos sanos fueron utilizadas como controles negativos. Aunque la distribución de la inmunorreacción fue similar para ambos anticuerpos, la reacción observada con el anticuerpo 2A11 fue más fuerte que para el 6H4.

## **25.- PRIMEROS CASOS DE ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (EEB) DETECTADOS EN ESPAÑA**

Badiola, J.J.; Monleón, E.; Monzón, M.; Acín, C.; Llujan, L.; Hortells, P.; Ferrín, G.; Bolea, R. y Vargas, A.

Centro Nacional de Referencia de las Encefalopatías Espongiformes Transmisibles. Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza. C/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza.

El Centro Nacional de Referencia para las EETs ha desarrollado desde el año 1996 el Programa de Vigilancia de la EEB. Hasta la confirmación de los primeros casos de EEB, los bovinos incluidos en dicho Programa se clasificaron en las siguientes subpoblaciones: animales adultos con sintomatología compatible con la EEB, moribundos y con otras patologías progresivas. Las técnicas de diagnóstico utilizadas hasta diciembre del año 2000 fueron las establecidas en el Manual de diagnóstico de la OIE: examen histopatológico de núcleos específicos del tronco del encéfalo (en zona de obex, puente y mesencéfalo) y técnicas inmunohistoquímicas en aquellos casos en que el estudio histopatológico es no concluyente.

En el transcurso del Programa se detectaron a finales del año 2000 los primeros casos de EEB en España, procedentes de la CA de Galicia. A partir de la declaración de los mismos se produjo una gran alarma social y el consumo de la carne de vacuno llegó a descender hasta un 80%. Como respuesta a esta reacción se intensificó la vigilancia de la EEB, estableciéndose un control mediante los denominados “tests rápidos” de todos los animales mayores de 30 meses destinados al consumo. Los casos en que el resultado es no concluyente o positivo son confirmados en el Centro Nacional de Referencia mediante técnicas histopatológicas e inmunohistoquímicas, habiéndose detectado 46 casos positivos a EEB (31/5/01).

En este estudio se describe el perfil lesional de los diferentes casos positivos detectados en el desarrollo del Programa así como un análisis de la acumulación de la PrPsc en el SNC detectada mediante inmunohistoquímica. Por otro lado se realiza un análisis epidemiológico de los casos detectados, describiendo la situación actual de la EEB en España.

## **26.- ALTERACIONES HISTOPATOLÓGICAS EN EL SNC ASOCIADAS A ENCEFALOPATÍA ESPONGIFORME BOVINA (EEB) EN CINCO CASOS DIAGNOSTICADOS EN LA COMUNIDAD DE CASTILLA Y LEÓN.**

Fuertes, M.; García Pariente, C.; Pérez, V.; García Fernández, R. A.; González Fernández, J.; Ferreras, M. C.; García Marín, J. F.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

Entre Enero y Abril del año 2001 se recibieron en el Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León muestras de tejido nervioso de 5 vacas adultas en las que se diagnosticó Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB). El objetivo de este trabajo es valorar los principales hallazgos histopatológicos y la posible relación entre presencia de PrPres en el tejido y la lesión. De dos de los 5 bovinos, se dispuso del SNC para su estudio histológico. Uno de ellos fue remitido vivo a la sala de necropsias mientras que el segundo fue sacrificado en matadero; ambos mostraban sintomatología sospechosa de EEB.. En los otros tres casos, únicamente se dispuso del tronco del encéfalo o de un fragmento del mismo, no mayor de 0,5 cm de grosor en uno de los animales. Todas las muestras se procesaron mediante métodos histológicos convencionales y se valoró la localización y tipos de lesión presentes.

La alteración histopatológica más comúnmente observada fue la vacuolización del neuropilo que apareció en las 5 vacas estudiadas, de forma constante, en mayor o menor grado, en los núcleos de la médula oblongada y puente. Cuando se examinó el encéfalo completo, se observó vacuolización intensa del neuropilo en secciones de tálamo, putamen y núcleo caudado. La vacuolización neuronal y de axones fue variable en cada animal, en general escasa y detectada tras el examen de múltiples muestras y secciones seriadas. Los núcleos más comúnmente afectados fueron el dorsal del vago, tracto solitario, formación reticular y vestibulares; con menor frecuencia el núcleo de la oliva y el tálamo. La intensidad de la lesión fue muy variable entre los animales. También se apreció un incremento en el número de células de la glía, de forma difusa, en todos los animales, especialmente en la médula oblongada, así como la aparición de placas de sustancia amiloide, en el núcleo del tracto solitario en un animal. En la médula espinal no se observaron lesiones pero sí presencia de PrPres en astas dorsales. Además de estos hallazgos, se discutirá la relación entre intensidad lesional y presencia de PrPres en las secciones.

Este trabajo se ha realizado con el apoyo de la Junta de Castilla y León.



## **27.- RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS EN BOVINOS SACRIFICADOS DE GRANJAS DE LA COMUNIDAD DE CASTILLA Y LEÓN CON UN CASO POSITIVO DE E.E.B.**

García Fernández, R. A.; González Fernández, J.; Pérez, V.; García Pariente, C.; Fuertes, M.; Reyes, L. E.; Durán, A.; Ferreras, M. C.; Pérez, C.; García Iglesias, M. J.; García Marín, J. F.  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria.  
Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

En este estudio se analizaron un total de 143 animales procedentes de 4 granjas en las que había sido diagnosticado un caso de EEB. El muestreo se llevó a cabo entre animales de diferentes edades, comprendiendo aquellos que tenían alguna relación de parentesco con el animal positivo. De 125 de estos bovinos se tomaron muestras de válvula ileocecal (VIC), íleon, placas de Peyer yeyunales, ganglios mesentéricos, tronco encefálico y tonsilas, y de 18 animales se realizó la necropsia completa, incluyendo muestras del SN autónomo, tanto del sistema simpático (ganglio estrellado y ganglio celiaco mesentérico) como del parasimpático. En este último grupo se incluía una vaca que llegó a la sala de necropsias con sintomatología clínica y en la que fue confirmada la EEB.

En todas las muestras se realizaron técnicas histológicas convencionales (HE) e inmunohistoquímicas (IHQ) empleando dos anticuerpos monoclonales (Mabs P4 y 6H4). En varias muestras se efectuaron secciones seriadas y se repitió la técnica IHQ en diferentes días y condiciones, incluyendo todas aquellas con resultados positivos y dudosos. El número de secciones estudiadas fue superior a 1.500.

Se apreció tinción positiva frente a PrPres, únicamente con el Mab P4, de carácter muy focal, localizada en células epiteliales y macrófagos adyacentes, en la muestra de placa de Peyer ileocecal y en plexos nerviosos mientéricos en 27 animales, entre 1 y 8 años de edad, de los 89 estudiados con este anticuerpo. En los ganglios linfáticos regionales y tejido linfoide organizado del intestino no se detectó positividad. En el SNC sólo se apreciaron lesiones y positividad a PrPres en las vacas con síntomas o “sospechosas” que dieron lugar al diagnóstico inicial. En los animales necropsiados, incluyendo el caso clínico, no se observaron lesiones ni tinción IHQ positiva en ninguna de las muestras estudiadas, incluyendo ganglio estrellado, ganglio celiaco mesentérico, trigéminos, nervios vagos y ganglios radicales dorsales de la médula espinal. En el caso clínico se detectó PrPres en las astas dorsales de la médula espinal y en el tronco y corteza del encéfalo.

Este trabajo se ha realizado con el apoyo de la Junta de Castilla y León.

## **28.- INTOXICACIÓN EXPERIMENTAL CON TANINOS CONDENSADOS DE QUEBRACHO, EN OVEJAS ADULTAS**

Pérez, V.; Hervás, G.\*; Corpa, J. M.; Almar, M.\*; Frutos, P.\*\*

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). \*Dpto. de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

\*\*Estación Agrícola Experimental. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Apdo. 788. 24080 León.

La intoxicación con plantas que contienen taninos hidrolizables ha sido reseñada de forma frecuente en rumiantes. Sin embargo, del otro grupo de taninos, los condensados, objeto de especial atención en el ámbito de la nutrición animal, se desconocen sus potenciales efectos tóxicos. Con el objetivo de valorar su posible toxicidad, se ha llevado a cabo una intoxicación experimental administrando extracto comercial de quebracho (constituido en un 76% por taninos condensados), a 16 ovejas adultas, divididas en 4 grupos de cuatro animales. El quebracho fue infundido por vía intra-ruminal en dosis de 0 (Q<sub>0</sub>), 0.5 (Q<sub>1</sub>), 1.5 (Q<sub>2</sub>) y 3.0 (Q<sub>3</sub>) gr/kg peso vivo y día, respectivamente. Los animales se sacrificaron a los 21 días del tratamiento, excepto los del grupo Q<sub>3</sub>, en los que se procedió a la eutanasia a los 10 días al mostrar marcada debilidad, anorexia y postración. A lo largo del experimento, se valoraron parámetros bioquímicos plasmáticos y la capacidad destoxicante del hígado.

En la necropsia, sólo se apreciaron lesiones macroscópicas en las ovejas del grupo Q<sub>3</sub>, caracterizadas por la presencia de úlceras en el rumen y retículo, junto con una abomasitis y enteritis catarral, con gran cantidad de material mucoso en la luz intestinal. Microscópicamente, se observaron infiltrados de neutrófilos en la lámina propia intestinal, con focos necróticos, y una hiperplasia de células caliciformes. Asimismo, se apreció una marcada degeneración hepática en todos los animales del grupo Q<sub>3</sub>, los cuales, además, mostraron un descenso en los valores de glutatión hepático. De este trabajo, se concluye que el efecto tóxico del quebracho se produce únicamente con dosis muy elevadas, ocasionando lesiones en el tubo digestivo, y en hígado, posiblemente por el paso de sustancias tóxicas a este órgano por vía porta, tras la lesión digestiva.

## 29.- ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO DE DIFERENCIACIÓN DE LOS CARCINOMAS DE CÉLULAS ESCAMOSAS BOVINOS

H.Vala<sup>(1)</sup>, D.Fondevilla<sup>(2)</sup>, T. Carvalho<sup>(3)</sup>, C. Pinto<sup>(4)</sup>, C. Peleteiro<sup>(3)</sup>, M. Pinho<sup>(3)</sup> and L. Ferrer<sup>(2)+</sup>

1 - Escola Superior Agrária de Viseu Instituto Politécnico de Viseu, 3500 Viseu, Portugal

2 - Departament de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinaria (UAB), 08193 Bellaterra. Barcelona, Espanha

3 – Centro Interdisciplinar de Investigação em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Rua Prof. Cid dos Santos, 1300-477 Lisboa, Portugal

4 – Serviço de Desenvolvimento Agrário de S. Miguel, Direcção Regional do Desenvolvimento Agrário, Angra do Heroísmo, Açores

Los carcinomas de células escamosas localizados en párpados y tercer párpado son frecuentes en el ganado bovino. En Portugal, este tumor se diagnostica con frecuencia en bovinos de las Azores, representa un 21% del total de neoplasias diagnosticadas en esta especie, la segunda después de los tumores de la vejiga de la orina.

El objetivo de este trabajo ha sido conocer la distribución de queratinas, expresadas en keratinocitos basales y suprabasales, y de la involucrina y la calmodulina, considerados marcadores de proliferación de diferenciación terminal, en el epitelio estratificado escamoso del párpado y tercer párpado, con el fin de relacionar la presencia de estos marcadores con el origen y grado de diferenciación de las neoplasias.

El trabajo se ha realizado con 11 biopsias de párpado y 11 de tercer párpado sin lesiones y con 19 tumores oculares de terneros de raza Holstein Friesian, con edades comprendidas entre 4 y 10 años. Las muestras se han recogido en el Matadouro Frigorífico e Industrial de Ponta Delgada, de la isla de San Miguel (Azores). De los 19 tumores, 8 (42,1%) estaban localizados en el párpado, 8 (42,1%) en el tercer párpado y 3 (15,9%) afectaban toda la región ocular. Las muestras se han procesado de forma rutinaria y se han aplicado técnicas inmunohistoquímicas de Avidina-Biotina-Complex (ABC).

Los tumores se clasificaron histológicamente como poco diferenciados (5), moderadamente diferenciados (5) y bien diferenciados (9). Con el anticuerpo anti-citoqueratinas CK MNF116, característico de estratos basales se observó reacción positiva en las células basales, menos diferenciadas de todos los tumores, independientemente del grado de **diferenciación**. Con el anticuerpo anti-citoqueratinas CK LP34, característico de estratos suprabasales se observó reacción positiva en mayor número de células en los bien diferenciados y moderadamente diferenciados y escasa reacción en dos poco diferenciados. Con los dos marcadores de diferenciación, la involucrina y el MAC 387 se observó reacción en células escamosas grandes de todos los tumores. Estos resultados sugieren el uso combinado de estos marcadores puede ayudar a establecer un diagnóstico y pronóstico en los carcinomas de células escamosas.

### **30.- REPRODUCCIÓN EXPERIMENTAL DE LA AMILOIDOSIS AA OVINA**

E. Biescas, W. Jirón, A. Fernández, S. Climent, L. Luján.

Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza

La amiloidosis tipo AA (reactiva) ovina se caracteriza por ser un proceso secundario a inflamaciones crónicas con un marcado componente necrótico-purulento, especialmente neumonías gangrenosas. Este tipo de amiloidosis es multisistémica y afecta al riñón, bazo, adrenales y linfonodos, entre otros. En estudios previos se ha determinado que el depósito amiloideo está constituido por fibras AA y que la alteración renal produce un fallo renal caracterizado por la hipoalbuminemia y un aumento del fósforo, potasio y BUN. Este estudio pretende responder a diversos aspectos desconocidos de este proceso, tales como si es reproducible y si se pudiera utilizar como un modelo experimental para la amiloidosis AA: Tampoco se conoce el tiempo necesario para el depósito de amiloide en los tejidos, y si la proteinuria pudiera ser un elemento indicador *in vivo* del depósito amiloideo. Para ello, bajo anestesia general, se depositó en el árbol bronquial de 4 ovejas adultas libres de amiloide un cuerpo extraño capaz de reproducir una neumonía gangrenosa. Los animales fueron sacrificados posteriormente, cuando su condición física se encontraba marcadamente deteriorada. Todos los animales desarrollaron neumonía gangrenosa y amiloidosis AA, y depósitos amiloideos ya se observaron a las pocas semanas. Sorprendentemente, las lesiones renales no fueron ni constantes ni graves y, consecuentemente, la proteinuria no fue un hallazgo destacable. Los depósitos se observaron constantemente en el sistema digestivo y, especialmente, en el dudodeno, donde en algunos casos eran muy importantes. Se propone que este tipo de amiloidosis produce un síndrome de malabsorción intestinal que lleva a la caquexia.

### **31.- ANASARCA FETAL OVINA**

L. Luján, L. Monteagudo, T. Tejedor, S. Climent, C. Acín, A. Navarro, V. Arruga

Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza

Dieciocho casos de anasarca fetal (hydrops foetalis) ovina se han observado en un rebaño de explotación semiextensiva de la provincia de Soria. Se observó que las ovejas sufrían un retraso de hasta 4 semanas en el parto y, si éste se producía, no podía ser completado ya que los fetos presentaban un edema masivo subcutáneo y un peso oscilante entre 12 y 16 kg. Cinco hembras afectadas y sus cinco fetos fueron estudiados. Las lesiones macroscópicas en los fetos incluyeron anasarca generalizada y ausencia total de linfonodos y de conductos linfáticos (p. ej. torácico). Microscópicamente no había ninguna alteración destacada aparte del edema subcutáneo. Los cariotipos fetales y maternos eran normales. Se llevó a cabo un test ciego de paternidad mediante análisis de microsatélites de DNA de los únicos 5 machos candidatos. Tan sólo uno de los 5 machos era el único padre compatible con todos los fetos y, además, era el único que había sido seleccionado del propio rebaño para ser utilizado como reproductor. Los primeros casos aparecieron cuando este macho fue introducido por primera vez en la monta natural de las hembras y no se han observado casos tras su retirada. La hipótesis más adecuada para el problema observado es que existe un alelo recesivo mutado que afecta el desarrollo embrionario de los linfonodos y que es prevalente en el rebaño en cuestión. Al permitir que uno de esos machos pasara a ser reproductor, los alelos defectuosos pudieron juntarse en un animal y provocar el problema.

### **32.- ESTUDIO DE LA EFICACIA DEL TOLTRAZURIL (BayCox®) EN EL TRATAMIENTO DE LA MIXOSPORIDIOSIS INTESTINAL DEL RODABALLO (*Scophthalmus maximus*)**

Vázquez, S.; Quiroga, M.I.; <sup>1</sup>Alemañ, N.; <sup>2</sup>Riaza, A.; García, J.C.; Nieto, J.M.

Departamento de Patología Animal y <sup>1</sup>Anatomía y Producción Animal. Universidad de Santiago de Compostela, 27002 Lugo. <sup>2</sup>Martesimal, Quilmas, 15292 Carnota. A Coruña.

*Enteromyxum scophthalmi* (perteneciente a la clase Myxosporea) es un parásito protozoo que afecta a los rodaballos produciendo enteritis catarral severa causante de altas mortalidades para la que no se conoce ningún tratamiento eficaz hasta el momento. Por este motivo, la búsqueda de alguna opción terapéutica que mitigue los efectos de esta enfermedad parte de tratamientos que resultan eficaces frente a otros parásitos similares.

El toltrazuril (BayCox®) es un coccidiostato de amplio espectro que ha mostrado cierta efectividad frente a diferentes parásitos de la clase Myxosporea en pruebas experimentales.

En este trabajo se han realizado 2 experimentos preliminares, el primero encaminado a valorar el grado de toxicidad del medicamento empleando altas dosis (20 y 40 mg/Kg) por vía oral, y el segundo tratando de valorar la eficacia del tratamiento en peces sometidos previamente a la medicación con toltrazuril (10 mg/Kg -tanque A- y 15 mg/Kg -tanque B-) con infección experimental posterior. Se mantuvo un tanque control no tratado -tanque C- e infectado experimentalmente.

El estudio histológico y hematológico del primer experimento no reveló alteraciones microscópicas de interés en ningún animal.

En el segundo experimento se detectó una alta mortalidad y la presencia del parásito en la mucosa intestinal de los peces procedentes de todos los tanques estudiados, aunque se observó la aparición de la enfermedad dos semanas más tarde en el tanque A con respecto a los tanques B y C. A la vista de los resultados obtenidos, la dosis de elección para las pruebas sucesivas con toltrazuril será de 10 mg/Kg.

Este trabajo ha sido financiado con un Proyecto de Investigación FEDER-CICYT (1FD97-0679-C02-02)

### **33.- PATOLOGIA COMPATIBLE CON INFECCION POR PARAMIXOVIRUS AVIAR TIPO 1 (PMV-1) EN PALOMAS.**

Ferreras, M. C.; Pérez, V.; González Fernández, J.; Reyes, L. E.; Durán, A. J.; García Pariente, C.; González, G.\*; Cuadriello, R.\*; García Marín, J. F.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

\*Laboratorios Ovejero. León.

En el periodo comprendido entre el 5 de marzo y el 4 de abril de 2001 se remitieron diez palomas al Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico procedentes de tres explotaciones, dos palomares abiertos de la provincia de León y una de tipo industrial de la provincia de Navarra. El proceso afectaba primero a los pichones y posteriormente a animales de todas las edades, causando una elevada mortalidad. Los signos clínicos observados, tanto por los veterinarios responsables como por nosotros en dos animales remitidos vivos, eran nerviosos (temblores y giros de cabeza, tortícolis, ataxia, vuelo en círculos, dificultad para el vuelo, parálisis de una o ambas alas), comprobándose además polidipsia y poliuria. Macroscópicamente se observó, como alteración constante, la presencia de abundantes heces verdosas muy líquidas. Todas las palomas mostraron, como lesión histopatológica más significativa, nefritis intersticial con formación de nódulos linfoides y tubulonefrosis. Otras alteraciones observadas, de forma inconstante, fueron: necrosis pancreática multifocal con infiltrados linfoides (4 animales), hepatitis portal, necrosis hepática multifocal y eritrofagocitosis (4 animales), miopatía degenerativa (3 animales) e infiltrados linfoides en intestino (4 animales). Las lesiones en encéfalo fueron mínimas y caracterizadas por la vacuolización del neuropilo y degeneración de neuronas aisladas. Asimismo se observó aspergilosis pulmonar grave por *Aspergillus fumigatus* (3 animales). Los estudios serológicos frente a la enfermedad de Newcastle mostraron títulos altamente positivos para la infección por paramixovirus aviar tipo 1 (PMV-1). Los signos clínicos, las lesiones histopatológicas así como los resultados serológicos, sugieren una infección compatible con PMV-1 en palomas, considerándose secundarias las lesiones pulmonares micóticas.

## **Resúmenes Posters**



## 1.- ESTUDIO HISTOLÓGICO Y ULTRAESTRUCTURAL DE LOS EFECTOS INDUCIDOS POR LÁSER DE DIODO EN TENDÓN DE CONEJO

P.M. García, J. Pérez, M.J. Bautista, J.R. Tatay(1), A. Tatay(2),

Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Universidad de Córdoba. (1) Clínica Sagrado Corazón, U.S.P., Sevilla. (2) Licenciada en Medicina, Sevilla.

El láser tiene importantes aplicaciones en el tratamiento de diferentes tipos de tendinitis y fasciitis crónicas. En este trabajo se han analizado las alteraciones histológicas y ultraestructurales inducidas por la irradiación con láser de diodo de 810 nm en tendón rotuliano de conejo. Se utilizaron 22 conejos de 10-12 semanas de edad. Cuatro fueron usados como controles, mientras que los restantes fueron irradiados y analizados a los 0, 5 y 45 días post-irradiación (dpi).

El estudio histológico reveló que a los 0 dpi la zona irradiada mostraba un cráter rodeado por banda de 0,6 y 1 mm que mostraba daño térmico. A los 5 dpi los cambios histológicos eran similares, pero la banda con efecto térmico medía hasta 1.5 mm de grosor, y en su periferia existía un incipiente tejido de granulación. A los 45 dpi en la zona irradiada se observaban pequeños grupos de células gigantes multinucleadas y macrófagos con restos de tejido fagocitado y rodeados por algunas yemas vaculares y más periféricamente por un tejido fibroso denso regular de características similares a las de los tendones controles, pero con mayor número de fibroblastos. La orientación de los fascículos de fibras colágenas en el tejido fibroso neoformado seguía la misma dirección que en el tejido tendinoso adyacente. El estudio ultraestructural demostró que en las zonas adyacentes a las irradiadas a los 45 dpi existía una marcada activación de los fibroblastos, con gran aumento del tamaño nuclear y del retículo endoplásmico granular. Las fibras colágenas neoformadas mostraban su estriación característica.

Los resultados de este estudio demuestran que la irradiación con láser de diodo en tendón de conejo produce una marcada proliferación y activación de fibroblastos y producción de fibras colágenas.

**Agradecimientos:** a Láser Dornier por suministrar el equipo de láser de diodos.

## **2.- ESTUDIO HISTOLÓGICO DE LOS EFECTOS INDUCIDOS POR LA IRRADIACIÓN CON LÁSER DE DIODO EN CARTÍLAGO ARTICULAR DE CONEJO**

P.M. García, J.R. Tatay(1), A.Tatay(2), J. Pérez

Depto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Facultad de Veterinaria de Córdoba. (1) Clínica Sagrado Corazón, Sevilla. (2)Licenciada en Medicina, Sevilla.

El láser ha demostrado ser una eficaz herramienta en cirugía artroscópica ortopédica para cortar, modelar y debridar cartílago articular, por lo que su uso se ha generalizado últimamente. El objetivo de este estudio ha sido analizar los cambios histológicos agudos y crónicos inducidos por la irradiación con láser de diodos en cartílago articular de conejo. Para el estudio se emplearon 22 conejos. La irradiación se realizó en la rótula y cóndilo femoral mediante un láser de diodo de 810 nm (Dornier). La dosis total irradiada varió entre 27.5 y 184 Julios. Catorce conejos fueron empleados como controles, cuatro fueron sacrificados inmediatamente después de la irradiación, dos a los 5 días post-irradiación (dpi) y 14 a los 45 dpi.

A los 0 dpi la zona irradiada presentaba un cráter que afectaba a todo el grosor del cartílago articular y a parte de tejido óseo. Los bordes de este cráter mostraban restos de tejido coagulado, así como una banda de 0.2 a 0.4 mm de grosor en el tejido cartilaginoso, y de 0.5 a 1 mm en el tejido óseo, en la que existía incremento en la basofilia y pérdida celular por efecto térmico. A los 5 dpi el cráter era similar, pero en el tejido óseo existía un tejido de granulación con moderada cantidad de macrófagos y algunas células gigantes multinucleadas, así como fibroblastos activos. A los 45 dpi el cráter era ocupado parcialmente por cartílago hialino neoformado, de similares características histológicas al cartílago articular, aunque con menor celularidad. Además del cartílago neoformado los cráteres contenían tejido de granulación con células gigantes multinucleadas, macrófagos, fibroblastos y fibras colágenas.

Los cráteres que no llegaban a tejido óseo eran ocupados en su totalidad por el cartílago neoformado, mientras que los que afectaban a hueso presentaban una proporción variable de tejido conectivo fibroso denso y tejido de granulación.

**Agradecimientos:** agradecemos a Láser Dornier por suministrar el equipo de láser de diodos.

### **3.- VALORACIÓN DE LOS EFECTOS DE LA INGESTIÓN DE UNA FIBRA DIETÉTICA SOLUBLE (PLANTABEN®) EN RATONES ICR:CD1 SOMETIDOS A UN PROTOCOLO DE CARCINOGENÉISIS COLORRECTAL: ESTUDIO ESTADÍSTICO PRELIMINAR.**

Pérez Martínez, C., Durán Navarrete, A., García Fernández, R.A., Escudero Diez, A., Espinosa Alvarez, J., García Vieitez, J.J.\*. y García Iglesias, M.J.

Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

\* Dpto. Farmacología, Toxicología y Enfermería. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

Se valora el efecto preventivo de una fibra dietética soluble (cutículas de semillas de *Plantago ovata*) sobre la carcinogénesis colorrectal. Se utilizaron hembras ratón distribuidas en dos grupos: uno alimentado con pienso de mantenimiento y otro, con el mismo pienso suplementado con un 10% de Plantaben®. Tras dos semanas de adaptación, se administraron a ambos grupos 10 mg/Kg PV de azoximetano semanalmente, vía subcutánea, 6 semanas (periodo de tratamiento). Las hembras eran sacrificadas en las semanas 1, 3 y 5 postratamiento.

Los parámetros valorados fueron el peso, la ingesta de comida y los focos de criptas aberrantes (FCA) en la mucosa colorrectal. El análisis estadístico demostró que, en la adaptación y el postratamiento, la cantidad media de pienso ingerido era significativamente mayor cuando estaba suplementado con fibra, mientras que, durante el tratamiento, la ingesta media era similar en ambos grupos.

El peso de las hembras que consumían pienso suplementado con fibra se incrementaba una media del 6,37% durante el tratamiento respecto a la adaptación, y un 4,61% en el postratamiento respecto al periodo de tratamiento, porcentajes medios que eran significativamente mayores que los obtenidos en el grupo que no consumían Plantaben®.

En el periodo de postratamiento, la media de FCA/cm en recto fue significativamente mayor en el grupo que no consumía fibra, mientras, en el colon, no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos.

Los resultados obtenidos en el periodo de postratamiento evaluado sugieren que esta fibra ejerce un efecto beneficioso en las hembras que la consumían; sin embargo, estos resultados no permiten establecer conclusiones definitivas sobre su efecto en la carcinogénesis colorrectal pues se trata de un estudio preliminar.

Este trabajo ha sido financiado por Laboratorios Madaus S.A.

#### **4.- EFECTO DE LA EXPOSICIÓN *IN UTERO* A ÁCIDO RETINOICO SOBRE LA CARCINOGENÉISIS INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE EN LA PIEL DE RATONES NMRI ADULTOS: VALORACIÓN DE LA CINÉTICA CELULAR.**

Pérez Martínez, C., García Fernández, R.A., Escudero Diez, A., García Iglesias, M.J.

Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

El desarrollo del cáncer es una sucesión de acontecimientos que engloban la iniciación, la promoción y la progresión. La intervención en estos procesos, mediante agentes que bloqueen o supriman el desarrollo de neoplasias, parece ser una herramienta prometedora para conseguir una disminución en su incidencia. Entre estos agentes se encuentra el ácido retinoico, principal metabolito natural de la vitamina A, que desempeña un papel fundamental en la embriogénesis y en el control del crecimiento y diferenciación de las células epiteliales.

La mayoría de los estudios realizados en carcinogénesis quimiopreventiva se han centrado en la acción del ácido retinoico administrado vía tópica u oral durante el periodo postnatal, sin embargo poco se sabe acerca de su efecto cuando se realiza la administración en el periodo prenatal. Con el objetivo de incrementar el conocimiento sobre dicho efecto, planteamos un estudio con ratones NMRI adultos, distribuidos en dos grupos, que se sometieron a un protocolo de carcinogénesis química en la piel, uno de los cuales había sido expuesto a ácido retinoico durante su desarrollo prenatal (día 11,5 de gestación).

Como la proliferación celular está estrechamente relacionada con el desarrollo tumoral, se realizó un estudio de este parámetro mediante el empleo del Antígeno de Proliferación Celular (PCNA). Los tumores examinados fueron diferentes tipos de papilomas, clasificados en función de sus características morfológicas. Los datos obtenidos con el marcador utilizado fueron analizados estadísticamente y se demostró, de manera significativa, que la exposición a ácido retinoico durante el periodo prenatal incrementaba la proliferación celular en todos los tipos de papilomas desarrollados, excepto en el tipo digitiforme, hecho que coincidía con la ausencia de características displásicas.

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (LE04-98).

## **5.- EFECTO DE LA EXPOSICIÓN *IN UTERO* A ÁCIDO RETINOICO SOBRE LA MORFOGÉNESIS DE LA EPIDERMIS Y LOS FOLÍCULOS PILOSOS DE RATONES NMRI: VALORACIÓN DE LA CINÉTICA CELULAR**

García Fernández, R.A., Pérez Martínez, C., Escudero Diez, A., Durán Navarrete, A.J., García Iglesias, M.J.

unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Dpto. Patología Animal: Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

El ácido retinoico (AR), metabolito natural de la vitamina A, desempeña un papel fundamental en la embriogénesis y en el control de la proliferación y diferenciación celular de la piel. Por esta razón, se ha utilizado con fines terapéuticos en distintas patologías de la piel como neoplasias. Sin embargo, su empleo se encuentra limitado por su potencial teratogéno, demostrado tanto en animales como en humanos.

Este estudio tiene como objetivo determinar el efecto *in vivo* de la exposición prenatal a AR sobre la cinética celular de la epidermis y los folículos pilosos durante su desarrollo prenatal y perinatal, como paso previo a investigar el posible efecto preventivo de dicha exposición sobre la carcinogénesis inducida experimentalmente en piel de ratones adultos.

Se realizó un estudio comparativo entre la descendencia de hembras gestantes tratadas con 30 mg/kg PV de AR, vía oral en el día 11,5 de gestación, y la de hembras que no recibieron esta sustancia (grupo control). Dos horas antes del sacrificio los animales recibieron una inyección vía intraperitoneal de 5-Bromo-2'- Deoxyuridina (BrdU), marcador utilizado para el estudio de la proliferación celular.

La valoración de este parámetro en la epidermis se realizó desde el día 12,5 al 18,5 de gestación, mientras que en el bulbo piloso, este estudio se hizo a partir de la fase de formación del pelo (día 18,5 de gestación) hasta su salida por encima de la epidermis (día 1 de edad).

El estudio estadístico demostró que, en todos los días examinados, los animales expuestos *in utero* a AR mostraban un incremento significativo de la proliferación celular, tanto en la epidermis como en el bulbo piloso, respecto al grupo control.

Este trabajo ha sido financiado por la Junta de Castilla y León (LE04-98).

## **6.- EXPRESION DE TNF- $\alpha$ POR LOS MACRÓFAGOS PULMONARES EN LA PESTE PORCINA CLASICA.**

A. Núñez, P. Sánchez-Cordón, E. Ruiz-Villamor, M. Fernández de Marco, J.C. Gómez-Villamandos y L. Carrasco.

Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, UCO, Campus de Rabanales, 14014-Córdoba (España). E-mail: [an1caotl@uco](mailto:an1caotl@uco).

Con el objetivo de estudiar la expresión de citoquinas por los macrófagos pulmonares, como posibles responsables de los cambios vasculares observados a nivel pulmonar, en el transcurso de la Peste Porcina Clásica (PPC) se inocularon 16 cerdos por vía intramuscular con una dosis de  $10^5$  TCID<sub>50</sub> de la cepa Alfort del virus de la PPC. Los animales infectados se sacrificaron por parejas a los 2, 4, 7, 9, 11, 14, 17 y 23 días post inoculación (dpi), utilizándose dos cerdos adicionales como control. Las muestras de pulmón fueron fijadas en formol y solución de Bouin, para el estudio estructural e inmunohistoquímico, y en glutaraldehído al 2,5% para el estudio ultraestructural. El estudio inmunohistoquímico se llevó a cabo mediante la técnica del ABC utilizando anticuerpos frente al antígeno vírico Gp55, SWC-3 y TNF- $\alpha$ .

En los animales inoculados se observó un aumento significativo del número de macrófagos residentes en el pulmón desde los primeros días dpi, acompañado por un incremento significativo en el número de células que expresaron TNF- $\alpha$ , tanto macrófagos intravasculares pulmonares (MIPs) como macrófagos alveolares (MAPs), coincidiendo con el inicio de la detección de la replicación del virus en estas células. Sin embargo, mientras que el aumento de MIPs inmunorreactivos frente al TNF- $\alpha$  se mantuvo durante todo el curso de la enfermedad, decayendo tan solo al final de la experiencia, el incremento en el número de MAPs se produjo solo en la etapa intermedia de la infección.

## 7.- VARIACIONES EN LA POBLACION DE MACROFAGOS EN TONSILA EN CERDOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE CON PPC

Romanini, S.<sup>1,2</sup>; Ruiz-Villamor<sup>1,3</sup>, E.; Sanchez-Cordón, P.<sup>1</sup>; Nuñez, A.<sup>1</sup>;  
García de Leaniz, I.<sup>1</sup>; Gómez-Villamandos, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparada, Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. <sup>2</sup>Dpto. Patología Animal, FAV.Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. <sup>3</sup>Laboratorio Central de Veterinaria, Santa Fe. Granada.

Las lesiones en la tonsila son un hallazgo común y característico en la Peste Porcina Clásica (PPC), siendo varias las hipótesis que se han postulado para explicar su patogenia. Los estudios realizados sobre la patogenia de esta enfermedad han demostrado que el virus replica en diferentes poblaciones celulares, como son monocitos-macrófagos, células linforreticulares, células epiteliales y células endoteliales, cuya participación en el desarrollo del cuadro clínico y lesional es muy variada en el curso de la enfermedad. De este grupo de células destacan los macrófagos, cuyo papel en la patogenia de la enfermedad aún un es desconocido. Los objetivos son estudio de las variaciones que se producen en el número de macrófagos de la tonsila estableciendo su relación con: la aparición y distribución de antígeno vírico.

Como material de estudio se tomaron muestras de tonsila de cerdos Large White x Landrace inoculados por vía intramuscular con la cepa Alfort del virus de la PPC. Los cerdos fueron sacrificados desde el 2 al 23 dpi. Las muestras fueron fijadas en la solución de Bouin, en formol tamponado y en glutaraldehído al 2,5%. El estudio inmunohistoquímico se realizó mediante la técnica del ABC, empleando los anticuerpos monoclonales gp55, SWC3, CMH II y TNF $\alpha$ , y policlonales IL1 $\beta$  e IL1 $\gamma$

La detección del antígeno vírico en la tonsila de produce a los 2 dpi en las áreas interfoliculares, generalizándose a los 3 dpi. Desde el 5 dpi se observa una disminución importante de células inmunorreactivas que se mantienen hasta el final de la experiencia. Los cambios numéricos en los macrófagos tonsilares se manifiestan con un incremento a partir del 5 dpi y a pesar de algunas variaciones entre los 9, 14 y 15 dpi la tendencia va en aumento hacia los últimos días de la experiencia. En cuanto a la presencia de las monoquinas estudiadas, ambas se observaron a partir del 2 dpi, coincidiendo con la presencia vírica y aunque las células inmunorreacticas fueron escasas hubo una incremento a partir del 7 dpi, permaneciendo alto, especialmente el TNF $\alpha$ , en los últimos dpi.

Este trabajo ha sido financiado por la DGEIC (PB 98-1033)

## **8.- EXPRESIÓN DE INTERLEUKINA(IL)-2 E ILL-4 EN ÓRGANOS LINFOIDES Y SU IMPLICACIÓN EN LA PATOGENIA DE LA PESTE PORCINA AFRICANA (PPA).**

F.J. Salguero<sup>1,2</sup>, P.J. Sánchez-Cordón<sup>1</sup>, S. Romanini<sup>1</sup>, T. Mekonnen<sup>1</sup>, M.J. Bautista<sup>1</sup>, J.C. Gómez-Villamandos<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dpto Anatomía Patológica. Universidad de Córdoba

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Sanidad Animal. CISA-INIA. Valdeolmos, Madrid

En estudios anteriores, hemos demostrado un incremento de las principales citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ ) en los órganos linfoides en la Peste Porcina Africana (PPA) Aguda. Con el mismo diseño experimental, tomamos muestras de cerdos inoculados experimentalmente con el aislado altamente virulento España-70 del VPPA, y sacrificados a 1-7 días post inoculación (dpi). Las muestras fueron procesadas para estudios histopatológicos, ultraestructurales e inmunohistoquímicos, estos últimos encaminados a la detección de antígeno vírico, y células que expresaban IL-2 e IL-4. Se observó un incremento del número de células positivas a ambas citoquinas en los órganos estudiados, simultáneamente en el tiempo y espacio a la infección vírica y a la aparición de lesiones. Con estos resultados se demuestra la implicación de los linfocitos Th1 y Th2 en la patogenia de la enfermedad, por ser estas líneas celulares las principales productoras de IL-2 e IL-4 respectivamente.



## **9.- DIAGNÓSTICO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LOS PRIMEROS CASOS DE ILEÍTIS PORCINA EN EXPLOTACIONES DE PRODUCCIÓN INTENSIVA EN CUBA.**

Fernández, O.<sup>1</sup>; Roncero, V.<sup>1</sup>; Segalés, J.<sup>2</sup>; Gazquez, A.<sup>1</sup>.

(<sup>1</sup>) Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. (<sup>2</sup>) Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals. Facultat de Veterinària (UAB). Bellaterra. Barcelona.

En este trabajo se realiza una descripción macro y microscópica de intestinos de cerdos afectados con adenomatosis intestinal porcina o variantes de ésta. Estos casos procedentes de explotaciones de producción intensiva emplazados en la región de la Habana, en Cuba, han sido diagnosticados mediante un estudio histopatológico y pruebas de inmunohistoquímica.

Estos primeros casos mostraban lesiones macroscópicas características de cuadros de enteritis necrótica o bien de adenomatosis intestinal. Microscópicamente el cuadro lesional se caracteriza por la presencia de lesiones necróticas, aumento en el número de células epiteliales inmaduras de las criptas, disminución del número de células caliciformes, acumulación de macrófagos y células plasmáticas en el intersticio y de restos celulares degenerados en la luz de las criptas.

El estudio inmunohistoquímico utilizando un anticuerpo monoclonal confirmó la presencia de antígeno *Lawsonia intracelularis* en los cortes histológicos. Ello ha permitido realizar por primera vez el diagnóstico de la infección por *L. Intracelularis*, asociada a adenomatosis intestinal porcina y enteropatía proliferativa, en cerdos de la isla de Cuba.

## **10.- COLISIONES ENTRE TRÁFICO MARÍTIMO Y CETÁCEOS EN CANARIAS**

M. André (1), E. Degollada(1,2), M. Arbelo (1), M. Andrada (1), A. Fernández (1).

1 Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35416 Arucas. 2 Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

El origen de los varamientos de cetáceos responde sin lugar a dudas a un conjunto de factores ambientales y/o naturales que tienen como directa consecuencia la pérdida de la orientación y la debilitación del organismo afectado. Sin embargo, en los últimos años, el número de ejemplares de cetáceos encontrados varados en Canarias ha incrementado conjuntamente con la presión de las actividades humanas sobre el hábitat marino. La contaminación orgánica e inorgánica derivada del desarrollo industrial o agrícola, la contaminación acústica generada por el tráfico marítimo, el desarrollo creciente de las actividades de observación de cetáceos (“whale watching”) así como las interacciones con artes de pesca constituyen algunos de los factores que influyen de forma negativa sobre el hábitat y el comportamiento natural de estos mamíferos, pudiendo tener consecuencias irreversibles sobre la permanencia de algunas especies en determinadas áreas. Las colisiones que genera el transporte marítimo es otro de los factores directamente responsable del varamiento o del desplazamiento geográfico de unos individuos o grupos de cetáceos. La densidad de especies (27 identificadas en el área) y poblaciones de cetáceos coinciden con un tráfico marítimo diario de más de 120 buques entre los dos puertos principales del Archipiélago Canario. Las colisiones con cetáceos no son raras en la región y en los últimos diez años se han registrado y documentado varios accidentes con estas especies. Además, la mayoría de los individuos encontrados varados presentan heridas graves y evidencias de violentos impactos. Las especies involucradas pertenecen a los dos subórdenes, odontocetos y mysticetos, siendo los cetáceos de mayor tamaño, probablemente debido a su comportamiento y a la mayor detección del impacto, los casos más documentados hasta la fecha. Se presenta la relación de los casos estudiados en la facultad de veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria y se discute las líneas de investigación que abre el análisis exhaustivo de los individuos afectados.

## **11.- LINFOMA T EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL DE UN DELFÍN COMÚN (*Delphinus delphis*).**

L. Suárez (1), E. Degollada(1,2), M. Arbelo(1), M. André(1), A. Fernández(1).

1 Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35416 Arucas.

2 Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

El 13 de Junio del 2000 se observaron varios delfines próximos a la playa de Las Canteras (Gran Canaria). Uno de ellos, un macho adulto de delfín común (*Delphinus delphis*), mostró un comportamiento anómalo con intención de varar. Durante el rescate, por miembros de la red de varamientos, y antes de su traslado al centro de recuperación para su atención médica el delfín murió.

Posteriormente fue transportado hasta la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas, donde se le practicó la necropsia, observándose como lesiones más destacables la presencia de un cuadro congestivo generalizado con nódulos parasitarios en pulmón.

La lesión más significativa fue observada en la zona hipotalámica en la que se detectó una masa nodular (3 cm de Ø aprox.). El examen neurohistológico mostró la presencia de células redondas de distintos tamaños y evidente pleomorfismo nuclear, siendo el número de mitosis de 1-2/400x. También se observaron áreas de necrosis asociadas a células de aspecto histiocítico. En los espacios de Virchow-Robbin se presentaron varias capas de células linfoides maduras.

Basado en la localización única del nódulo, el patrón de crecimiento y la morfología celular, se estableció el diagnóstico de un tumor primario de células redondas en el Sistema Nervioso Central.

Para determinar el inmunofenotipo celular de la neoplasia se emplearon técnicas inmunohistoquímicas, utilizándose una batería de anticuerpos policlonales y monoclonales (CD3, MAC387, S100, Lisozima, PAGF, Neurofilamentos, Vimentina, Desmina y Citoqueratinas). Los resultados inmunohistológicos demostraron la positividad en las células tumorales de antígeno CD3, por lo que se diagnosticó la neoplasia como un linfoma de células T (CD3+) primario en el SNC.

## **12.- OBSTRUCCIÓN URINARIA POR *Crassicauda* spp. EN UN CALDERÓN TROPICAL**

M. Arbelo, J. González, J. Sarradell, G. Ramírez, A. Fernández.

**Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35416 Arucas.**

Un macho adulto de calderón tropical, *Globicephala macrorhynchus*, se encontró muerto próximo a la costa sur de Tenerife, en las Islas Canarias, donde existe una colonia residente de esta especie. La necropsia reglada del cetáceo mostró una congestión generalizada de todos los órganos y hemorragias en algunas serosas. Las lesiones más significativas se observaron en el aparato urinario. La vejiga de la orina presentó una dilatación muy manifiesta con hemorragias en serosa y un alto contenido de sangre en la orina. Ambos uréteres presentaron una evidente dilatación en todo su trayecto (hidrouréter bilateral), sin detectarse cambios macroscópicos apreciables en el riñón. En el trayecto de la uretra se observó la presencia de parásitos (*Crassicauda* spp.) principalmente en el tercio proximal, provocando la obstrucción de la misma, así como lesiones necrótico-hemorrágicas en la zona anterior y posterior a la obstrucción.

Nematodos del género *Crassicauda* han sido frecuentemente asociados con patologías en cetáceos. Las lesiones producidas por estos parásitos se han descrito en los senos craneales así como en riñón y glándula mamaria. La especie *Crassicauda carbonelli* ha sido encontrada en el pene de un calderón Negro (o delfín piloto), *Globicephala melas*, en la luz de la uretra y similares hallazgos patológicos se han descrito en el pene de rorcuales.

Por tanto, aunque las infestaciones por *Crassicauda* están descritas en calderones, la obstrucción uretral completa por este género y su asociación como causa de muerte no ha sido referenciada hasta el momento según nuestros datos.

### **13.- Nasitrema Spp. ASOCIADO A LESIONES DEL SNC EN ODONTOCETOS VARADOS EN LAS ISLAS CANARIAS.**

E. Degollada (1,2), M. André (1), M. Arbelo (1), L. Suárez (1), A. Fernández (1).

1 Unidad de Histología y Anatomía Patológica, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35416 Arucas.

2 Unidad de Anatomía, Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona, 08193 Bellaterra.

El género *Nasitrema* (Trematoda, Digenea) ha sido implicado como una posible causa de varamiento y muerte de odontocetos. Este trematodo, localizado principalmente en los senos paraóticos ha sido descrito afectando al oído y al cerebro. Aunque considerado patogénico, no existe una descripción completa de las lesiones causadas. En este trabajo se presenta la existencia de *Nasitrema* spp. Asociado a lesiones del sistema nervioso central en cetáceos varados en las Islas Canarias.

En la Facultad de Veterinaria se llevan a cabo necropsias rutinarias en los cetáceos varados, prestando especial atención a la parasitación de la región del oído. Durante los dos últimos años, un alto porcentaje de los cadáveres examinados, perteneciendo a más de cuatro especies de odontocetos, mostraron la presencia de este parásito en los senos paraóticos. El parásito se asoció a lesiones con variaciones desde sinusitis ligera a meningoencefalitis severa. Este último caso sucedió en un viejo delfín mular *Tursiops truncatus* infestado severamente que, además, mostró formas adultas migrando en el trayecto del octavo par craneal. La histopatología mostró, en general, una reacción caracterizada por inflamaciones crónicas mononucleares con y sin presencia de estructuras parasitarias.

Los casos observados nos permiten confirmar que las lesiones por *Nasitrema* spp. afectando el sistema nervioso central pueden implicar una disfunción del equilibrio induciendo al odontoceto a varar.

Desde una perspectiva patológica, la ausencia de formas parasitarias no descarta su participación en lesiones nerviosas, apoyando de esta manera los resultados presentes, que claramente indican una incidencia de este parásito mas alta de lo documentado.

#### **14.- LESIONES HEPÁTICAS ASOCIADAS A TREMATODOS EN CETÁCEOS VARADOS EN CANARIAS**

Raduan, J, Herráez, P, Espinosa de los Monteros, A, Rodríguez, F, Castro, P. Fernández, A. ANATOMÍA Y ANATOMÍA PATOLÓGICA COMPARADAS, DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA, FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.

En el curso de las investigaciones que se vienen realizando sobre los cetáceos de las costas canarias se ha podido observar la gran cantidad de parásitos que incide sobre estos mamíferos marinos. Este estudio se ha basado en el examen histológico del hígado de 75 cetáceos de distintas especies varados en aguas canarias.

En estos casos, las lesiones histológicas asociadas a la parasitosis hepática están localizadas en el espacio porta, con modificaciones que van desde la presencia del parásito en conductos biliares con intensas reacciones inflamatorias, hiperplasia de conductos biliares y proliferación conectiva periportal, hasta la presencia de infiltrado inflamatorio periportal de carácter linfoplasmocitario de distinta intensidad, en ausencia de formas parasitarias.

*Campula spp.*, es uno de los trematodos que afecta a los cetáceos. La familia campulidae contiene 4 géneros (*Campula*, *Lecithodesmus*, *Odhneriella*, *Zalophotrema*) encontrados en el hígado y el páncreas. Su ciclo biológico no está bien documentado, aunque se cree que se transmite por la ingestión de peces infestados. Se han identificado dos especies, *Campulla palliata* y *Campulla oblonga*, que provocan colangitis linfoplasmocitaria, hiperplasia y fibrosis biliar.

De los 75 hígados estudiados, en 6 de ellos se observaron parásitos en conductos biliares que han sido clasificados hasta el momento como *Campula spp.* En el análisis histológico cabe destacar en muchos casos la presencia de plasmocitosis intrasinusoidal asociada a infestaciones parasitarias graves en hígado o en otras localizaciones como pulmón, y senos aéreos. En el presente trabajo se mostrarán las lesiones histológicas hepáticas asociadas a trematodos en diferentes especies de cetáceos varados en las Islas Canarias.

### **15.- NEUMONÍA MICÓTICA POR *ASPERGILLUS FUMIGATUS* EN UN CABALLO.**

González Huecas, M.; Rodríguez Bertos, A.; Novoa Martínez, C.; Rollán Landeras, E.; \*Pérez Pérez, V.; Pizarro Díaz, M.

Dpto. de Patología Animal II. H.C.V. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

\*Dpto. de Patología Animal, Medicina Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

Las micosis equinas están descritas, sobre todo, en las bolsas guturales. Sin embargo los procesos neumónicos de etiología micótica son muy poco frecuentes en esta especie, a pesar de que la mayor parte de los organismos que las generan son ubicuos y, por lo tanto, pueden ser inhalados de manera habitual y constante. Dentro de estas patologías se han identificado, en el caballo, agentes causales tales como *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Cryptococcus* y *Pythium*. Las hipótesis científicas sugieren que los hongos pueden asentar en el pulmón de animales con enteritis, inmunosupresión, tratamientos prolongados con antibióticos, adenoma de pituitaria y sobre lesiones originadas por la migración de larvas de parásitos.

El caso que nos ocupa es el de una yegua de raza Anglo-Árabe de nueve años de edad que fue remitida al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Veterinario de la Facultad de Veterinaria de Madrid, con un historial de síndromes cólicos y periodos de diarrea intermitente a lo largo de un año. El animal estaba caquéctico y tras la apertura del cadáver se observaron, en ambos pulmones, la presencia de formaciones nodulares blanquecinas múltiples de consistencia firme y de 0,5-0,8 cm de diámetro. En la cavidad abdominal y a nivel de intestino se observó un marcado engrosamiento de la mucosa, fundamentalmente en el colon, y un aumento de tamaño de los ganglios regionales. El estudio histopatológico reveló una neumonía granulomatosa difusa cuyo agente etiológico, fue identificado con las técnicas de P.A.S. y plata metenamina como un hongo con hifas ramificadas y tabicadas; con técnicas inmunocitoquímicas se confirmó la presencia de hongos del género *Aspergillus* (*A. Fumigatus*), pudiendo tratarse de una infección mixta.

## **16.- IMPORTANCIA DEL DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO EN BOVINOS TUBERCULINA POSITIVOS Y SUS REPERCUSIONES SANITARIAS Y ECONÓMICAS**

Carrera, D.; Méndez, A.; García, P.M<sup>a</sup>.; Ordás, J.; Pérez, J.

Dpto. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria de Córdoba. Campus Universitario de Rabanales. Carretera de Madrid km. 396. 14071 Córdoba.

La TBC bovina está incluida dentro de los programas nacionales de erradicación de enfermedades de los animales, los cuales son regulados por el Real Decreto 2611/96; como indica dicho R.D., la prueba oficial para diagnóstico de TBC bovina será la intradermotuberculinización.

Igualmente en el R.D. 2611/96 se da una calificación sanitaria de la explotación según el estado de la cabaña bovina con respecto a la TBC: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>, donde destaca T<sub>3</sub>, que es la explotación oficialmente indemne a la enfermedad, de acuerdo a la definición que al respecto realiza el R.D. 379/87, destaca que para tener tal calificación, todos los animales deben encontrarse libres de la enfermedad.

El objetivo de este estudio fue analizar 49 bovinos que dieron positivos a la prueba de la tuberculina, tras el sacrificio en el matadero. Se tomaron muestras y se procedió a su procesamiento y estudio histopatológico. Se realizaron técnicas de rutina como H-E y Ziehl-Neelsen, y con posterioridad un estudio inmunohistoquímico, con la realización del técnica Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC).

Los resultados que hemos obtenido tras la realización de los estudios histopatológicos nos indican que en sólo un 26'53 % de los animales positivos a la prueba de la tuberculina, se confirmó con técnicas de Ziehl-Neelsen e inmunohistoquímicas la presencia del bacilo.

En conclusión, queremos destacar que el diagnóstico histopatológico de la TBC es básico e imprescindible, debido a que existe un elevado porcentaje de animales que, a pesar de la positividad a la prueba, no presentaron lesiones histopatológicas, lo que puede hacer perder a la explotación su calificación sanitaria, mermando en gran medida sus posibilidades comerciales, con las consiguientes pérdidas económicas.

### **Bibliografía**

Robbins, S.L.; Cotran, R.S. y Kumar, V.- Patología estructural y funcional. 6<sup>a</sup>. Edición. 1999.

Eriksen, P.J.- Mataderos y degolladeros rurales. FAO. Roma. 1978.

Real Decreto 2611/96, publicado en el BOE el 21 de diciembre de 1996.

Real Decreto 379/87, publicado en el BOE el 18 de marzo de 1987.



## 17.- RELACIÓN ENTRE HALLAZGOS PATOLÓGICOS Y SEROLÓGICOS FRENTE A LA PARATUBERCULOSIS Y RESPUESTA A LA PRUEBA DE LA IDTB EN GANADO VACUNO.

Ana Balseiro<sup>1</sup>, Miguel Prieto<sup>1</sup>, Alberto Espí<sup>1</sup>, Carmen Castro<sup>1</sup> & J. Francisco García Marín<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>SERIDA-Laboratorio de Sanidad Animal. Jove del Medio. 33299 Gijón

<sup>2</sup>Dpto. de Pat. Animal: Medicina Animal. Fac. de Veterinaria Univ. León. 24007 León

La técnica oficial para el diagnóstico de la tuberculosis bovina es la prueba de la intradermotuberculinización (IDTB). Su sensibilidad está definida entre el 77 y el 95% y, cuando los niveles de prevalencia de la tuberculosis son bajos, se destacan los falsos reaccionantes positivos que en algunos casos pueden ser atribuidos a reacciones cruzadas con el complejo *Mycobacterium avium* (*M. a. Paratuberculosis*). En esta comunicación se describe la posible relación entre animales reaccionantes a la IDTB y la presencia de lesiones microscópicas de paratuberculosis. Para ello se examinaron las válvulas y ganglios ileocecales de 131 animales pertenecientes a 49 rebaños que reaccionaron positivamente a la IDTB (grupo 1) y de 91 animales pertenecientes a 49 rebaños no reaccionantes a la IDTB (grupo 2). Así mismo se realizó un ELISA para detectar anticuerpos frente a *M. a. Paratuberculosis* en 283 y en 127 animales pertenecientes al grupo 1 y al grupo 2 respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de animales positivos y negativos a la IDTB en relación con la presencia de lesiones microscópicas compatibles con paratuberculosis. En ambos grupos estudiados las lesiones más frecuentes se encontraron en ganglio ileocecal, siendo de tipo tuberculoide en el 69,23% de los IDTB positivos y en el 58,33% de los IDTB negativos, y de tipo multifocal en el 30,76% de los primeros y en el 41,66% de los segundos. Se concluye que la infección paratuberculosa podría tener una alta prevalencia en Asturias, encontrándose en el 32,72% de los rebaños sin manifestaciones clínicas.

## 18.- DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE *MYCOPLASMA AGALACTIAE* EN MUESTRAS DE MAMA DE GANADO CAPRINO LACTANTE INFECTADO NATURAL Y EXPERIMENTALMENTE.

Rodríguez F<sup>1</sup>, Sarradell J<sup>2</sup>, Espinosa de los Monteros A<sup>1</sup>, Ramírez GA<sup>1</sup>, Ramírez AS<sup>3</sup>, Fernández A<sup>1</sup>. Dpto. de Morfología, Anat. y Anat. Patol. Comp. Fac. de Veterinaria-ULPGC - 2. Patol. Gral., Fac. de Cs. Veterinarias-UNR-Argentina 3. Epidemiología y Medicina Preventiva, Dpto. de Patología Animal, Fac. de Veterinaria-ULPGC.

*Mycoplasma (M.) agalactiae* es el principal agente productor de la Agalaxia Contagiosa Caprina (ACC). Los métodos de diagnóstico microbiológicos y serológicos rutinarios presentan dificultades en su aplicación derivados de la dificultad del cultivo, tanto por la comunidad antigénica con otros micoplasmas productores de mamitis clínicamente indistinguibles de la forma clínica de la ACC como por la lentitud y exigencias del crecimiento del agente siendo necesaria cierta experiencia de los laboratorios de diagnóstico en éste área.

En este trabajo nos planteamos desarrollar un método de diagnóstico inmunohistoquímico rápido de mamitis producidas por *M. agalactiae* en tejidos fijados en formol. Para ello, empleamos 12 cabras lactantes procedentes de diversas granjas con serología, cultivo y clínica de mamitis indicativas de infección causada por *M. agalactiae* así como dos animales control inoculados experimentalmente vía intramamaria. Las muestras se procesaron rutinariamente para histología presentándose lesiones de mamitis de diversa intensidad con galactoforitis purulenta y presencia de exudado purulento en las luces de los alvéolos y conductos intra e interlobulillares. En otros lobulillos aparecían moderada fibrosis, infiltrado linfoplasmocitario y atrofia glandular. Aplicamos la técnica de ABC con un anticuerpo monoclonal (5G12) desarrollado frente a una proteína de membrana de *M. agalactiae* y que no presentó reactividad cruzada frente a otros micoplasmas descritos en ganado caprino. El antígeno de *M. agalactiae* se observó especialmente asociado al infiltrado inflamatorio presente en las luces ductales y, en menor medida, en el interior de macrófagos y neutrófilos del intersticio glandular. La técnica permite, por una parte el diagnóstico rápido y fiable de mamitis del ganado caprino asociadas a la infección clínica por *M. agalactiae* diferenciándolo asimismo de mamitis producidas por *M. mycoides* subsp. *mycoides*, *M. mycoides* subsp. *capri* y *M. putrefaciens*. Por otra parte, representa una técnica adicional en la profundización del estudio de la patogenia de mamitis por micoplasmas en ganado caprino al permitir visualizar el agente causal y los cambios lesionales ocasionados.

**19.- DISTRIBUCIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS EN ABOMASO Y GANGLIOS LINFÁTICOS ABOMASALES DE CABRAS INFECTADAS Y REINFECTADAS CON *Haemonchus contortus***

J. Pérez, S. Cámara (1), P.M. García, S. Martínez-Cruz(1), A. Martínez-Moreno (1)

Dept. Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. (1) Cátedra de Parasitología. Facultad de Veterinaria de Córdoba. Campus de Rabanales, Edificio de Sanidad Animal. E-mail: an1pearj@uco.es

Para el presente estudio se utilizaron 5 grupos de 4 cabras, uno de ellos fue usado como control no infectado y los otros se infectaron con una (grupo A), dos (D), tres (C), o cuatro (B) dosis de *Haemonchus contortus* separadas al menos por una semana. En la lámina propia del abomaso se observó un moderado (grupo A) o muy abundante (grupos B, C y D) infiltrado de linfocitos T (CD2 y CD3). Los linfocitos CD4 eran más abundantes que los CD8, principalmente en las cabras reinfectadas. Los linfocitos  $\gamma\delta$  eran ocasionales en todas las cabras infectadas y reinfectadas. El infiltrado de células B (CD79a<sup>+</sup> y B-B4<sup>+</sup>) era moderado en las cabras mono infectadas y abundante en las reinfectadas. El número de células plasmáticas IgG<sup>+</sup> también era muy abundante en las cabras reinfectadas y moderado en las infectadas con una sola dosis. Tanto en las cabras infectadas con una dosis como en las infectadas con varias dosis, los ganglios linfáticos abomasales mostraron una marcada hiperplasia de folículos linfoides y de cordones medulares, siendo moderada la hiperplasia de áreas paracorticales. En las cabras infectadas con varias dosis se observó además un abundante infiltrado de eosinófilos, mientras que estas células eran escasas en las cabras del grupo A. El número de células B (CD79a<sup>+</sup> y B-B4<sup>+</sup>), así como las células plasmáticas IgG<sup>+</sup> aumentaron de forma marcada en todas las cabras infectadas. Similares resultados fueron obtenidos para los linfocitos T (CD3<sup>+</sup>, CD2<sup>+</sup>), aumentando particularmente los linfocitos CD4, especialmente en las cabras reinfectadas. Los linfocitos  $\gamma\delta$  eran ocasionales en todas las cabras analizadas.

Los resultados del estudio indican que las infecciones repetitivas estimulan la respuesta inmune celular y humoral local.

Agradecimientos: estudio financiado mediante proyecto (CICYT AGF96-1132) y Junta de Andalucía (AGR 137).

## **20.- MUERTE CELULAR EN SCRAPIE**

Puig B. ( 1), Vidal E.( 2), Sisó S.( 2)., Badiola, J. (3), Pumarola M.(2), Ferrer, I.(1)

(1) Departament de Biologia Cel.lular i Anatomia Patològica. Facultat de Medicina. Universitat de Barcelona. (2) Departament de Medicina i Cirurgia Animal. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. (3) Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza.

En el presente trabajo se han estudiado los cambios neurodegenerativos y la expresión de diferentes proteínas implicadas en las vías de señalización de muerte en un modelo murino de scrapie mediante inmunohistoquímica. Para este estudio se inyectaron intraperitonealmente con la cepa RML de scrapie .nueve ratones, cinco de los cuales fueron sacrificados en fase terminal y cuatro cuando ya presentaban sintomatología. En los cinco animales terminales junto con cuatro animales control se examinaron las proteínas PrPsc, Fas, Fas-I, MAPK, c-Jun AP-1, Bax, Bcl-2, citocromo-c, caspasa-3 activada, aBcristalina, lectina, GFAP, NeuN y tinción de HE y TUNEL. En los animales con sintomatología, se estudió la expres ión de sinaptofisina, caspasa-3 activa, tinción de HE y TUNEL, c-jun AP1, aBcristalina, lectina, GFAP, NeuN y expresión de PrP.

La zona que presenta más vacuolización del neuropilo es la protuberancia mientras que los depósitos de PrP se localizan en el estriado, tálamo, hipocampo y protuberancia.

En todos los animales infectados se observa una gran proliferación microglial y de astrocitos , que además presentan inmunoreactividad para MAPK y para aB cristalina. En ambos casos también hay muy poca pérdida neuronal y poco marcaje con caspasa-3 activa y TUNEL, localizado principalmente en la corteza del cerebelo, tálamo y protuberancia. C-jun AP1 se encuentra aumentado en la protuberancia y mesencéfalo. No hay diferencias entre la expresión de Fas, Fas-L, Bax, Bcl-2 y citocromo c entre animales infectados y controles. En los animales en fase sintomática se ve una disminución de sinaptofisina sobre todo en tálamo y protuberancia. Estos resultados sugieren que aunque hay muerte neuronal por apoptosis, esta es solo un componente entre todos los cambios neuropatológicos observados.

## **21.- EL PROGRAMA DE VIGILANCIA DE LA ENCEFALOPATÍAS ESPONGIFORMES EN RUMIANTES EN CATALUNYA: 1996-2000.**

Sisó S.<sup>1</sup>, Cortada M.<sup>2</sup>, Cugat G.<sup>2</sup>, Pumarola M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departament de Medicina i Cirurgia Animals. Facultat de Veterinària. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra, Barcelona. <sup>2</sup> Departament de Sanitat i Seguretat Social. Direcció General de Salut Pública. Generalitat de Catalunya.

### **Objetivo**

Presentamos el “Programa de Vigilància enfront l’EEB i l’Scrapie a Catalunya” realizado desde 1996 hasta 2000. Se aprecia su progresión y modificación a lo largo de los años.

Incluimos los datos epidemiológicos de interés recogidos por la base de datos, así como un estudio de las lesiones más comúnmente observadas en la población estudiada.

### **Resumen de los resultados y conclusiones**

Se observa la evolución del Programa a lo largo de los años, con ausencia del mismo en el año 1997, y una notable mejora en los dos últimos años (1999 y 2000) ya que el número de animales por especie se estabiliza, se consolida el plan aleatorio y el plan sospechoso. La edad de la población estudiada es la adecuada para las enfermedades priónicas en rumiantes. La ficha de identificación individual facilita un buen seguimiento de los casos neurológicos archivados en la base de datos. El estudio histológico del encéfalo de todos los animales permite la descripción y cuantificación de las lesiones más frecuentes, así como la tipificación de las lesiones espongiiformes observadas, además de familiarizarse con las lesiones asociadas al envejecimiento. Finalmente, en algunos casos facilita la correlación clínica-patología.

## **22.- FIBROMA OSIFICANTE EN UNA POTRA DE P.R.E.**

Vásquez F.A., Pallarés F. J., Zilberschein. J\*., Rodríguez M. A\*., Martos N\*., Seva J.

Servicio de Anatomía Patológica.

\*Servicio de Cirugía y Medicina Equina. Hospital Clínico Veterinario. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

El fibroma osificante, tumor de rara presentación en equinos, a pesar de sus características benignas en ocasiones presenta una evolución y pronóstico desfavorables. Se describe un caso de fibroma osificante en la mandíbula de una potra de 3 meses de edad de pura raza española. La masa, de rápido crecimiento, se localizó en la región mandibular rostral cercana al incisivo extremo. La imagen radiológica muestra áreas circunscriptas radiolúcidas y neoformación ósea, desplazamiento de las piezas dentarias y proyección hacia el interior del hueso de radiodensidad 3, presentando líneas radiopacas. Microscópicamente el área superficial tiene necrosis tisular con abundantes bacterias, neutrófilos y trombosis vascular. Las zonas media y profunda presentan un tejido conectivo muy celular constituido por células semejantes a fibroblastos, y sustancia fundamental configurada que muestra una estructura preósea. Entre las bandas conectivas se observa matriz ósea perfectamente diferenciada con la presencia de osteoblastos, osteocitos y osteoclastos. Los datos del estudio histopatológico confirman el diagnóstico de un fibroma osificante.

### **23.- DESCRIPCIÓN DE UN CASO DE TERATOMA EN EL SNC DE UN CABALLO**

Novoa Martínez, C., García Palencia, P., González Huecas M., Pickering Thompson, X., Rollán Landeras, E., Rodríguez Veiga, E.\*

Dpto. de Patología Animal II y \*Dpto. de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense. Madrid.

Los teratomas intracraneales son poco frecuentes en las distintas especies domésticas, sin embargo los de localización ovárica y testicular presentan una mayor incidencia. La mayoría de los casos publicados en el caballo se refieren a testículos criptórcidos. En esta especie se han descrito casos de quistes epidermoides y dermoides en el SNC aunque su incidencia es muy baja. En nuestro caso se trata de un caballo PRE, macho, de un año de edad, que presentaba un cuadro de incoordinación y ataxia, por lo que fue sacrificado en matadero, extrayéndose el encéfalo y la médula espinal, que fueron fijados en formol al 10% y remitidos al Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Veterinario.

Al tallar el encéfalo observamos un crecimiento tumoral que comienza a nivel diencefálico en la línea media del tercer ventrículo, altera la luz ventricular y se prolonga hasta los niveles caudales del mesencéfalo, ocupando la luz del acueducto mesencefálico. Macroscópicamente no parece que afecte al cerebelo. La neoplasia tiene forma irregular y aspecto de piel, con numerosos pelos, alrededor de una formación redondeada de unos 0,8 cm. de diámetro de consistencia muy dura, que se introduce en ácido nítrico al 5% para su descalcificación.

Histológicamente, se observa una piel perfectamente diferenciada con anejos (folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas) y tejido muscular estriado esquelético. La parte central, tras su descalcificación, es un tejido óseo maduro con médula ósea.

Hemos diagnosticado esta lesión como teratoma aun cuando existe controversia en las publicaciones consultadas en cuanto a la clasificación de este tumor y de los quistes epidermoides y dermoides.

## **24.- EXPRESIÓN DE CALPONINA EN TUMORES SIMPLES CANINOS, FELINOS Y HUMANOS.**

Autores: Y. Millán\*, A. Espinosa de los Monteros\*\*, J. Ordás\*, C. Reymundo\*\*\*y J. Martín de las Mulas\*.

Dirección:\*Dpto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Universidad de Córdoba.\*\*Dpto. de Ciencias Morfológicas. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.\*\*\*Dpto. de Especialidades Médico-Quirúrgicas. Universidad de Córdoba.

En este trabajo presentamos un estudio comparado de la expresión de la proteína de músculo liso calponina en 75 carcinomas de mama (15 caninos, 32 felinos y 28 humanos). Los tumores analizados son casos de archivo seleccionados en función de la similitud de tipo histológico entre las tres especies y de la ausencia de participación de células mioepiteliales en cortes teñidos con Hematoxilina y eosina. Todos los casos habían sido fijados en formol tamponado al 10% e incluidos en parafina. La inmunolocalización de la calponina se llevó a cabo mediante el método inmunohistoquímico del ABC utilizando un anticuerpo monoclonal comercial. El tejido glandular mamario normal adyacente a los tumores y la musculatura vascular lisa se utilizaron como controles positivos internos.

En la mama normal de las tres especies, el anticuerpo anti-calponina reaccionó de forma intensa y homogénea con una banda continua de células aplanadas situada alrededor de ductos y acinos. En los tumores de las tres especies se encontraron 4 tipos de células inmunoreactivas en proporciones variables: 1) mioepiteliales normales en áreas in situ y microinvasoras; 2) células de morfología diferente a las constitutivas de la neoplasia y que no habían sido identificadas en la Hematoxilina-eosina; 3) células de morfología idéntica a las constitutivas de la neoplasia; y 4) células estromales. Los carcinomas de mama felinos son más similares a los humanos que los caninos con respecto a la expresión de calponina. Es interesante destacar que el porcentaje de tumores histológicamente malignos de la mama canina que presentan un comportamiento biológico agresivo es menor que el de felinos y humanos, hecho que podría estar relacionado con el papel de supresor natural de tumores de las células mioepiteliales.

**Agradecimientos:** Proyecto PM98-0164 de la DGESICyT (Área de Salud) del MEC y Proyecto PI1999/155 de la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias.



## **25.- CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS EN ANILLO DE SELLO EN UN PERRO**

A. Espinosa de los Monteros<sup>1</sup>; G.A. Ramírez<sup>1</sup>; M. Andrada<sup>2</sup>; J. Sarradell<sup>2</sup> y F. Rodríguez<sup>1</sup> .

<sup>1</sup> Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>2</sup> Departamento de Patología General. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de Rosario (Argentina).

El carcinoma de células escamosas (CCE) supone en el perro la segunda neoplasia cutánea más frecuente, después de los mastocitomas. Histológicamente, la mayoría de estos tumores están constituidos por nidos, cordones o trabéculas de células epiteliales que, partiendo de la epidermis, invaden a tejidos más profundos. Otras características típicas son la formación de perlas córneas, la presencia de puentes intercelulares y una reacción desmoplásica como respuesta a la invasión tumoral. Se describen dos variantes histológicas infrecuentes, la acantolítica, en donde las células neoplásicas degeneran y se individualizan, y la de células fusiformes.

Se presenta un caso de CCE en un perro mestizo de diez años de edad, localizado en la piel del escroto, mostrando ulceración y crecimiento en placa. Histológicamente, el tumor se correspondía con un crecimiento epidérmico formando cordones que invadían al tejido conectivo y llegaban a dermis profunda. Aproximadamente el 80% de las células neoplásicas, especialmente en las presentes en áreas más profundas de la dermis, mostraban una morfología en anillo de sello, debido a una gran vacuola presente en su citoplasma, que desplazaba al núcleo a la periferia, recordando la morfología de los adipocitos.

El estudio inmunohistoquímico confirmó un inmunofenotipo característico de un CCE, dado que las células neoplásicas mostraron reacción con anticuerpos anti-queratinas de alto peso molecular. Por su parte, el estudio ultraestructural reveló que el contenido de las vacuolas citoplasmáticas era lipídicos.

Esta variante de CCE no ha sido descrita previamente en la literatura veterinaria, siendo sólo dos los casos descritos en el hombre, y en donde el apoyo de las técnicas inmunohistoquímicas se hace imprescindible para un correcto diagnóstico.

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias (PI1999/155)

## **26.- CARCINOMA RICO EN LÍPIDOS DE LA MAMA CANINA. CARACTERÍSTICAS ANATOMOCLÍNICAS DE 3 CASOS.**

A. Espinosa de los Monteros<sup>1</sup>; Y. Millán<sup>2</sup>; A. Lara<sup>3</sup>; J. Ordás<sup>2</sup>; G.A. Ramírez<sup>1</sup> y J. Martín de las Mulas<sup>2</sup>. <sup>1</sup> Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. <sup>2</sup> Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba. <sup>3</sup> Departamento de Patología Animal. Unidad de Cirugía. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

El carcinoma rico en lípidos es un tipo especial de carcinoma de la glándula mamaria de la perra caracterizado por la presencia de células con abundantes vacuolas citoplasmáticas que contienen gran cantidad de lípidos neutros. Introducido por primera vez por la OMS en 1999, es un tumor raro en la especie canina, al igual que en la mujer, y no descrito en la especie felina.

En esta comunicación presentamos las características clínicas, histológicas e inmunohistológicas de tres casos de carcinoma rico en lípidos diagnosticados en tres perras de edad media. En dos de los animales los tumores fueron únicos, mientras que en el tercero la lesión primaria fue doble. Histológicamente, las características comunes a los tres tumores fueron el crecimiento expansivo y bien delimitado; la disposición de las células neoplásicas en nidos o cordones separados por una cantidad moderada de estroma; la presencia de vacuolas intracitoplasmáticas por lo general únicas y de gran tamaño, que desplazan y deforman el núcleo (células en anillo de sello); y la atipia moderada. En dos de los tres casos se observó invasión de vasos linfáticos por émbolos de células tumorales. El estudio inmunohistológico demostró que las células neoplásicas tenían un inmunofenotipo epitelial glandular (citoqueratinas 5+8 y 8+18+19), quedando el inmunofenotipo mioepitelial descartado por la ausencia de reacción con anticuerpos frente a la calponina, la citoqueratina 14 y la actina muscular. Ninguno de los tres tumores presentaba receptores de estrógenos o de progesterona.

El comportamiento biológico de dos de las tres neoplasias ha sido desfavorable: un animal fue eutanasiado cuatro meses después de ser extirpada la neoplasia por presentar metástasis multiorgánicas y otro animal ha presentado tres recidivas y metástasis en el ganglio linfático inguinal derecho desde que se le diagnosticara el tumor primario en junio de 2000. Un solo animal está libre de enfermedad desde la extirpación quirúrgica del tumor en octubre de 2000.

Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Educación, Cultura y Deportes del Gobierno de Canarias (PI1999/155) y por la DGESICyT (Área de la Salud) del MEC (PM98-0164).

## **27.- CONDROSARCOMA PERIOSTEAL EN UN PERRO: LOCALIZACION EN LA CRESTA DE LA NUCA.**

Durán, M.E.\*; Fernández, O.\*; Gómez, L.\*; Jiménez, J.\*\*; Ezquerro, L.J.\*\*

(\*) Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. UEX.

(\*\*) Unidad de Patología Quirúrgica y Cirugía. Facultad de Veterinaria. UEX.

Dirección: Unidad de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. UEX. Avd. de la Universidad s/n. 10071.

Los condrosarcomas son neoplasias óseas primarias no muy frecuentes en los carnívoros domésticos, representando alrededor del 10% de todos los procesos malignos de esta localización en el perro. Según su origen dichos procesos se van a clasificar en condrosarcomas de origen central o medular y condrosarcomas de origen periférico. De estos dos grupos son los condrosarcomas de origen central los más usuales, mientras que los periféricos son de rara presentación. Este proceso afecta fundamentalmente a huesos largos y también a planos, su evolución es larga y tienen escasa tendencia a la metástasis.

En este trabajo presentamos el estudio clínico-radiológico y morfológico de un paciente que desarrolla un proceso tumoral en la cabeza, con una evolución de más de un año. Dicho paciente, un perro de raza boxer, en ningún momento manifiesta signos clínicos vinculados a dicha patología a excepción de la presentación de la propia tumoración. Tras una primera evaluación en el Servicio de Cirugía y Radiología de la Facultad de Veterinaria de la UEX, y mientras se le hacen las correspondientes radiografías, el paciente muere súbitamente.

El estudio postmortem se practicó en el Servicio de Anatomía Patológica, realizándose la correspondiente necropsia y estudio histopatológico. El proceso se diagnostica como un Condrosarcoma Periosteal desarrollado en la cresta de la nuca y que se expande hacia la región parietal izquierda, con metástasis en pulmón.

## **28.- COMUNICACIÓN INTRACARDIACA ENTRE EL VENTRÍCULO IZQUIERDO Y LA AURÍCULA DERECHA ASOCIADA A ENDOCARDITIS VALVULAR AÓRTICA.**

Ramírez GA<sup>1</sup>, Herráez P<sup>1</sup>, Sarradell J<sup>2</sup>, Andrada M<sup>2</sup>, Espinosa de los Monteros A<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas, Departamento de Morfología, Facultad de Veterinaria, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

<sup>2</sup> Patología General, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

Un perro Montaña del Pirineo de 6 años de edad, macho, fue remitido a nuestro Servicio de Anatomía Patológica, tras un cuadro de fiebre (39.8°C), postración y anemia severa. En la necropsia, se observó una endocarditis que implicaba a la base de la válvula aórtica, con formación de vegetaciones de aspecto rugoso, de coloración amarillo-rojiza y de consistencia friable. Esta lesión endocárdica evolucionó hacia una endocarditis ulcerativa-perforante que causó una comunicación entre ventrículo izquierdo (localización subaórtica) y aurícula derecha (sobre la válvula tricúspide). Histológicamente, se observó destrucción valvular con presencia de infiltrado inflamatorio, fibrina y abundantes colonias bacterianas gram negativas. Otras lesiones significativas incluyeron áreas multifocales de infarto en ambos riñones, asplenia y congestión pasiva crónica hepática. En el estudio microbiológico se aisló e identificó *Bordetella avium* de las lesiones valvulares y ganglios linfáticos.

Basándose en las lesiones macroscópicas, la demostración histológica de agentes bacterianos y el aislamiento microbiológico se llegó al diagnóstico de comunicación ventriculo-auricular debida a endocarditis valvular de etiología bacteriana.

La endocarditis se refiere a la afección y, usualmente, destrucción del endocardio. Cualquier porción del endocardio puede verse afectada, si bien las lesiones son generalmente primarias en las válvulas y estructuras de soporte (endocarditis valvular), siendo raras las endocarditis donde se afecta únicamente la pared (endocarditis mural). Este caso supone una evolución atípica de una endocarditis bacteriana causante de una perforación intracardiaca, existiendo escasas referencias en la literatura tanto humana como veterinaria. *B. avium* no es un agente patógeno específico causante de endocarditis. La implicación en estos procesos de agentes muy parecidos fenotípicamente a *B. avium* (*B. avium-like organisms*) por los métodos rutinarios usados en la mayoría de los laboratorios microbiológicos es discutida. Estos microorganismos han sido descritos como causantes de septicemia y endocarditis en individuos inmunodeprimidos y/o asplénicos y esplenectomizados.

## **29.- FAEOHIFOMICOSIS INVASIVA CAUSADA POR *CURVULARIA SPP* EN UN PERRO.**

P. Herráez,<sup>1</sup> A. Espinosa de los Monteros,<sup>1</sup> F. Rodríguez,<sup>1</sup> C. Rees<sup>2</sup> y R. Dunstan.<sup>3</sup>

1.- Departamento de Morfología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

2.- Department of Small Animal Clinical Sciences, Texas A&M University, USA.

3.- Department of Veterinary Pathobiology, Texas A&M University, USA.

Muestras de piel de un perro de raza Boxer de 2 años de edad se remitieron al Servicio de Diagnóstico Histopatológico de la Facultad de Veterinaria de Texas A&M University. Macroscópicamente, se observaron múltiples áreas de alopecia, pápulas y nódulos ulcerados localizados en la superficie dorsal y lateral del tronco y las extremidades.

Histológicamente, las principales lesiones consistieron en una dermatitis piogranulomatosa nodular multifocal, foliculitis y paniculitis. Los piogranulomas variaron en tamaño y estaban constituidos por macrófagos, células epiteloides, células gigantes multinucleadas, neutrófilos y linfocitos. Asociados a estos granulomas se observó la presencia de hongos que, aunque por lo general fueron translúcidos en ocasiones presentaban una coloración marronácea localizada en la pared celular de las hifas. Estos hongos pigmentados se observaron igualmente en el infundíbulo de algunos folículos pilosos. Microbiológicamente, el hongo fue identificado como *Curvularia spp.*

Basados en las lesiones macroscópicas, la demostración histológica de hongos pigmentados y en el aislamiento de *Curvularia spp.*, se llegó al diagnóstico de Faeohifomicosis cutánea y subcutánea.

*Curvularia spp* es un hongo pigmentado que ha sido asociado a faeohifomicosis y micetomas eumicóticos. Los hongos causantes de faeohifomicosis son ubicuos y se aíslan de vegetales y suelo siendo infrecuentes los casos clínicos que se describen tanto en seres humanos como en animales domésticos. La mayoría de las infecciones por hongos pigmentados se asocian a la contaminación de heridas abiertas o con la implantación traumática del agente etiológico. El hallazgo histológico más interesante de este caso lo representa la observación de hongos pigmentados en el interior de folículos pilosos asociados a procesos de foliculitis/furunculosis piogranulomatosa. Esta observación pudiera indicar una vía alternativa en la invasión cutánea y subcutánea sin necesidad de un daño penetrante.

### **30.- ESTUDIO DE UN CASO DE ALTERACIÓN CARDÍACA ASOCIADO A LEISHMANIOSIS CANINA**

C. Mirón<sup>1</sup>, L.C. Gómez Nieto<sup>1</sup>, M. García Alonso<sup>1</sup>, I. Molano<sup>1</sup>, A. Gázquez<sup>2</sup>, E. Durán<sup>2</sup> y L. Gómez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Unidad Docente de Parasitología y Enfermedades Parasitarias. <sup>2</sup>Unidad Docente de Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. UEx.

En el presente estudio se describe un caso clínico de leishmaniosis canina con un cuadro lesional de endocarditis y miocarditis de rara presentación. Tras el estudio clínico y analítico completos, fueron diagnosticadas una posible insuficiencia renal crónica y leishmaniosis mediante biopsia ganglionar y técnica ELISA. Los resultados analíticos muestran leucocitosis, cuadro anémico y aumento de los niveles de urea y creatinina en sangre e intensa proteinuria. La respuesta de anticuerpos fue positiva tanto en suero como en orina y para las subclases IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>2</sub> de esta inmunoglobulina.

El animal mostró como lesiones más significativas áreas blanquecinas en ambas aurículas cardíacas, duras al corte, que parecían afectar al endocardio y zona subendocárdica, así como hemorragias renales y zonas de decoloración en la superficie de este órgano. El análisis histopatológico evidenció una endocarditis necrotizante, con depósitos de calcio junto con fenómenos de endocardiosis. En el miocardio se observaron células inflamatorias y una leve degeneración miocárdica. La ausencia de cualquier otro agente causante de lesión cardíaca nos lleva a relacionar esta lesión con la leishmaniosis.

### **31.- DETECCIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEÍNA p53 Y DEL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO BÁSICO (FGF-b) EN SARCOMAS FELINOS ASOCIADOS A VACUNAS.**

Rollán E, Nieto A, Sánchez MA

Servicio de Anatomía Patológica. Dpto. de Patología Animal II. Hospital Clínico Veterinario.

Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid.

El gen Tp53 codifica la proteína p53, cuya variante normal regula la división y promueve la apoptosis de aquellas células que tienen dañado el ADN. Más del 50% de los tumores humanos presentan mutaciones del gen Tp53. El FGF-b es un factor quimiotáctico y mitogénico para los fibroblastos. La sobre-expresión de este factor y sus receptores celulares se ha relacionado con el desarrollo de neoplasias humanas. El objetivo de este trabajo es valorar la expresión de p53 y de FGF-b en sarcomas felinos asociados a puntos de vacunación (SAV).

Hemos utilizado 30 sarcomas felinos asociados a puntos de inyección, procesados de forma rutinaria e incluidos en parafina. La detección de proteína p53 (CM1) y de FGF-b se realizó mediante la técnica de estreptoavidina-biotina-peroxidasa. La valoración de la expresión de p53 y de FGF-b se realizó mediante un índice total (+ a +++) según la intensidad de la reacción y porcentaje de células positivas.

En el 46.7% (14/30) de los SAV observamos una intensa inmunoreacción nuclear frente a la proteína p53 en la mayoría de las células tumorales. El 76.7% (23/30) de estas neoplasias presentaron sobre-expresión citoplásmica de FGF-b. En este caso la inmunotinción fue heterogénea, tanto en el número de células como en la intensidad, estando frecuentemente asociada a áreas perivasculares y periféricas de la neoplasia. Estos hechos indican que la mutación del gen Tp53 y el aumento en la síntesis de FGF-b podrían jugar un papel en el desarrollo de algunas de estas neoplasias.

### **32.- CUERNO CUTÁNEO VERDADERO EN UN CANARIO**

Garcés-Abadías, M.B., Gómez. M.A., Vázquez, F.

Histología y Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Campus de Espinardo. 30100 Murcia.  
mbelenga@um.es

Se describe un caso de verdadero cuerno cutáneo situado en la porción lateral de la región abdominal de un canario blanco de un año de edad.

La base del cuerno está constituida por laminillas de contornos irregulares, entre los cuales se encuentran espículas óseas, algunas de ellas con centro cartilaginoso. El epitelio que reviste el corion, en su porción basal presenta abundantes mitosis (índice mitótico 6.2) y en las capas medias y superficiales aparecen células con grandes núcleos ovals poco cromáticos, vesículas con un contenido grumoso reticular y basófilo, procedentes de la lisis de los queratinocitos, y una abrupta paraqueratosis en la que se observa imagen de túbulos córneos y sustancia intertubular.

Dorsalmente, el epitelio estratificado plano sufre una homogeneización acidófila provocada por la heterólisis inducida por los heterófilos, y ventralmente se pierde dando una banda acidófila gruesa.

En la zona de inserción se observa una delimitación conectiva, evidente en ciertas zonas (región ventral), acompañándose de estructuras vásculo-nerviosas. Algunas estructuras laminares se encuentran fuera de la banda conectiva. Infiltrados focales de células de estirpe linfocítica se encuentran tanto por fuera como por dentro de esa banda.



### **33.- SÍNDROME DE MUERTE SOBREAGUDA EN JIRAFAS BARINGO (*GIRAFFA CAMELOPARDALIS ROTHSCCHILD*): REVISIÓN Y CASOS CLÍNICOS.**

Martín, M.P.<sup>1,2</sup>, Quevedo, M.A.<sup>2</sup>, Aguilar, J.M.<sup>2</sup>, Arola, J.<sup>1</sup>, Mozos, E.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Dpto. de A. y Anatomía Patológica Comparadas. Facultad Veterinaria de Córdoba.

<sup>2</sup>Dpto. Técnico Veterinario del Zoo de Jerez.

Las jirafas son susceptibles a las enfermedades que afectan a los rumiantes domésticos, pero en numerosas colecciones zoológicas se ha descrito una forma de muerte súbita sin signos clínicos de enfermedad que se ha denominado "muerte sobreaguda de las jirafas"<sup>1,2</sup>.

Describimos las características clínico-patológicas de 4 jirafas Baringo machos, de 2 a 5 años de edad, cuyas muertes (ocurridas en un periodo de 5 años) se encuadran dentro del Síndrome de muerte sobreaguda.

En la necropsia, los hallazgos más destacables fueron: hidropericardio y ascitis (4/4), atrofia serosa de la grasa del surco coronario (3/4), congestión y edema pulmonar (2/4), valvulopatía crónica (1/4) y petequias en serosas digestivas (1/4). Microscópicamente se apreció, además, citolisis coagulativa de fibras musculares cardíacas y esqueléticas, microhemorragias miocárdicas, edema y hemorragias alveolares, tubulonefrosis y glomerulonefritis membranosa.

La muerte sobreaguda de las jirafas se caracteriza por la inespecificidad de las lesiones, siendo la atrofia serosa de la grasa pericárdica y la necrosis de fibras cardíacas las lesiones más constantes<sup>1,2</sup>. Nuestros resultados incluyen, como hallazgo destacable, la necrosis en fibras de músculo esquelético. Aunque no se conoce la causa primaria de la enfermedad, la causa inmediata de la muerte podría ser un shock hipovolémico o a una bradicardia colinérgica<sup>1</sup>, junto a factores predisponentes como el estrés, al que las jirafas son altamente susceptibles<sup>1,2</sup>.

#### **REFERENCIAS**

1. Fowler, M.E. (1978). Peracute mortality in captive giraffe. J. Am. Vet. Med. Assoc. 173(9): 1088-1093.
2. Clauss, M. et col. (1999). Susceptibility to cold in captive giraffe (*Giraffa camelopardalis*). Proc. Am. Assoc. Zoo Vet. 183-5.

### **34.- MULTIPLICACIÓN PRIMARIA DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY EN LA TONSILA PORCINA**

N. Alemañ\*, M.I. Quiroga, S. Vázquez, M. López-Peña, J. García, F. Guerrero\* y J.M. Nieto.

DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA ANIMAL Y \*DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA Y PRODUCCIÓN ANIMAL. FACULTAD DE VETERINARIA. UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA. 27002 LUGO.

La tonsila, junto con la mucosa de la cavidad nasal, es uno de los tejidos donde el virus de la enfermedad de Aujeszky (VEA) lleva a cabo su multiplicación primaria antes de invadir los nervios craneales e infectar el sistema nervioso central. Sin embargo, la afinidad del VEA por este órgano linfoide parece variar considerablemente entre distintas cepas víricas. En este trabajo investigamos la afinidad de la cepa patógena E-974 del VEA para infectar el tejido tonsilar porcino. Para ello utilizamos 8 cerdos sin anticuerpos frente al VEA. Siete animales fueron inoculados intranasalmente con una suspensión de la cepa E-974 y sacrificados a las 12, 24, 48 y 72 horas postinoculación (HPI). El animal no inoculado sirvió como control negativo. En la mucosa respiratoria y olfatoria se detectaron el antígeno y el ADN vírico desde las 24 HPI, mientras que en la tonsila sólo a las 72 HPI se observó un reducido número de células epiteliales y linfoides infectadas. El estudio histológico reveló una leve depleción linfoide en la tonsila a las 72 HPI asociada a un elevado número de linfocitos mostrando características apoptóticas y abundantes macrófagos conteniendo cuerpos apoptóticos fagocitados. La presencia de células apoptóticas en la tonsila fue confirmada mediante la técnica TUNEL y el estudio ultraestructural. Estos resultados indican que la cepa E-974 del VEA lleva a cabo su multiplicación primaria más eficientemente en la mucosa nasal que en la tonsila porcina y sugieren además que la multiplicación del virus en la tonsila induce apoptosis en las células linfoides.

Este trabajo ha sido financiado por un proyecto de investigación de la Xunta de Galicia (XUGA 26105B98).

## **CASOS DE DISCUSIÓN**

### **1.- ENCEFALITIS EN CORDERAS MENORES DE UN AÑO DE EDAD.**

Ferreras, M. C.; González Fernández, J.; Pérez, V.; García Iglesias, M. J.; Reyes, L. E.; Fuertes, M.; Pérez, C.; Espinosa, E.; Blas, C.\*; Blas, A.\*; García Marín, J. F.

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

\*Campa-Blas, S. L. Astorga. León.

El caso que describimos se presentó en corderas pertenecientes a una explotación intensiva de leche de aproximadamente 800 ovejas localizada en la provincia de León. Veinticinco animales, de un total de 400, cruce de Assaff, Milchschaaf y Lacaune, mostraron síntomas nerviosos a partir de los 3 meses de edad, caracterizados por ataxia del tercio posterior, progresiva a las cuatro extremidades, postración y muerte a los 15-20 días de iniciados dichos síntomas. En total se remitieron al Servicio de Diagnóstico Anatomopatológico 19 encéfalos de animales muertos con sintomatología nerviosa de edades comprendidas entre los 3-4 meses (9 animales) y 10 meses a un año. (10 animales). Las muestras, talladas sistemáticamente, se procesaron mediante técnicas histológicas convencionales y finalmente se procedió al estudio histológico. Se remiten diferentes secciones con las lesiones nerviosas más representativas.

## **2. - NEOPLASIA EN NERVIÓ ÓPTICO DE UN PERRO**

Pérez, V.; González Fernández, J.; Reyes, L. A.; Vidal, E.\*; Pumarola, M\*.; González, N.\*\*

Dpto. Patología Animal: Medicina Animal (Anatomía Patológica). Facultad de Veterinaria. Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n. 24071 León.

\*Histología i Anatomia Patològica. Facultat de Veterinaria. Universitat Autònoma de Barcelona. 08193 Bellaterra.

\*\* Clínica Veterinaria Norberto González. León.

Se recibe el globo ocular y nervio óptico (B00/493) izquierdos, extirpados a un perro macho, Golden Retriever de 5 años de edad. El animal presentó, un mes antes de la intervención, midriasis en el ojo izquierdo y un leve exoftalmos. Se le realizó un estudio radiográfico y de RMN que evidenció la existencia de una masa localizada en el nervio óptico. Las estructuras óseas vecinas no estaban afectadas. En el momento de la intervención, se apreció que dicha masa estaba bien delimitada, sin que existiera extensión hacia tejidos vecinos

Macroscópicamente, el globo ocular era morfológicamente normal mientras que el nervio óptico aparecía como un cordón grueso (aprox. 2 cm de diámetro), sólido, de color blanquecino y de contornos irregulares.

Se presentan varios cortes histológicos, teñidos con HE y con la técnica de PAS para su discusión y diagnóstico.

## LISTA DE PARTICIPANTES

Altimira i Palau Jaume LABORATORIO DE DIAGNÓSTIC HISTOPATOLÓGICO VETERINARIO HISTOVET Montserrat, 9 bx 08192 St. Quirze del Vallés	Dpto. Patología Animal II Facultad de Veterinaria Universidad Complutense Ciudad Universitaria 28040 Madrid
Badiola Díez, Juan José Anatomía Patológica Facultad De Veterinaria Universidad De Zaragoza C/Miguel Servet, 177 50013 Zaragoza	Chianini, Francesca Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona 08193 Bellaterra (Barcelona)
Balseiro Morales, Ana SERIDA-Laboratorio de Sanidad Animal Jove del Medio 33299 Gijón	De Sousa Resendes, Ana Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona 08193 Bellaterra (Barcelona)
Biescas, Esther Anatomía Patológica Facultad De Veterinaria Universidad De Zaragoza C/Miguel Servet, 177 50013 Zaragoza	Domingo Álvarez, Mariano Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona 08193 Bellaterra (Barcelona)
Bernabe Salazar, Antonio Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad de Murcia Apto. 4021 30071 Espinardo (Murcia)	Dormont, Dominique. Service de Neurovirologie Centre de Recherches du Service de Sante des Armées 92265 Fontenay aux Roses cedex, France
Borras i Murcia, Daniel CITOPAT VETERINARIA C/ Font del Remei 28-30, bx 08023 Barcelona	Durán Florez, María Ester Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad de Extremadura Ctra. de Trujillo s/n 10071 Cáceres
Carrasco Otero, Librado Anatomía Patológica Facultad De Veterinaria Universidad De Córdoba Campus De Rabanales Ctra. Madrid-Cádiz, Km 396 14071 Córdoba	Durán Navarrete, Alex Jose Anatomía Patológica Dpto. Patología Animal: Medicina Animal Facultad de Veterinaria Universidad de León Campus de Vegazana, s/n 24071 León
Carrera Obrero, David Anatomía Patológica Facultad De Veterinaria Universidad De Córdoba Campus De Rabanales Ctra. Madrid-Cádiz, Km 396 14071 Córdoba	Espinosa de los Monteros y Zayas, Antonio Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad de Las Palmas de Gran Canaria Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones 35416 Arucas (Gran Canaria)
Casalmiglia i Costa, Maria Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona 08193 Bellaterra (Barcelona)	Fernández Bellon, Hugo Manuel Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad Autónoma de Barcelona 08193 Bellaterra (Barcelona)
Castaño Rosado, María Anatomía Patológica	Fernández González, Olaxys Anatomía Patológica Facultad de Veterinaria Universidad de Extremadura Ctra. de Trujillo s/n 10071 Cáceres

Ferrer, Isidre  
Unitat de Neuropatologia  
Anatomia Patològica  
Hospital Prínceps d'Espanya (Bellvitge)  
Universitat de Barcelona

Ferrer Caubet, Lluís  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Ferreras Estrada, María  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Fondevila i Palau, Maria Dolors  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Fondati, Alessandra  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Fuertes Franco, Miguel  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Garces Abadias, Belen  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Apto. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

García Carmona, Patricia M.  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

García Fernández, Rosa Ana  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

García Iglesias, María José  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León

Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

García Marín, Juan Francisco  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

García Pariente, Carlos  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Gómez Cabrera, Serafín  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Apto. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

Gómez García, Nieves  
NEIKER  
Servicio de Investigación y Mejora Agraria  
Berreaga, 1  
48160 Derio (Bizkaia)

Gómez Gordo, Luis  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Extremadura  
Ctra. de Trujillo s/n  
10071 Cáceres

González Fernández, Jorge  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

González Huecas, Marta  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Gutiérrez Godínez, Jessica N.  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Herraez Thomas, Pedro  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Luján Lerma, Lluís  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Zaragoza  
c/Miguel Servet, 177  
50013 Zaragoza

Majó i Masferrer, Natàlia  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Marco Valle, Alberto Jesús  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Martín Hernando, Mari Paz  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Mekonnen Seyoun, Tigest  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Millan Ruíz, M<sup>a</sup> Yolanda  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Moreno Burgos, Bernardino  
NEIKER  
Servicio de Inveestigación y Mejora Agraria  
Berreaga, 1  
48160 Derio (Bizkaia)

Navarro Camara, Jose Antonio  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Aptdo. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

Nieto Martinez, Jose M<sup>a</sup>  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Santiago de Compostela  
Campus Universitario  
27002 Lugo

Nieto Ruíz de Zarate, Ana

Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Novoa Martínez, Cristina  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Mozos Mora, Elena  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Núñez Castell, Alejandro  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Ordás Bustamante, Javier  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Ordeix i Esteve, Laura  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Pallares Martínez, Francisco José  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Aptdo. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

Parodi, André Laurent  
Antomie Pathologique  
Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort  
7 Av. du Général de Gaulle  
F-94704 Maisons-Alfort Cedex

Pérez Arevalo, José  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Pérez Martínez, Claudia



Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Pérez Pérez, Valentin  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Prásović, Senad  
Veterinary Faculty  
Pathology Department  
University of Sarajevo

Puig i Martorell, Berta  
Dept.de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica  
Facultat de Medicina  
Universitat de Barcelona

Pumarola i Batlle, Martí  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Quiroga Berdeal, M<sup>a</sup> Isabel  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Santiago de Compostela  
Campus Universitario  
27002 Lugo

Quintana i Barnils, Josefina  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Rabanal i Prados, Rosa Maria  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Ramis Salva, Antonio José  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Ramírez Rivero, Gustavo Adolfo  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Reguera López, María José  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona

08193 Bellaterra (Barcelona)

Reyes Avila, Luis Ernesto  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal: Medicina Animal  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de León  
Campus de Vegazana, s/n  
24071 León

Rodríguez-Arrijoja, Gabriela Montserrat  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Rodríguez Bertos, Antonio  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Rodríguez Guisado, Francisco  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80.  
Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Rollan Landeras, Eduardo  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Rossell i Rufat, Carles  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Rovira i Bastús, Albert  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Ruiz Villamor, Eduardo  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Salguero Bodes, Francisco Javier  
Instituto Nacional de Investigación y  
Tecnología Agraria y Alimentaria  
Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación  
28130 Valdeolmos (Madrid)

Sanchez Cordon, Pedro Jose

Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Sánchez Maldonado, Belén  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense  
Ciudad Universitaria  
28040 Madrid

Sanchez Mascaraque, Carmen  
Instituto Nacional de Investigación y  
Tecnología Agraria y Alimentaria  
Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación  
28130 Valdeolmos (Madrid)

Sarradell Lusardi Javier  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Segalés i Coma, Joaquim  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Serafin i Canals, Anna  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Seva Alcaraz, Juan  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Apto. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

Sibila i Vidal, Marina  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Sierra Plana, Miguel Angel  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Córdoba  
Campus de Rabanales  
Ctra. Madrid-Cádiz, km 396  
14071 Córdoba

Sisó Llonch, Sílvia  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Vargas Vargas, M<sup>a</sup> Antonia  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Zaragoza  
c/Miguel Servet, 177  
50013 Zaragoza

Vásquez Fernández, Fernando  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia  
Apto. 4021  
30071 Espinardo (Murcia)

Vázquez Rodríguez, Sonia  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Santiago de Compostela  
Campus Universitario  
27002 Lugo

Vilafranca Comte, Miquel  
Laboratorio de Diagnóstico Histopatológico Veterinario  
HISTOVET  
Montserrat, 9 bx  
08192 St. Quirze del Vallés

Vidal Barba, Enric  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Vives i Rubio, Laia  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Acin , Cristina  
Anatomía Patológica  
Facultad De Veterinaria  
Universidad De Zaragoza  
C/Miguel Servet, 177  
50013 Zaragoza

Arbelo Hernandez, Manuel  
Anatomía Patológica  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Degollada Bastos, Eduard  
Anatomía  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Autónoma de Barcelona  
08193 Bellaterra (Barcelona)

Fernández Rodríguez, Antonio J.  
Anatomía Patológica

Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)

Garía, Pilar  
Anatomía Patológica  
Dpto. Patología Animal II  
Facultad de Veterinaria  
Universidad Complutense Madrid  
Ciudad Universitaria

Hortells, Paloma  
Anatomía Patológica  
Facultad De Veterinaria  
Universidad De Zaragoza  
C/Miguel Servet, 177  
50013 Zaragoza

Suarez del Castillo, Laura  
Facultad de Veterinaria  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria  
Autovía Bañaderos-Las Palmas, nº 80. Cardones  
35416 Arucas (Gran Canaria)