



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

**DESCRIPCIÓN DE UN CASO CLÍNICO COMPATIBLE CON
DERMATOSPARAXIS, SÍNDROME DE ELHERS-DANLOS TIPO VIIc, EN UN
BOVINO CRUZA CHAROLAIS CON HEREFORD**

Por:

María Florencia MACHADO FONTOURA

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias

Orientación: Producción Animal

MODALIDAD: Estudio de Caso

MONTEVIDEO

URUGUAY

2020

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de Grado aprobada por:

Presidente de mesa



Dra. Silvia Llambi

Segundo miembro (Tutor)

Dra. Elena Cardozo

Tercer miembro



Dr. Rodolfo Rivero

Cuarto miembro (Co tutor)



Dr. José Manuel Verdes

Quinto miembro (Co tutor)



Dr. Rody Artigas

Fecha: 22/09/2020

Autor:



Br. María Florencia Machado Fontoura

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, a quienes les debo todo; por transmitirme los valores que me han permitido llegar hasta aquí; por su inmenso esfuerzo, comprensión, confianza, apoyo y compañía de siempre.

A mis afectos que han partido antes, pero continúan en mi corazón.

A la memoria de mi abuela Zenaide, de no ser por su insistencia para que estudiara inglés, este trabajo hubiese sido muy diferente.

A mis amigas de siempre, por haber comprendido las ausencias y haber estado en las buenas y las malas.

A mi amiga que me recibió en su hogar en esta última etapa de la carrera.

A mis colegas, por haber hecho más placentero el trayecto y por la lista de anécdotas y experiencias inolvidables.

Al grupo OPA SUR 2017, por la camaradería lograda.

A mis docentes y referentes de la profesión, quienes con su ejemplo me han inspirado a dejar todo en la cancha intentando ser cada día un poquito mejor.

A la Dra. Elena Cardozo y a los Dres. Rody Artigas y José Manuel Verdes, por su tiempo, paciencia, disposición y dedicación en la tutoría de esta tesis, guiándome desde el primer día de este proceso.

A las cátedras de Patología, Genética y Clínica de rumiantes, por sus recursos prestados.

También a mi familia en calidad de propietarios del caso de estudio y a mi hermano por sus aportes como médico veterinario atendiendo el caso.

Al Dr. Carlos Schild por su ayuda.

Al personal de Biblioteca, por su amable atención y buena disposición de siempre.

A la querida Facultad de Veterinaria, por hacerme sentir en casa y permitirme concretar lo que un día empezó como un sueño...

A todos ¡muchas gracias!

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADRO Y FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	8
SUMMARY.....	8
1-INTRODUCCIÓN.....	9
2-REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1- Piel.....	10
2.2- Tejido Conjuntivo.....	14
2.3- Fibras colágenas.....	16
2.3.1- Estructura.....	17
2.3.2- Tipos.....	18
2.3.3- Funciones.....	18
2.3.4- Síntesis.....	19
2.4- Fibras reticulares.....	21
2.5- Fibras elásticas.....	21
2.6-Trastornos de la piel de origen genético.....	22
2.6.1- Epiteliogénesis imperfecta.....	23
2.6.2- Acantolisis familiar de terneros Angus.....	24
2.6.3- Epidermólisis ampollosa.....	25
2.6.4- Síndrome de Ehlers-Danlos.....	27
2.6.4.1- Dermatosparaxis.....	29
3- OBJETIVO GENERAL.....	33

4- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
5- MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
5.1- Motivo de consulta.....	34
5.2- Reseña del caso clínico.....	34
5.3- Anamnesis.....	34
5.4- Estudios paraclínicos.....	35
6- RESULTADOS.....	37
6.1- Hallazgos clínicos.....	37
6.2- Hallazgos histopatológicos.....	39
6.3- Hallazgos moleculares.....	40
7- DISCUSIÓN.....	42
8- CONCLUSIONES.....	45
9- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

	Página
Cuadro 1. Síntesis de cuatro enfermedades de piel de origen genético.....	23
Cuadro 2. Tipos y subtipos del Síndrome de Ehlers-Danlos (SED) con sus principales características.....	28
Cuadro 3. Dermatosparaxis en especies domésticas registradas en base de datos OMIA.....	29
Cuadro 4. Síntesis de principales características de la Dermatosparaxis y sus diferenciales en bovinos.....	38
Cuadro 5. Valores de cuantificación del ADN.....	40
Figura 1. Corte histológico de piel y subcutáneo.....	11
Figura 2. Corte histológico de epidermis con sus estratos.....	11
Figura 3. Corte histológico de la dermis con sus dos estratos.....	12
Figura 4. Tejido conjuntivo laxo. Corte histológico y diagrama ilustrativo.....	15
Figura 5. Cortes histológicos de tejido conjuntivo con los tres tipos de fibras.....	16
Figura 6. Ilustración de la estructura de la fibrilla colágena.....	17
Figura 7. Esquema del proceso de síntesis de las fibras colágenas.....	20
Figura 8. Fotos de Epiteliogénesis imperfecta en terneros.....	24
Figura 9. Foto de Acantolisis familiar de terneros Angus.....	25
Figura 10. Fotos de Epidermólisis ampollosa de unión en ternero.....	26
Figura 11. Foto de Dermatosparaxis en ternero raza Simmental.....	30
Figura 12. Fotos de Dermatosparaxis en ternero y ternera raza Drakensberger.....	31
Figura 13. Fotos de Dermatosparaxis en ternero raza Limousin.....	32
Figura 14. Fotos del caso clínico al nacimiento.....	34
Figura 15. Secuencia de primers (cebadores) utilizados en el PCR.....	36
Figura 16. Fotos del caso clínico a los dos días de nacido.....	37
Figura 17. Fotos del caso clínico con una semana de vida	38
Figura 18. Resultado histológico con tinción Hematoxilina-Eosina.....	39

Figura 19. Resultado histológico con tinción PAS.....	39
Figura 20. Resultado histológico con tinción Tricrómica de Masson.....	40
Figura 21. Evaluación de integridad del ADN extraído.....	41
Figura 22. Resultado de PCR.....	41

RESUMEN

En el presente trabajo se describió por primera vez en Uruguay un caso clínico compatible con Dermatosparaxis (Síndrome de Ehlers-Danlos tipo VIIc) en un ternero recién nacido, cruce (Charolais con Hereford). Esta enfermedad de herencia recesiva, se explica por una falla en la síntesis del colágeno, debido a una deficiencia de la enzima Procolágeno I N-Proteinasa (pNPI) y se manifiesta con disminución de la resistencia cutánea. El diagnóstico presuntivo se realizó en base a la anamnesis y los signos clínicos típicos de la enfermedad, como alta fragilidad y desprendimientos totales de fragmentos de piel. Para la confirmación se realizaron estudios histopatológicos mediante tinciones HE, PAS y tricrómica de Masson sobre muestras de piel del animal afectado, usando como control muestras de piel de la misma región de un animal sano de igual edad y cruce, proveniente del mismo establecimiento. Se complementó el diagnóstico con técnicas moleculares mediante la extracción de ADN, PCR y electroforesis. Finalmente, los resultados histopatológicos confirmaron compatibilidad con la enfermedad de colágeno planteada. No se pudo comprobar que la mutación fuera la misma ya descrita en bovinos. Con este reporte de caso, se aporta una actualización de un síndrome descrito mundialmente en diversas especies animales, incluyendo al humano.

SUMMARY

The present work was the first clinical case report in Uruguay, compatible with Dermatosparaxis (Ehlers-Danlos syndrome type VIIc) in a newborn crossbred calf, (Charolais x Hereford). This recessive inheritance disease is explained by a failure in the synthesis of collagen, due to a deficiency of the enzyme Procollagen I N-Proteinase (pNPI) and manifests with decreased skin resistance. The diagnosis was reached through history taking, the typical clinical signs such as high fragility and total shedding of skin fragments; histopathological studies and molecular analysis. Three staining techniques (HE, PAS and Masson's trichrome) were performed on skin samples from the affected animal, using skin samples from the same region of a normal animal with the same age and crossbreed, and of the same establishment used as control. The diagnosis was complemented with molecular techniques through DNA extraction, PCR, and electrophoresis. Finally, the histopathological results confirmed compatibility with this collagen disease, although it could not be possible to confirm that the mutation was the same described in other cases of this clinical disease in cattle. With this case report, an update of a syndrome described worldwide in various animal species including humans, is provided.

1- INTRODUCCIÓN

El Síndrome de Ehlers Danlos (SED) está constituido por un grupo de enfermedades del tejido conjuntivo, conocido en humanos y demás animales desde el siglo XVII. Inicialmente fue descrito como una anomalía del colágeno por Ehlers en Dinamarca (1901) y Danlos en Francia (1908) (Van Lauven, 1987).

En humanos se describe genética y bioquímicamente como un conjunto de desórdenes que comparten los signos clínicos de hiperextensibilidad y fragilidad de la piel e hiperlaxitud de articulaciones. Además de las afecciones en estos órganos, en algunas especies animales los pacientes presentan anomalías del tejido conjuntivo en estructuras oculares, sistemas cardiovascular, gastrointestinal y nervioso (Hegreberg, 1978; Colige y col., 1999).

Se han descrito ocho tipos y tres subtipos del síndrome, aunque los pacientes pueden presentar simultáneamente características clínicas de más de uno de ellos. En algunos ya se ha identificado la falla genética o bioquímica responsable, mientras que en otros se desconoce el defecto molecular implicado. Las alteraciones bioquímicas conocidas varían desde mutaciones en diferentes genes que codifican colágeno hasta deficiencias de varias enzimas (Minor, 1980). En algunas especies animales los desórdenes genéticos del colágeno de la piel son conocidos como Dermatosparaxis o astenia cutánea, en los que las evidencias bioquímicas lo homologan al Síndrome de Ehlers Danlos tipo VIIc en humanos (Colige y col., 1999).

El Síndrome de Ehlers Danlos tipo VIIc ha sido reportado en humanos (Smith y col., 1992), así como la Dermatosparaxis en caninos (Gething 1971; Paciello y col., 2003), gatos (Butler 1975; Patterson y Minor, 1977), ovinos (Fjølstad y Helle, 1974), bovinos (Hanset y Ansay, 1967; O'Hara y col., 1970), equinos (Bridges, 1984), visón (Hegreberg y col., 1970), conejos (Sinke y col., 1997) y búfalos (Láu, 1997), pudiendo variar la severidad de los signos clínicos entre las especies (Van Leuven, 1987). En lo que refiere al ganado bovino, se ha reportado casos en razas Holando, Hereford, Belgian Blue, Charolais, Simmental (Jayasekara y col., 1979), Drakensberger (Holm y col., 2008) y Limousin (Carty y col., 2016).

Existen algunas diferencias entre Síndrome de Ehlers Danlos tipo VIIc en humanos y los casos de Dermatosparaxis en las especies mencionadas anteriormente. Los signos clínicos en humanos se caracterizan principalmente por laxitud articular y en menor medida, por hiperextensibilidad y fragilidad de la piel, mientras que en los otros animales los problemas parecen estar restringidos a la piel (O'Hara y col., 1970).

2- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En este marco teórico se brinda información sobre la patología del caso clínico de estudio. De este modo se explica la relación entre la manifestación clínica, la alteración genética causal y sus técnicas de diagnóstico. En principio se incluye una descripción del órgano afectado, el estrato más involucrado, su principal tejido y de éste los componentes hasta llegar a la molécula de colágeno, dado que es la glicoproteína responsable de la resistencia cutánea y la principal característica afectada en el presente reporte. Luego se describen brevemente las enfermedades de piel de origen genético planteadas como diferenciales y casos clínicos similares al reporte actual.

2.1- PIEL

La piel o tegumento, forma la cubierta externa y es el órgano más grande del cuerpo ya que constituye el 15 a 20% de la masa total. Junto a sus anexos forman un órgano complejo compuesto por muchos tipos celulares diferentes. La diversidad de estas células y su capacidad de actuar en conjunto proveen una serie de funciones que le permiten al animal enfrentarse con el medio ambiente externo (Ross y Pawlina, 2012).

Algunas características de la piel, como su aspecto, color, elasticidad, grosor, irrigación, inervación y textura dependen de diversos factores, como región anatómica, edad, nutrición, estado fisiológico, especie, raza, sexo y función zootécnica, entre otras (Trigo, 2011). En el caso del bovino, el grosor varía entre las diferentes partes del cuerpo, siendo más fina en el abdomen ventral, más gruesa en el tronco dorsal y disminuye hacia las extremidades. Otra característica que varía es la elasticidad, siendo relativamente inelástica en la parte distal de las extremidades y más elástica en el tronco (Radostits y col., 2002).

La piel está formada por dos capas: la *epidermis* o capa externa y la *dermis* o capa interna (Fig. 1). Subyacente a ésta última se ubica la hipodermis, correspondiente al tejido subcutáneo que junto a la piel forman una misma unidad morfológica y funcional (Trigo, 2011). Si bien el estrato de mayor interés en este caso es la dermis, se brinda una breve descripción de epidermis e hipodermis dado que están íntimamente ligadas en estructura y función.

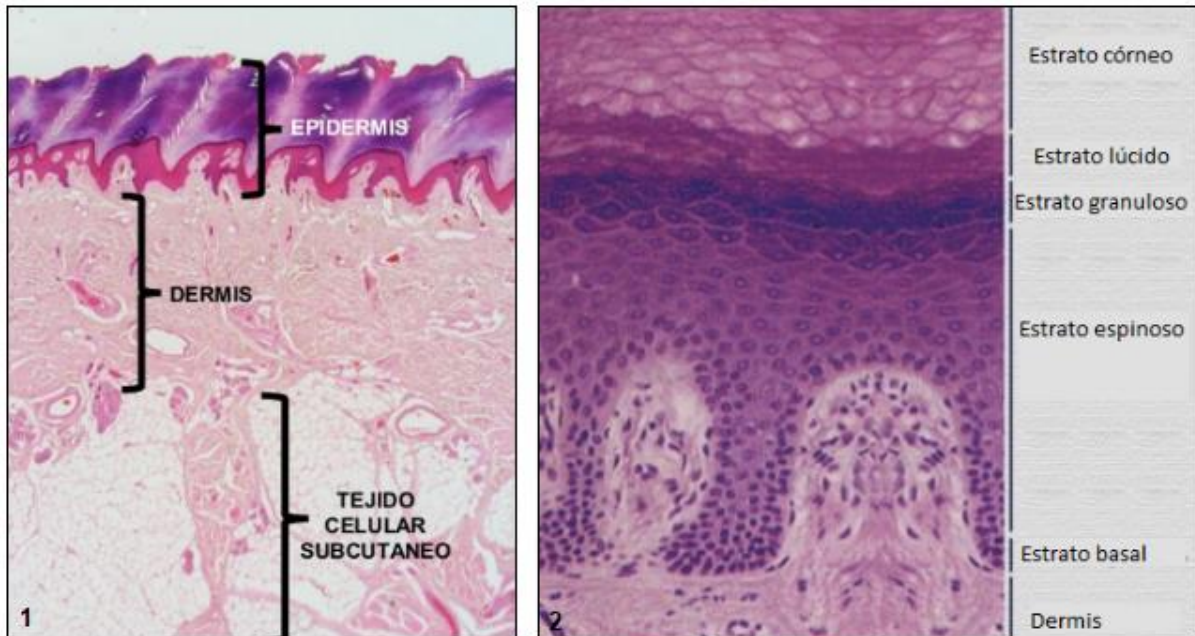


Figura 1. Corte histológico de piel y subcutáneo. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E) Recuperado de <https://es.slideshare.net/julianazapatacardona/histologia-de-la-piel-48236478>. **Figura 2.** Corte histológico de epidermis señalando sus estratos. Tinción Hematoxilina-Eosina (H-E). Recuperado de <https://www.iqb.es/dermatologia/atlas/anatomia/anatomia08.htm>.

La *Epidermis* deriva del ectodermo y presenta una serie de proyecciones dirigidas hacia la dermis, conocida como red de Malpighi. Su epitelio estratificado se compone de cinco estratos que de lo profundo a superficial son (Fig. 2):

Estrato basal: formado por una capa de células cuboidales sobre una membrana basal que separa la epidermis de la dermis. Las células basales o germinativas se desplazan hacia la superficie y reemplazan a las ya queratinizadas que se descaman de manera constante.

Estrato espinoso: compuesto por células poliédricas unidas de manera estrecha por abundantes desmosomas y su función principal es la síntesis de queratohialina (precursor de la queratina).

Estrato granuloso: formado por una o dos capas de células alargadas con granulaciones citoplasmáticas basófilas, que corresponden con el cúmulo de la queratohialina. A nivel de los folículos pilosos sus granulaciones son eosinófilas y se corresponden con la tricohialina, una proteína que junto a la queratina les aporta resistencia a la tracción.

Estrato lúcido: en área sin pelo se presenta este estrato adicional que consta de una o varias capas de células homogéneas y aplanadas repletas de queratina que forman una capa compacta.

Estrato córneo: es una barrera impermeable formada por una densa capa de escamas y queratina (Trigo, 2011).

Desde la epidermis emergen los siguientes anexos cutáneos: folículos pilosos y pelo; glándulas sudoríparas; glándulas sebáceas; uñas y glándulas mamarias (Ross y Pawlina, 2012).

La *Dermis* se divide en dos porciones: *papilar* o superficial y *reticular* o profunda (Fig. 3). La *dermis papilar* es relativamente delgada e incluye a las papilas dérmicas. Contiene vasos sanguíneos que irrigan a la epidermis sin introducirse en ella. También contiene prolongaciones nerviosas que terminan en la dermis o perforan la lámina basal para introducirse en el compartimiento epitelial. Los haces de fibras colágenas son más finos que los de la porción más profunda y predominan allí las moléculas de colágeno tipo I y III. De modo similar las fibras elásticas son filiformes y se organizan en una red irregular. En la *dermis reticular* el espesor varía en diferentes zonas de la superficie corporal, pero siempre es bastante más gruesa y contiene menos células que la dermis papilar. Esta capa profunda se caracteriza por sus gruesos haces irregulares de fibras colágenas, en su mayoría tipo I y sus fibras elásticas mucho menos delicadas. Las fibras colágenas y elásticas no están orientadas al azar, sino que forman las líneas regulares de tensión de la piel que se conocen como líneas de Langer (Ross y Pawlina, 2012).

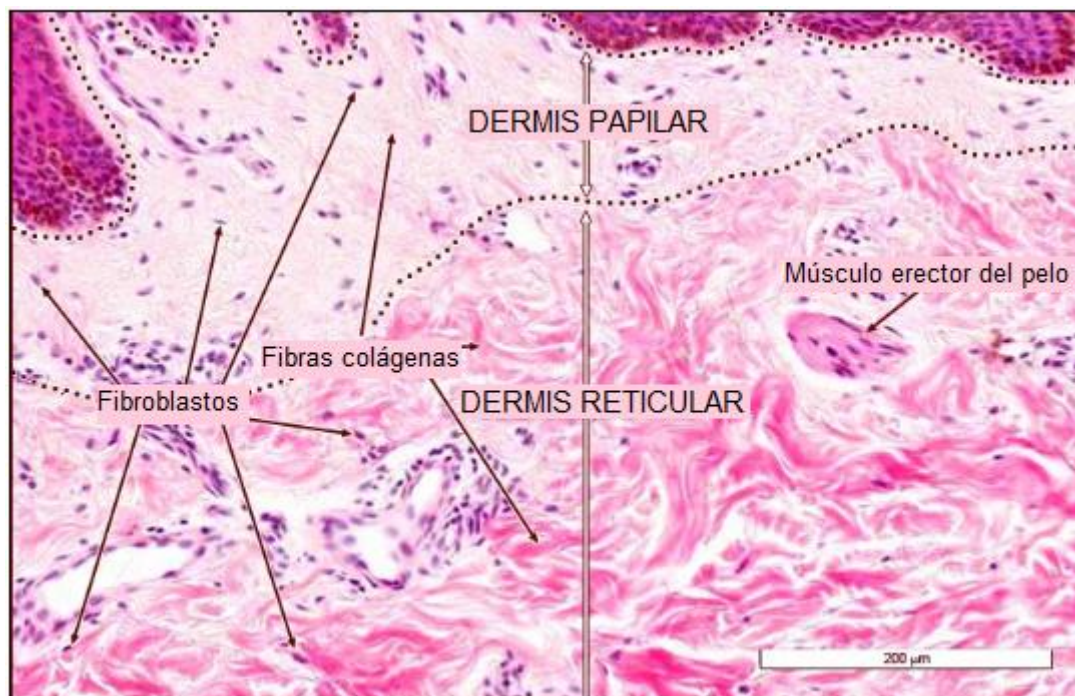


Figura 3. Corte histológico de la dermis distinguiendo sus dos estratos. Recuperado de: http://wzar.unizar.es/acad/histologia/paginas_he/01_SistTegum/PielFina_der_20etq.htm

La *hipodermis* o tejido subcutáneo comprende inmediatamente por debajo de la dermis reticular capas de tejido conjuntivo laxo, tejido adiposo, músculo liso y en

algunas zonas músculo estriado. El tejido adiposo constituye el panículo adiposo, de espesor variable que cumple funciones de almacenamiento de energía, termorregulación y soporte de la dermis y epidermis. Mientras que las capas de tejido muscular permiten la movilidad del subcutáneo (Ross y Pawlina, 2012).

La epidermis no cuenta con irrigación propia, por lo que la sangre fluye por difusión a través de la dermis. En ésta los vasos sanguíneos forman los plexos superficial, medio y profundo. El plexo superficial está situado debajo de las papilas y envía capilares a la unión dermoepidérmica. El plexo medio, se encuentra a nivel de las glándulas sebáceas y el profundo en la unión hipodérmica. Al igual que los vasos sanguíneos, los vasos linfáticos también discurren por la dermis, ubicándose los plexos linfáticos a nivel de la unión de ésta con la hipodermis (Trigo, 2011).

Los vasos sanguíneos, células mioepiteliales que rodean a las glándulas, músculos erectores, pelos y otros anexos están inervados por ramas del sistema nervioso simpático. Existe además inervación sensitiva en epidermis, folículos pilosos y terminaciones especializadas, como de Merkel-Ranvier y Meissner, Paccini, Ruffini y Krause, para tacto, presión, calor y frío, respectivamente (Trigo, 2011).

En cuanto a las *funciones*, como órgano de defensa, la piel cuenta con mecanismos de protección *físicos, inmunológicos, químicos, microbianos y sensitivos*. Dentro de los físicos, la primera barrera de protección son los pelos. Junto a la melanina de la epidermis protegen de la radiación ultravioleta; forman una cubierta externa, participan en la termorregulación y en la función sensorial si son pelos táctiles. Las células queratinizadas del estrato córneo se descaman todos los días frente a la fricción, pero son repuestas de forma continua a partir de las células de la capa basal epidérmica que se van desplazando hacia la superficie. Dichas células queratinizadas son lubricadas con una emulsión de sebo y sudor formando una barrera física impermeable al agua, que por ejemplo le permite mantener su integridad cuando permanece en sitios húmedos. A pesar de que en otras ocasiones la piel puede comportarse como una barrera semipermeable permitiendo la excreción de sustancias de deshecho a través de su gran superficie (Trigo, 2011).

Diferentes estructuras de la piel como la membrana basal, los pelos, las crestas y papilas dérmicas intervienen para que ésta no se desprenda con facilidad, aportándole *resistencia* mecánica. Por otra parte, el estrato córneo y las uniones intercelulares aportan flexibilidad a la estructura de la epidermis. De la misma forma, el colágeno y la elastina proveen resistencia y flexibilidad, además de contener al sistema vascular, anexos y nervios. Así como también el panículo absorbe la intensidad de los golpes, facilita el movimiento y contribuye al moldeamiento de la superficie de la piel (Trigo, 2011).

A los mecanismos de defensa mencionados, le siguen los mecanismos *inmunológicos* que pueden ser de dos tipos: innatos y adquiridos. Los innatos están compuestos por: macrófagos, neutrófilos, sistemas de complemento y de coagulación. Mientras que

los adquiridos se desarrollan posteriormente y se componen por las células de Langerhans en epidermis, células dendríticas en dermis, linfocitos T CD8, linfocitos citotóxicos, TCD4 h1, TCD4 h2, linfocitos B, citocinas y quimiocinas (Trigo, 2011).

También participan en la defensa las *barreras químicas* como el pH, determinado por ácidos grasos anti bacterianos presentes en el sebo y sales orgánicas y proteínas inhibitoras presentes en la emulsión del estrato córneo (Trigo, 2011).

Sobre la superficie de la piel también interviene la *barrera microbiana*, por medio de bacterias, levaduras y hongos filamentosos, que al crecer en simbiosis con el huésped impiden la colonización de microorganismos patógenos invasores (Radostits y col., 2002).

A su vez, las funciones sensitivas y motoras del sistema nervioso somático en la piel, permiten captar estímulos externos nocivos y retirar inmediatamente la zona afectada evitando un daño mayor (Trigo, 2011).

Por otra parte, la piel participa en la *termorregulación* a través del aumento o disminución del flujo de sangre a la superficie cutánea, mediante la dilatación o constricción de los vasos sanguíneos. A través de la piloerección disminuye el área expuesta a la convección con aire frío. Y además en el ganado bovino la secreción de las glándulas apocrinas protege del calor excesivo. Mientras que el panículo adiposo interviene de manera activa en la conservación de la temperatura corporal, sobre todo en temperaturas extremas (Trigo, 2011).

Otra función no menos importante de la piel es la *secreción endocrina* de vitamina D a partir de la estimulación por radiaciones solares (UVB) (Trigo, 2011).

De los dos tejidos que componen la piel: *epitelial* y *conjuntivo*, le damos prioridad al segundo por ser donde radica la enfermedad en estudio.

2.2- TEJIDO CONJUNTIVO

A diferencia de las células epiteliales, las del tejido conjuntivo están muy separadas unas de otras. Los espacios que quedan entre las células están ocupados por una sustancia producida por ellas. Esta sustancia recibe el nombre de "*sustancia intercelular*" o "*matriz extracelular*". La índole de las células y de la matriz varía según la función del tejido. En consecuencia, la subclasificación del tejido conjuntivo no sólo tiene en cuenta las células, sino también la composición y la organización de la matriz extracelular. De acuerdo a estas características se describen diferentes tipos:

El *tejido conjuntivo laxo* está estrechamente asociado con la mayor parte de los epitelios. La matriz extracelular contiene fibras colágenas de distribución laxa y abundantes células (Fig. 4). Los fibroblastos son los encargados de producir y mantener a la misma. Las células con funciones inflamatorias e inmunológicas migran desde los vasos sanguíneos. Este tejido tiene consistencia viscosa o gelatinosa y

desempeña un papel importante en la difusión de oxígeno, dióxido de carbono, sustancias nutritivas y desechos desde y hacia los vasos pequeños. El tejido conjuntivo laxo está asociado con el epitelio de las glándulas y rodea los vasos sanguíneos más pequeños. Éste tejido es el primer sitio donde los patógenos como las bacterias, que han atravesado la superficie epitelial pueden ser atacados y destruidos por las células del sistema inmunitario (Ross y Pawlina, 2012).

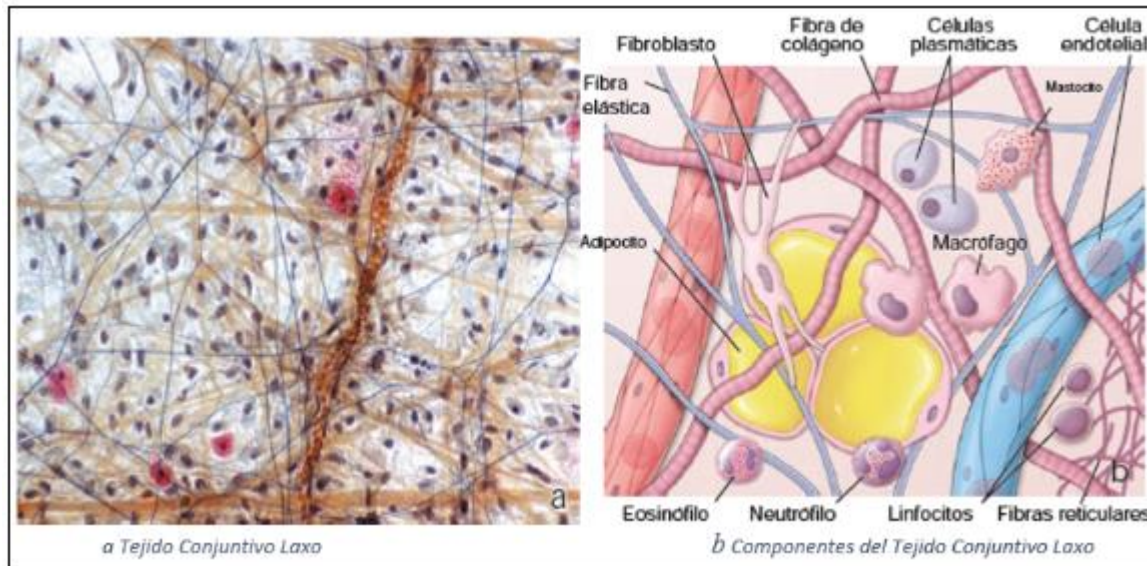


Figura 4. a) Corte histológico de tejido conjuntivo laxo y b) Diagrama de tejido conjuntivo laxo. Fuente: Ross y Pawlina, 2012.

El *tejido conjuntivo denso* se ubica en los sitios en los que se necesita resistencia. Las fibras colágenas son más abundantes y se disponen muy juntas. Las células son relativamente escasas y se limitan a la célula productora de fibras, el fibroblasto. Según la disposición de sus fibras se lo clasifica en irregular y regular:

El *tejido conjuntivo denso irregular* está presente en la capa reticular de la dermis. La disposición de sus haces de fibras orientados en direcciones diferentes provee gran resistencia y permite que el órgano soporte fuerzas de tensión y distensión sin desgarrarse (Ross y Pawlina, 2012).

El *tejido conjuntivo denso regular* se caracteriza por sus células y fibras ordenadas en haces paralelos muy juntos para proporcionar máxima resistencia. Es el principal componente funcional de los tendones, ligamentos y aponeurosis. Al igual que en el tejido conjuntivo denso irregular, las fibras son la característica prominente y hay muy poca matriz extracelular (Ross y Pawlina, 2012).

Dentro de la clasificación de tejido conjuntivo también se encuentra el *tejido conjuntivo especializado*, que agrupa a los tejidos: cartilaginoso, óseo, hematopoyético, linfático y sanguíneo, que no son desarrollados en este trabajo dado que no se vieron afectados en el caso clínico.

De lo mencionado hasta aquí se resume que la dermis, como estrato de mayor interés en este caso, está compuesta por tejido conjuntivo laxo en su región papilar y por tejido conjuntivo denso irregular en su zona reticular.

A continuación se mencionan los tres tipos de fibras que constituyen el tejido conjuntivo, haciendo hincapié en las fibras colágenas por tratarse de las afectadas en la Dermatosparaxis.

Las fibras del tejido conjuntivo se encuentran en cantidades variables según las necesidades estructurales y la función del tejido en que se ubiquen. Cada tipo de fibra es producida por los fibroblastos y se compone de proteínas de cadenas peptídicas largas. Los tipos de fibra del tejido conjuntivo son: *colágenas*, *reticulares* y *elásticas* (Fig. 5).

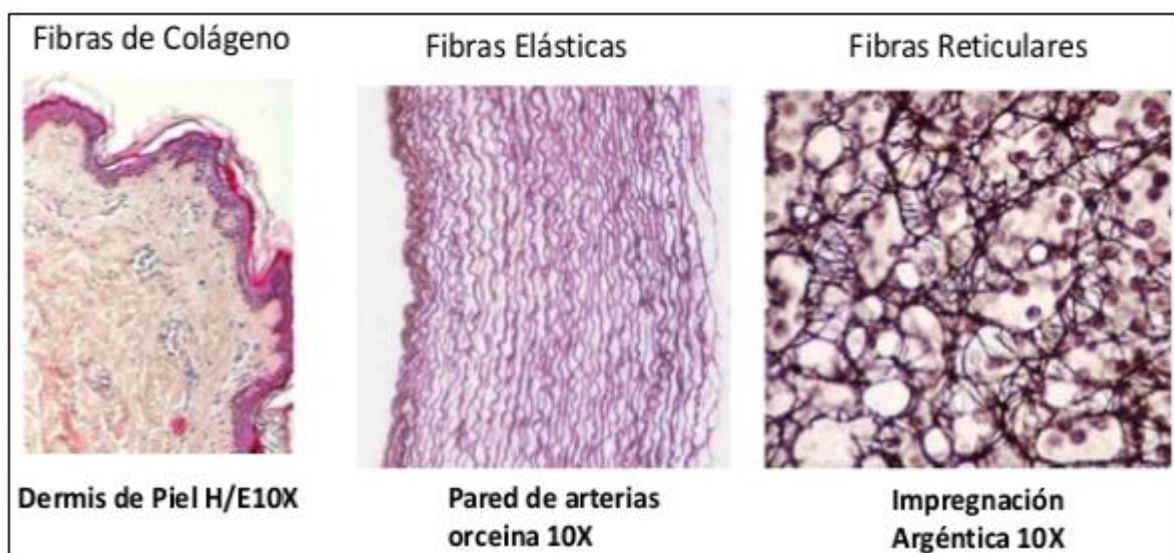


Figura 5. Cortes histológicos de diferentes tejidos con los tres tipos de fibras. Recuperado de: <http://odont.info/tejido-conectivo-i-introduccion-es-un-tejido-caracterizado-por.html>

2.3- FIBRAS COLÁGENAS

Las fibras y fibrillas colágenas son el componente estructural más abundante del tejido conjuntivo. Son flexibles y resistentes. Si se examinan con el microscopio óptico, aparecen típicamente como estructuras onduladas de espesor variable y longitud indeterminada. Se tiñen bien con la eosina y otros colorantes ácidos. También se pueden colorear con el verde luz, usado en la técnica de Masson. Con la microscopía electrónica de transmisión, las fibras colágenas aparecen como haces de subunidades filamentosas finas llamadas fibrillas colágenas. Si bien tienen un diámetro relativamente uniforme, las que deben soportar mayores tensiones tienen mayor diámetro (hasta 300 nm) (Ross y Pawlina, 2012).

2.3.1- Estructura del colágeno

La molécula de colágeno está formada por tres cadenas polipeptídicas llamadas *cadena alfa* (α). Las cadenas α se enroscan entre sí para formar una *triple hélice dextrógira* (Fig. 6). Un tercio de los aminoácidos corresponde a Glicina (hecho único en todas las proteínas del organismo), la que suele ser precedida por una hidroxiprolina o una hidroxilisina y seguida por una prolina. Junto con la prolina y la hidroxiprolina, la glicina es indispensable para la conformación en triple hélice. En asociación con la hélice, hay grupos sacáridos que están unidos a residuos hidroxilisílicos. Es por estos grupos que el colágeno se clasifica como una glicoproteína. Las cadenas α que forman la hélice no son todas iguales. Su tamaño varía entre 600 y 3000 aminoácidos. Se han identificado al menos 42 tipos de cadenas α codificadas por genes diferentes cuyos loci se encuentran en varios cromosomas distintos. Se han podido categorizar hasta veintiocho tipos de colágeno teniendo en cuenta las combinaciones de cadenas α que contienen. Estos colágenos se denominan con números romanos del I al XXVIII, de acuerdo con la cronología de su descubrimiento. Una molécula de colágeno puede ser homotrimérica (compuesta por tres cadenas α idénticas) o heterotrimérica (formada por dos o hasta tres cadenas α distintas desde el punto de vista genético). Por ejemplo, el colágeno tipo I, que se encuentra en los tejidos conjuntivos laxo y denso es heterotrimérico. Dos de las cadenas α son idénticas (α_1) y la otra es diferente (α_2) (Ross y Pawlina, 2012).

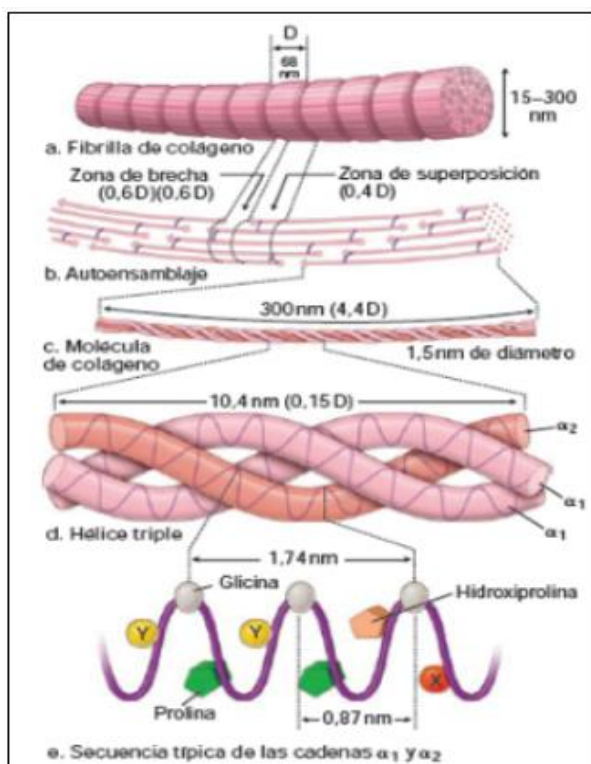


Figura 6. Ilustración de la estructura de la fibrilla colágena. Fuente: Ross y Pawlina, 2012.

2.3.2- Tipos de colágeno

El colágeno se puede dividir en diferentes clases según el tipo de fibra. Los tipos de colágeno I, III y V se alinean en fibrillas relativamente grandes; el tipo IV está dispuesto en una red de entrelazado, mientras que los tipos VI y VII forman distintas microfibrillas. El colágeno tipo XIV está dentro del grupo denominado FACIT (colágenos asociados a fibrillas con triple hélices interrumpidas), se asocia con fibras de colágeno más grandes; puede servir como puentes moleculares, importantes para la organización y estabilidad de la matriz extracelular (Wenstrup y Pinnel, 1993).

En la piel se han identificado al menos diez tipos de colágeno, de los cuales los tipos I, III y IV predominan en la dermis. El *tipo I* forma la mayor parte del colágeno de la piel y junto al *tipo III* son los principales responsables de la resistencia a la tracción de la dermis. El *tipo IV* está abundantemente presente en la membrana basal, principalmente en la lámina densa, donde forma una red en lugar de fibras (Wenstrup y Pinnel, 1993).

2.3.3- Funciones del colágeno

La principal función del colágeno en el organismo es proporcionar *resistencia* a la tracción para mantener a todos los tejidos juntos como unidades funcionales. La resistencia a la tracción es proporcionada por los efectos de los enlaces cruzados intermoleculares; las fuerzas de fricción entre fibrillas y fibras de colágeno y las interacciones físicas o químicas de colágeno con otros componentes de la matriz extracelular (Minor, 1980).

También son características funcionales del colágeno la *flexibilidad* y la *extensibilidad* en los tejidos conjuntivos. Para ello es fundamental la forma de organización de fibrillas y fibras, dado que en su estado individual son completamente inextensibles (Minor, 1980).

Otra función importante de las fibras de colágeno es *limitar el movimiento* de los demás componentes del tejido. Por ejemplo, en el cartílago, las fibras de colágeno forman una malla que atrapa los agregados de proteoglicanos y grandes cantidades de fluidos tisulares. Esto limita el movimiento de los complejos de proteoglicanos y a su vez el movimiento de los fluidos tisulares en todos los cartílagos. En consecuencia, cuando las fibrillas de colágeno se degradan o se rompen, los proteoglicanos y los fluidos tisulares se movilizan y se pierde la estructura del tejido cartilaginoso (Minor, 1980). Si bien en este ejemplo el problema no radica en la piel, está directamente ligado a una de las manifestaciones del síndrome que se presenta más adelante.

El colágeno también sirve para *inducir la agregación plaquetaria y la formación de coágulos*. Al mismo tiempo, las fibras de colágeno sirven para inmovilizar y limitar el movimiento de sustancias desde un foco inflamatorio. De este modo, si se degrada el

colágeno en dicho sitio, se produce la liberación de microorganismos o sustancias tóxicas que se mantenían limitadas (Minor, 1980).

En el hueso las fibrillas de colágeno sirven como *sustrato para la deposición de cristales de hidroxapatita*. Por lo tanto, la deposición y eliminación de colágeno regula el crecimiento, mantenimiento, remodelación y reparación del hueso (Minor, 1980).

Durante el desarrollo embrionario el colágeno juega un papel clave en la *regulación de la diferenciación celular*. El desarrollo vertebral se inicia con colágeno y proteoglicanos de tipo cartílago, que son sintetizados por la notocorda. El colágeno también tiene un papel en la regulación de la diferenciación de mioblastos en los músculos en desarrollo. Incluso se ha demostrado que el colágeno regula el patrón de ramificación del árbol bronquial en el pulmón en desarrollo (Minor, 1980).

Conociendo las funciones de los diferentes tipos de colágeno como los recién mencionados, podemos tener un panorama de cómo se manifiesta clínicamente cada uno de ellos cuando son afectados en alguna etapa de su síntesis o degradación. Así como también podemos comprender el porqué de las manifestaciones tan diversas y a veces combinadas, que pueden tomar las afecciones de esta glicoproteína.

Los trastornos específicos del metabolismo del colágeno pueden sobrevenir en diferentes etapas de su síntesis, por ello, expondremos a continuación el mecanismo fisiológico normal previo a describir la alteración.

2.3.4- Síntesis del colágeno

La síntesis del colágeno fibrilar (I, II, III, V y XI) comprende una serie de acontecimientos dentro del fibroblasto para la generación de *procolágeno*, el precursor de la molécula de colágeno. La formación de la fibrilla propiamente dicha ocurre fuera de la célula y comprende la actividad enzimática en la membrana plasmática para producir la molécula de colágeno, seguida por el armado de las moléculas en fibrillas en la matriz extracelular. Los pasos de la biosíntesis de casi todos los colágenos fibrilares son semejantes, pero los del colágeno tipo I son los que se han estudiado con más detalle (Fig. 7) (Ross y Pawlina, 2012).

La fase inicial de la biosíntesis es la lectura del ARN mensajero por los polirribosomas del retículo endoplasmático. A continuación, los polisomas se encargan de ensamblar los aminoácidos para formar las cadenas polipeptídicas. Estas cadenas polipeptídicas, precursoras de las cadenas α (cadenas pro α), llevan en sus extremos secuencias suplementarias de aminoácidos. Las cadenas pro α van a sufrir una hidroxilación en el retículo endoplasmático, mediante la cual un centenar de grupos peptidil prolina se transforman en hidroxiprolina y una veintena de grupos peptidil-lisina se convierten en hidroxilisina. Acto seguido, se fijan en los grupos hidroxilisina moléculas de galactosa y glucosa, mientras que en los grupos terminales de las cadenas se fijan otros glúcidos. Por último, se crean puentes disulfuro entre las

cadenas polipeptídicas, formando a la molécula de procolágeno. La molécula de procolágeno transita en vesículas por las cisternas del aparato de Golgi hasta ordenarse en un sitio localizado de la superficie celular donde ocurre la exocitosis. Allí pasa al medio extracelular, en el cual, bajo la acción de las proteasas, sufre una *escisión de los grupos N-terminal y C-terminal*. En este punto es donde actúa la enzima *Procolágeno I N-Proteinasa (pNPI)* para escindir el grupo N-terminal de la molécula de procolágeno (Ross y Pawlina, 2012). Después de esta escisión, las moléculas de colágeno se constituyen en fibras. Los grupos terminales escindidos desempeñan un papel importante en la formación de la triple hélice, ya que evitan que la formación de las fibras colágenas se realice antes de la secreción de la proteína (Prockop y Guzmán, 1981). Al mismo tiempo la célula en su superficie forma recesos para permitir que las moléculas se concentren en donde ocurrirá el armado. En estos recesos de la superficie celular, las moléculas de colágeno se alinean en hileras y se autoensamblan de modo longitudinal cabeza con cola. También se aglomeran lateralmente, escalonadas en un cuarto de molécula. Luego las moléculas de colágeno establecen enlaces cruzados entre sí por medio de uniones covalentes que se forman entre los grupos aldehídos de la lisina y de la hidroxilisina y aseguran la gran solidez de la molécula. La biogénesis del colágeno resulta en la formación de polímeros muy bien organizados que reciben el nombre de fibrillas colágenas definitivas, en un proceso conocido como *fibrilogénesis* (Ross y Pawlina, 2012).

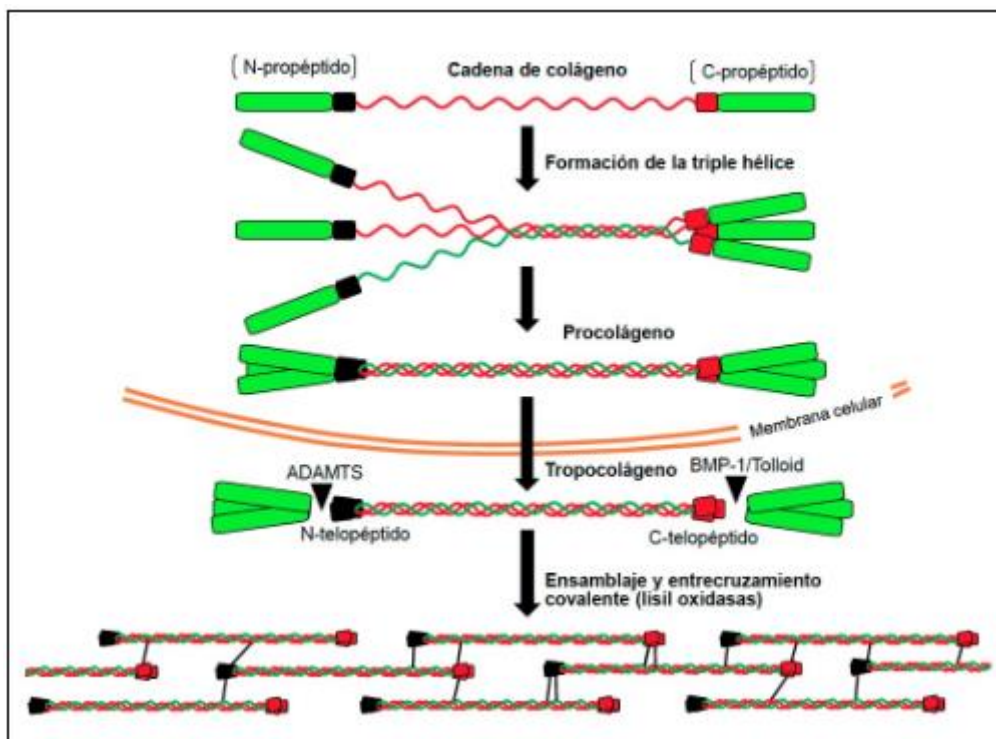


Figura 7. Esquema del proceso de síntesis de las fibras colágenas. Recuperado de <https://www.agenciasinc.es/Noticias/Nuevos-hallazgos-sobre-la-evolucion-molecular-del-colageno>

Las moléculas de colágeno son sintetizadas por las células del tejido conjuntivo y por los equivalentes de los fibroblastos en diversos tejidos, por ejemplo, condrocitos en el

cartílago, osteoblastos en el hueso, queratocitos en la córnea y pericitos en los vasos sanguíneos, para cumplir sus funciones en una gran variedad de sitios. Además, las moléculas de colágeno de la membrana basal son producidas por las células epiteliales. La síntesis del colágeno está influenciada por los factores de crecimiento, las hormonas y las citocinas. El factor de crecimiento transformante β (TGF β) y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) estimulan la síntesis de colágeno, mientras que las hormonas esteroideas (glucocorticoides) la inhiben (Ross y Pawlina, 2012).

2.4- FIBRAS RETICULARES

Las fibras reticulares se denominan así porque se organizan en redes o mallas. Proveen una armazón de sostén para los constituyentes celulares de diversos tejidos y órganos. Están compuestas por fibrillas de colágeno tipo III. Éstas exhiben un patrón de bandas transversales con una periodicidad de 68 nm (igual a las fibrillas de colágeno tipo I) y tienen un diámetro reducido (alrededor de 20 nm). En el tejido conjuntivo laxo se encuentran redes de fibras reticulares en el límite con el tejido epitelial, también alrededor de los adipocitos, los vasos sanguíneos de pequeño calibre, los nervios y las células musculares. También están en los tejidos embrionarios. La prevalencia de las fibras reticulares es un indicador de madurez del tejido. Son abundantes en las primeras etapas de la curación de las heridas y de la formación del tejido cicatrizal, en donde proveen la fuerza mecánica inicial a la matriz extracelular de síntesis reciente. Conforme progresa el desarrollo embrionario o la curación de la herida, las fibras reticulares se reemplazan gradualmente por fibras de colágeno tipo I, que son más fuertes (Ross y Pawlina, 2012).

2.5- FIBRAS ELÁSTICAS

Las fibras elásticas están formadas por dos componentes estructurales: un núcleo central de elastina y una red circundante de microfibrillas de fibrilina. Cuando no está presente esta última, la elastina se dispone formando capas laminares como en las paredes arteriales. Estas fibras permiten que los tejidos respondan al estiramiento y a la distensión. Son típicamente más delgadas que las colágenas y se organizan en un patrón ramificado para formar una red tridimensional. Están entremezcladas con las colágenas para limitar la distensibilidad del tejido y para impedir el desgarro por estiramiento excesivo. Las fibras elásticas no siempre se pueden distinguir de las fibras colágenas en los preparados de rutina coloreados con Hematoxilina-Eosina (H-E) dado que no se tiñen bien con eosina (Ross y Pawlina, 2012).

2.6- TRASTORNOS DE LA PIEL DE ORIGEN GENÉTICO

Muchas de las enfermedades genéticas descritas inicialmente en humanos, posteriormente pueden encontrarse a través de manifestaciones similares en otras

especies animales. Es por ello, que la presentación clínica de alguna de estas enfermedades en especies domésticas, en general cuenta con reportes previos de enfermedades similares en el hombre. Curiosamente, esto no ocurrió así en los casos de Dermatosparaxis, ya que esta enfermedad fue descrita originalmente en bovinos y veinte años más tarde, se confirmó su existencia en humanos (Lapière y Nusgens, 1993). A partir del estudio de estos casos en animales domésticos se pueden establecer valiosos “modelos animales” de los que se podrían extrapolar datos etiopatogénicos para la presentación de los casos de esta enfermedad en el humano, así como en otras especies afectadas, con la finalidad de dilucidar su etiología, así como potenciales tratamientos. De este modo se genera una reciprocidad de beneficios al estudiar dichas enfermedades en forma paralela.

La Dermatosparaxis según Lapière y Nusgens (1993), representa un buen ejemplo de unidad de investigación biomédica, dado que el estudio de la misma fue iniciado por veterinarios clínicos, integrado por bioquímicos y biólogos celulares con la ayuda de fisicoquímicos, y seguido por médicos para determinar la causa de la enfermedad en el humano. Esta colaboración también ha contribuido en gran medida a una mejor comprensión de los procesos fisiológicos involucrados en la síntesis del colágeno.

A continuación, se mencionan a las enfermedades diferenciales para el caso en estudio, que siguiendo el paralelismo mencionado anteriormente, mantienen el mismo nombre en bovinos y humanos. A excepción de la Epiteliogénesis imperfecta y la Dermatosparaxis que en humanos se conocen como Aplasia cutánea y Síndrome de Ehlers-Danlos (SED) tipo VIIc respectivamente. Mientras que la Acantolisis familiar de terneros Angus, se homologa en humanos bajo la denominación de Acantolisis, a un amplio grupo de síndromes y enfermedades que comparten la formación de ampollas epidérmicas. En el cuadro 1 se incluyen las referencias numéricas de las presentaciones humanas homólogas a cada enfermedad descrita en bovinos.

Cuadro 1. Síntesis de enfermedades de piel de origen genético, con sus datos correspondientes.

Enfermedad	Número OMIA*	Modo de herencia	Gen	Número OMIM**	Tipo de colágeno afectado	Estrato de piel afectado
Epiteliogénesis imperfecta	000348	AD	BMS1	107600		Ausencia de epidermis
Acantolisis familiar de terneros Angus		AR				Desmosomas entre células basales y espinosas (Epidermis)
Epidermólisis ampollosa distrófica	000340	AR	COL7A1	131705 131750 131950 132000 226500 226600	VII	Sub lámina densa (Epidermis)
Epidermólisis ampollosa simple	000340	AD	KRT5 KRT14	131900 131800 226670 131760 601001		Capa basal (Epidermis)
Epidermólisis ampollosa de unión	000340	AR	LAMC2 LAMB3 LAMA3 COL17A1	226700 226650	XVII	Lámina lúcida (Epidermis)
Dermatosparaxis	000328	AR	ADAMTS2	225410	I	Dermis

*Online Mendelian Inheritance in Animals (OMIA)

**Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)

2.6.1- EPITELIOGÉNESIS IMPERFECTA (OMIA 000348)

Es una enfermedad congénita caracterizada por zonas de ausencia de epitelio en piel y mucosa oral. Se ha descrito en bovinos, equinos y suinos, y ocasionalmente en ovinos, caninos y felinos. En el ganado bovino sigue el patrón de herencia autosómica recesiva y las razas más afectadas son Holando, Hereford, Ayrshire, Jersey, Shorthorn y Angus. Las lesiones son generalmente amplias y se extienden en zonas distales de los miembros, orejas, morro, mucosa bucal y lingual (Fig. 8). Puede estar asociada a braquignatia, atresia anal, anormalidades en dientes, aparato genitourinario y ojos. La biopsia de piel revela ausencia completa de la epidermis, de los folículos pilosos y de las glándulas en las áreas afectadas. Los fibroblastos de estos animales en cultivos de tejidos producen cantidades subnormales de colágeno y lípidos. El pronóstico depende de la extensión de la lesión, cuando es muy amplia

los animales afectados mueren a los pocos días de vida a causa de septicemia, mientras que, si los defectos son pequeños, pueden tener mayor sobrevivencia e incluso en algunos casos corregirse mediante cirugía (Dalir-Naghadeh y col., 2004).



Figura 8. Fotos de Epiteliogénesis imperfecta en terneros. a) Áreas de ausencia de epidermis en extremidades y morro. b) Ausencia de epitelio en base de lengua y paladar duro. c) Áreas de ausencia epitelial en extremidad. Fuente: Dalir-Naghadeh y col., 2004.

2.6.2- ACANTOLISIS FAMILIAR DE TERNEROS ANGUS

Este defecto hereditario se caracteriza por piel normal al nacimiento, con posterior erupción ampollosa, desprendimiento de epidermis en las articulaciones carpiana y metacarpo falangiana y corona de pezuñas, produciéndose la separación parcial de pezuñas. En la piel las ampollas progresan a úlceras y luego a costras que cubren tejido de granulación (Fig. 9), mientras que en lengua, paladar y encías suelen verse únicamente úlceras. En el borde de las lesiones cutáneas, la epidermis podría despegarse fácilmente del tejido subyacente. En otros lugares, el pelo podría arrancarse más fácilmente de lo normal, con algo de epidermis ocasionalmente unida a la base del mechón arrancado. Se debe a una deficiencia en los complejos de unión de los desmosomas, con la consecuente separación entre las células basales y espinosas de la epidermis (Jolly y col., 1973; Radostits y col., 2002).



Figura 9. Foto de Acantolisis familiar de terneros Angus. Pérdida de epidermis en articulación metatarso falangiana hacia distal incluyendo zona coronaria. Formación de costras que cubren al tejido de granulación. Fuente: Jolly y col., 1973.

2.6.3- EPIDERMÓLISIS AMPOLLOSA (OMIA 000340)

Es una enfermedad congénita también denominada Epidermólisis bullosa (EB). Se caracteriza por la formación de ampollas epidérmicas en las células basales o en distintos niveles de la membrana basal, con pérdida de la integridad epitelial y signos clínicos de diversa gravedad. Las lesiones pueden estar presentes desde el nacimiento o aparecer en las primeras semanas de vida. Son más comunes en cavidad oral, labios, puntas de orejas, morro, alrededor de los genitales, partes distales de las extremidades y a veces están acompañadas por pérdida de pezuñas. Dichas lesiones resultan de la mutación en genes que codifican proteínas estructurales del citoesqueleto de los queratinocitos, ubicados en la zona de unión entre las capas de epidermis y membrana basal. De esta forma al disminuir la estabilidad mecánica cutánea, pequeños traumas, roces o presiones desencadenan la separación entre ambas capas de piel, con la formación de vesículas y ampollas flácidas que se rompen rápidamente, dando lugar a erosiones brillantes y lisas que evolucionan a costras (Medeiros y Riet-Correa, 2015).

Según el nivel ultraestructural donde se ubique la lesión, se puede clasificar en: *epidermólisis ampollosa simple*, cuando existe citólisis de queratinocitos basales de la epidermis y hendiduras intraepidérmicas; *epidermólisis ampollosa de unión* (Fig. 10), si hay separación de la lámina lúcida de la membrana basal y *epidermólisis distrófica*, si la separación se produce entre la lámina densa y la dermis. Esta última se explica por mutaciones en el gen COL7A1, que codifica el colágeno tipo VII, un componente importante de las fibrillas de anclaje de la membrana basal. Dependiendo de la mutación, el trastorno puede seguir un modo de herencia autosómico dominante

o autosómico recesivo. Las manifestaciones pueden diferir clínicamente, pero en el período neonatal resulta imposible reconocer un patrón lesional determinado y pronosticar la gravedad del cuadro. A excepción de algunos casos de epidermólisis ampollosa simple, los demás tipos culminan en septicemia y muerte (Medeiros y col., 2012; Kumar y col., 2013; Medeiros y Riet-Correa, 2015).



Figura 10. Epidermólisis ampollosa de unión en ternero de 2 meses de edad. a) Extensas áreas de erosiones y costras, principalmente en zonas de fricción de extremidades y desungulación de todas las pezuñas. b) Vista lateral del miembro torácico que muestra desprendimiento de piel y pezuña. c) Úlceras en pilares y mucosa ruminal. Fuente: Medeiros y Riet-Correa, 2015.

La enfermedad en terneros Brangus es muy similar a la acantolisis familiar de los terneros Angus (Basset, H. 1987 citado por Radostits y col., 2002).

En Uruguay, Dutra y Baroni (2007) diagnosticaron en terneros Hereford recién nacidos, EB de tipo simple macro y microscópicamente, mientras que Kelly y col. (2010) identificaron a la mutación implicada a través de diagnóstico molecular, también en Hereford.

Si bien las dos últimas enfermedades nombradas comparten la característica de los desprendimientos de piel con la Dermatosparaxis, en estos casos la falla radica en la superficie de la misma, sin afectar dermis, como sí ocurrió en el caso clínico de estudio.

2.6.4- SÍNDROME DE ELHERS DANLOS (SED)

Este síndrome abarca a un grupo bastante heterogéneo de trastornos que comparten como característica en común, portar alguna alteración en la estructura del colágeno. A nivel molecular se describen diversos defectos, que van desde mutaciones en los genes estructurales del colágeno a mutaciones en enzimas responsables de las modificaciones del ARNm tras la transcripción. Esta heterogeneidad molecular se traduce en la expresión del SED como un cuadro clínico variable con distintos modos de herencia (Robbins y Cotran, 2010). Se lo clasifica en varios tipos y subtipos según el trastorno específico de la síntesis del colágeno (Prockop y Guzmán, 1977). En el cuadro 2 se presenta dicha clasificación y luego se centra la atención en el subtipo donde la afección del colágeno repercute principalmente en piel (Tipo VIIc).

Longo y col. (2012) comentan que el diagnóstico de este síndrome se basa en criterios clínicos ya que los análisis bioquímicos y genéticos para los defectos moleculares conocidos del SED son difíciles y prolongados de hacer rutinariamente. Por otra parte, al igual que en las demás enfermedades hereditarias del tejido conjuntivo, existe gran variabilidad de signos clínicos entre integrantes de una misma familia de portadores de la misma mutación. Por ejemplo, los pacientes que presentan múltiples fracturas óseas son difíciles de distinguir de otras enfermedades como la osteogénesis imperfecta (defecto de colágeno tipo I), lo que llevaría a un diagnóstico incorrecto si sólo estuviera basado en la clínica.

Cuadro 2. Tipos y subtipos del Síndrome de Ehlers-Danlos (SED) con sus principales características.

Tipo de SED	Hallazgos clínicos	Herencia	Defectos genéticos	Colágeno afectado
Clásico (I/II)	Hipermovilidad articular y de la piel, cicatrices atróficas, hematomas de aparición rápida	AD	COL5A1, COL5A2	Tipo V
Hipermovilidad (III)	Hipermovilidad articular, dolor, luxaciones	AD	Desconocido	(Tenascina X)
Vascular (IV)	Piel delgada, rotura arterial o uterina, hematomas, hiperextensibilidad de articulaciones pequeñas	AD	COL3A1	Tipo III
Ligado a cromosoma X (V)	Aparece en la adolescencia, piel hiperextensible, leve fragilidad de los tejidos e hiperlaxitud de articulaciones	RLX	FLNA	*
Cifoescoliosis (VI)	Hipotonía, laxitud articular, escoliosis, fragilidad ocular	AR	Lisil hidroxilasa	*
Artrocalasia (VIIa/b)	Hipermovilidad articular importante, cambios cutáneos leves, escoliosis, hematomas	AD	COL1A1, COL1A2	Tipo I
Dermatosparaxis (VIIc)	Fragilidad extrema y laxitud de la piel, hematomas	AR	ADAMTS2 (Procolágeno I N-Proteinasa)	Tipo I
Periodontal (VIII)	Periodontitis, pérdida prematura de dientes permanentes y lesiones cutáneas	*	*	*

AD= Autosómica dominante AR= Autosómica recesiva RLX= Recesiva ligada al cromosoma X

*= Se desconoce (Longo y col., 2012; Kumar y col., 2013)

2.6.4.1- DERMATOSPARAXIS (OMIA 000328)

Esta enfermedad se corresponde con el *Síndrome Ehlers Danlos tipo VIIIc*, dado que presentan la misma alteración enzimática (Colige y col., 1999). Se la ha descrito en diferentes especies domésticas (Cuadro 3) y se caracteriza por hiperextensibilidad y fragilidad en la piel de los animales afectados. En lo que refiere a bovinos, es de herencia autosómica recesiva. El colágeno de la piel de estos animales está constituido por cadenas pro α (procolágeno) en las que la prolongación amino terminal no ha sido escindida. El procolágeno disfuncional resultante en la dermis está pobremente estructurado y dispuesto de manera flexible (Pierard y Lapière, 1976). Las fibras que se sintetizan son frágiles e irregulares. En la mayoría de los casos, los animales mueren rápidamente como consecuencia de importantes desgarros cutáneos provocados por traumatismos incluso mínimos (Prockop y Guzmán, 1977).

Cuadro 3. Dermatosparaxis en especies domésticas registradas en base de datos OMIA:

Especie	OMIA	Raza	Cromosoma	Reporte
Bovinos	000328-9913	Belgian Blue	7	Colige y col., (1999)
Ovinos	000328-9940	Dorper	5	Zhou y col., (2012)
Caninos	000328-9615	Doberman Pinscher	11	Jaffey y col., (2019)
Felinos	000328-9685	Himalayan	--	Holbrook y col., (1980)

En bovinos se realizaron estudios histológicos y ultraestructurales de la Dermatosparaxis y se identificó el defecto bioquímico responsable de los signos clínicos (Sinke y col., 1997). Posteriormente, Colige y col., (1999) identificaron la mutación implicada, que se traduce en la ausencia de la enzima Procolágeno I N-Proteinasa (pNPI). Esta enzima normalmente escinde los N-propéptidos de las cadenas de procolágeno tipo $\alpha 1$ y $\alpha 2$, resultando en la formación del colágeno maduro. Cuando dicha enzima es deficiente, ocurre una acumulación de moléculas precursoras (procolágeno), que se auto ensamblan entre las fibrillas, generando fallas en la tensión y la resistencia normal del tejido.

La razón por la cual en bovinos la piel resulta más afectada que otros órganos abundantes en colágeno tipo I, como tendones, huesos y vasos sanguíneos, es que en esta especie, los N-propéptidos del procolágeno se procesan escasamente en la piel, pero se escinden más ampliamente en esos órganos (Colige y col. 1999).

Colige y col. (1999) determinaron en la raza Belgian Blue que la enfermedad es debida a una delección de diecisiete pares de bases (pb) en el inicio del segmento codificador del gen ADAMTS2, que codifica para la enzima pNPI. La mutación modifica el marco de lectura del gen produciendo una enzima truncada no funcional. Estos autores realizaron un estudio comparado entre pacientes humanos enfermos y un bovino enfermo, con el cual proporcionaron evidencia directa de que el Síndrome de Ehlers Danlos tipo VIIIc y la Dermatosparaxis resultan de mutaciones en el gen codificador para la pNPI.

Los reportes que se mencionan a continuación ayudaron en el planteo del diagnóstico presuntivo de este trabajo, debido a las semejanzas entre los casos clínicos. Además, dado a la baja prevalencia de la enfermedad, la información básicamente se restringe a lo que han reportado los autores. Jayasekara y col., (1979), informaron casos de dos terneros con defectos congénitos de piel. El primero era de raza Charolais puro recién nacido, resultado de un apareamiento de padre e hija. El primer día de vida presentó piel rasgada en zona escapular con fascia subcutánea expuesta en un área de aproximadamente 145 cm². Frente a la tracción manual moderada, la piel se rasgaba mientras que la piel intacta que rodeaba a la lesión estaba separada del tejido subcutáneo. El otro era un ternero raza Simmental de dos semanas de edad al que le faltaba un tercio de su piel y presentaba un proceso inflamatorio en musculatura y fascia involucradas (Fig. 11). La mayor parte de la piel intacta se separó de los tejidos subyacentes. La piel alrededor de párpados y mejillas era inelástica. En ambos las articulaciones de las extremidades presentaban mayor amplitud y las escleróticas tenían un tono azulado.



Figura 11. Ternero Simmental con piel desgarrada en zonas escapular y cervical. Fuente: Jayasekara y col., 1979.

Los dos terneros presentaban cambios histopatológicos similares: Se redujo el grosor epidérmico y el colágeno en la dermis estaba fragmentado, desorganizado y poco

comprimido. Se observó hiperplasia anexial con aumento del número de las glándulas sudoríparas. Éstas estaban dilatadas, dispuestas a una distancia uniforme de la epidermis y en aposición entre sí. Los conductos excretores no se asociaban con glándulas sudoríparas y la luz glandular contenía un material granular con tinción ligeramente rosada. Las secciones de la piel separada tenían diversos grados de secreción serosa a purulenta. Las fibras de colágeno de la piel y ligamentos mostraron discontinuidad, fragmentación y haces con disposición anormal cruzada en medio de las dispuestas longitudinalmente. En comparación con terneros normales, los fibroblastos cultivados de terneros enfermos contenían mucho más procolágeno. Jayasekara y col. (1979), mencionan que dicha acumulación se debería a una insuficiencia enzimática, lo que sería confirmado en estudios posteriores.

Por su parte, Holm y col. (2008), describieron la manifestación de la Dermatosparaxis en animales Drakensberger, una raza bovina nativa de Sudáfrica. En este caso, los signos clínicos se presentaron en forma más tardía. Se describieron dos casos, uno en un ternero de 6 meses y el otro en una ternera de 7 meses de edad (Fig. 12). Sus lesiones se limitaban a pérdidas de fragmentos de piel en lateral de tórax, abdomen y salientes óseas. Previo a la aparición de las lesiones, los animales no tenían inconvenientes para el crecimiento y desarrollo normal, a diferencia de los antecedentes en otras razas bovinas. Además, en comparación con éstas, los resultados histopatológicos indicaron lesiones más leves. Y en lo que refiere al estudio molecular, no se pudo comprobar que la mutación implicada en Drakensberger fuera la misma que la descrita por Colige y col. (1999) en la raza Belgian Blue. Por lo que, dadas las discrepancias clínicas, histopatológicas y moleculares, estos autores sugieren que la mutación implicada también podría ser distinta a la ya descrita en Belgian Blue.



Figura 12. Fotos de a) ternero y b) ternera raza Drakensberger con Dermatosparaxis. Ambos con ausencia de piel en área de la superficie costal izquierda. Fuente: Holm y col., 2008.

Respecto a la forma de herencia en bovinos, la endogamia ha sido responsabilizada de la enfermedad en Charolais y en Belgian Blue (Holm y col., 2008), que a su vez surge de cruzamientos de Charolais y otras razas (Felius, 1995).

Algo similar ocurrió en el primer reporte de esta enfermedad en Limousin, en terneros de padres consanguíneos (Carty y col., 2016). Se trató de dos hermanos enteros de pedigrí, macho y hembra, concebidos al mismo tiempo y gestados luego de transferencia embrionaria en dos madres receptoras (Fig. 13).

En dicho caso los signos clínicos se manifestaron desde el nacimiento de los animales afectados. Se podía observar pequeñas laceraciones cutáneas en todo el cuerpo, principalmente en zona de articulaciones y cara medial de extremidades posteriores. Los párpados tenían forma de almendra y presentaba opacidad bilateral de la córnea. La piel de ambos presentó marcada reducción en la densidad y número de fibras colágenas maduras, siendo la dermis papilar la más afectada. Las fibras restantes eran cortas, finas, pálidas, fibriladas y fragmentadas. El diagnóstico se realizó en base a los signos clínicos y los hallazgos de histología. También se replicó el análisis molecular diseñado por Colige y col. (1999) pero no se pudo comprobar en ninguno de los terneros, la presencia de la mutación previamente mencionada en el gen ADAMTS2.

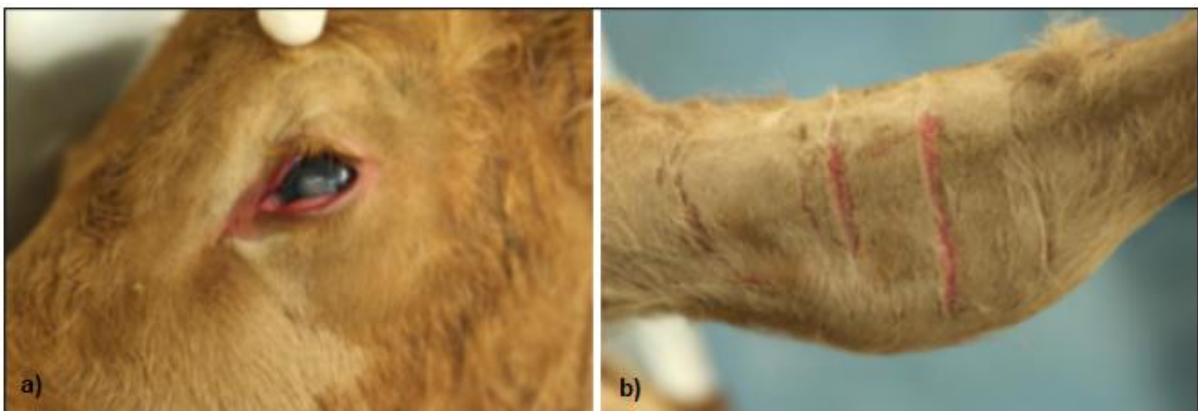


Figura 13. Fotos del ternero Limousin: a) Ojos “en forma de almendra” y opacidad de la córnea, b) Fisuras lineales en piel. Fuente: Carty y col., 2016.

3- OBJETIVO GENERAL

Presentar un caso clínico de fragilidad cutánea con desprendimiento de piel compatible con Dermatosparaxis en un bovino cruza Charolais/Hereford.

4- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a.** Describir la secuencia de estudios paraclínicos que llevan al diagnóstico etiológico de Dermatosparaxis en un ternero.
- b.** Realizar diagnóstico histopatológico de muestra de piel del ternero afectado y un control sano.
- c.** Determinar mediante técnicas moleculares, la presencia de la mutación descrita en el gen ADAMTS2 a partir de una muestra de ADN del bovino en estudio.

5- MATERIALES Y MÉTODOS

5.1- MOTIVO DE CONSULTA

Desprendimientos de piel en un ternero durante la manipulación para revisión del ombligo.

5.2- RESEÑA DEL CASO CLÍNICO

El caso de estudio fue un bovino macho, recién nacido, color amarillo cremoso (cara blanca), sin identificación interna del establecimiento, ni registro de trazabilidad. Tanto la madre (caravana de trazabilidad 12275274, múltipara) como el padre (caravana de trazabilidad 10336510) eran F1 correspondiente a la primera cruce Charolais con Hereford y no se descarta la posibilidad de consanguinidad entre ellos. En este caso, se hizo una excepción cuando se seleccionó a ese toro, ya que lo habitual en el establecimiento es seleccionar a individuos puros de cada raza. Los motivos para su selección fueron sus cualidades fenotípicas como aptitud carnífera y un carácter dócil. De este modo, el ternero en cuestión es un F2 resultante del cruzamiento de dos individuos F1. Presentaba entonces el 50% de la heterosis de sus padres.

5.3- ANAMNESIS

Nació de parto eutócico, con total integridad de los tegumentos, adoptó la estación en tiempo y forma normal, se alimentó (calostrado directo) y desplazó correctamente junto a la madre (Fig. 14).



Figura 14. Fotos del caso clínico. Ternero recién nacido junto a su madre y con total integridad de tegumentos.

El caso se reportó en el establecimiento “Sopas” (12º seccional policial), noreste del departamento de Salto, Uruguay en 2017. La finalidad productiva es la ganadería

mixta extensiva sobre campo natural con suelo de basalto superficial (dotación de 0.70 UG/há promedio anual). Se crían ovinos Romney Marsh y bovinos de razas Hereford, Charolais y sus cruza.

El rodeo total está compuesto por un plantel raza Hereford y uno raza Charolais, de los cuales se seleccionan reproductores para ser usados en el rodeo general. En este último se practican los siguientes manejos: las hembras de raza Hereford se cruzan con toros Charolais y las Charolais con toros Hereford, con la finalidad de lograr la heterosis o vigor híbrido entre ambas razas. Con las hembras de reposición nacidas de estos apareamientos (F1), se hacen “retrocruzas” alternando las dos razas originales. Los planteles están compuestos por hembras adquiridas anualmente a diversas cabañas, a las cuales se realiza inseminación artificial con semen comprado en plaza. Mientras que, en el rodeo general, una parte se destina a inseminación artificial y el resto a monta natural. Los servicios de primavera se llevan a cabo de noviembre a enero; y los de otoño, durante marzo y abril. Finalizado el servicio, los toros son retirados del rodeo y entre los 30 y 45 días posteriores se hace diagnóstico de gestación por ultrasonografía. Las pérdidas embrionarias y abortos son nulos, por lo que no se aplican vacunas reproductivas. En lo que respecta a los toros, previo al servicio se les realiza examen de aptitud reproductiva y raspajes prepuciales para el diagnóstico de enfermedades venéreas.

No hay antecedentes de caso similar en el establecimiento, en predios linderos ni zonas aledañas.

A partir del caso clínico se remitieron muestras para confirmación del diagnóstico y se registró el transcurso del caso desde el nacimiento con material fotográfico y videos.

5.4- ESTUDIOS PARACLÍNICOS

Para el estudio histopatológico, se partió de una muestra de piel tomada del pliegue de la babilla izquierda del ternero enfermo, incluyendo área del borde donde ocurrió el desgarro. Fue fijada en formol al 10% y remitida al Área Patología de la Facultad de Veterinaria. Allí se hicieron los cortes histológicos y se aplicaron las tinciones H&E (Hematoxilina-eosina), PAS (periodic acid-Schiff) y Tricrómica de Masson para observar la estructura del colágeno y demás componentes de la piel. También se realizó igual procedimiento para comparar los hallazgos con una muestra de piel control (tomada en la misma zona), proveniente de un animal sano, cruce Charolais/Hereford, de la misma edad, pero de diferentes progenitores del establecimiento ganadero de origen.

La H&E es la técnica de tinción convencional para diagnóstico histopatológico, permite visualizar a la matriz extracelular de color rosado pálido, pero no permite distinguir claramente las fibras de colágeno, por lo que se debe complementar con otras tinciones para lograr su adecuada identificación. La tinción PAS discrimina a la matriz fibrilar de color rosado tenue, de la matriz no fibrilar en colores azul y púrpura,

mientras que la Tricrómica de Masson tiñe específicamente a las fibras colágenas de color verde intenso (Megías y col., 2019).

Para el estudio de ADN se partió de una muestra de piel congelada, proveniente del ternero problema y remitida al Departamento Genética y Mejoramiento Animal de la Facultad de Veterinaria. La extracción de ADN a partir de la muestra de piel se realizó utilizando el kit comercial DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN, Hilden, Alemania) de acuerdo al protocolo del fabricante. Las muestras de ADN obtenidas fueron cuantificadas utilizando espectrofotómetro Nanodrop ND-1000 y estandarizadas a una concentración de 50ng/μL. Para detectar la presencia de la mutación descrita previamente, se amplificó por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) un fragmento de 101pb del gen ADAMTS2.

Las muestras de ADN extraídas fueron amplificadas por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) utilizando los primers (Fig. 15) descritos previamente por Colige y col. (1999). La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 20μL conteniendo 100 ng de ADN, 10mM de cada primer, 10μL de 2x Master mix (QuantiNova SYBR Green PCR Kit, Qiagen, Alemania) y agua de PCR hasta completar el volumen. Las muestras fueron amplificadas utilizando termociclador en tiempo real Corbett-Rotor gene-6000 (Plataforma de Ácidos Nucleicos LEMA-Genética) con el siguiente programa de amplificación: desnaturalización inicial a 95 °C por 1 min., seguida de 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 seg., hibridación a 56 °C por 30 seg., y extensión a 72 °C por 30 seg. Se realizó una extensión final de 72 °C por 5 min. Los amplicones obtenidos fueron visualizados en una electroforesis en gel de agarosa al 4% (UltraPure™, ThermoScientific, Estados Unidos), utilizando GoodView™ (Beijing SBS Genetech Co. Ltd., China) como tinción y Marcador de peso molecular AccuRuler 100 pb DNA RTU Ladder (MAESTROGEN).

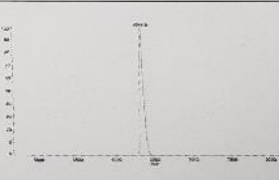
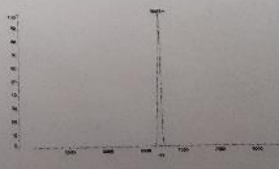
Oligo	Forward_Primer					
SEQ	5' - CAC CCG CGT GGA GCC CCT GCT - 3' (21mer)					
GC%	MW		Yield		scale (umoles)	Tm(c)
	calculated	measured	OD	nmol		
76.19	6344.2	6348.6	6.1	30.0	0.05	71.1
vol. for 100pmol/ul	Purification		Modification			
300.0	MOPC					
						
Oligo	Reverse_Primer					
SEQ	5' - CCA GCC CAT CGC AGT TGC TGA G - 3' (22mer)					
GC%	MW		Yield		scale (umoles)	Tm(c)
	calculated	measured	OD	nmol		
63.64	6696.4	6690.4	6.9	30.0	0.05	67.7
vol. for 100pmol/ul	Purification		Modification			
300.0	MOPC					
						

Figura 15. Secuencia de primers (cebadores) utilizados en el PCR.

6- RESULTADOS

6.1- HALLAZGOS CLÍNICOS

A los dos días de nacido, el ternero evidenció fragilidad exagerada de la piel, tanto frente al contacto con objetos como al tacto humano moderado. Dichos sucesos ocasionaron desprendimiento y pérdida de grandes extensiones de piel, dejando músculos descubiertos en diversas partes del cuerpo. Presentó aspecto penduloso de la piel en zonas umbilical y submandibular. Inclusive en esta última alcanzó a separarse del subcutáneo hasta desprenderse como colgajo. Además, llamó la atención la forma de los párpados, con aspecto de “ojos achinados” y el tono gris azulado de la esclerótica (Fig. 16).



Figura 16. Fotos del caso clínico a los dos días de nacido. a) Desgarro de piel submandibular, tono gris azulado de la esclerótica y párpados “achinados”, b) Pérdida de piel en miembros anteriores, babilla izquierda y cola, con exposición de tejido subyacente.

Durante el transcurso del caso, no se llevó a cabo ningún tratamiento médico ni quirúrgico. Pero dada la estación cálida favorable para el desarrollo de miasis, se optó por una sola aplicación local de antimiasico en polvo (Fig. 17).



Figuras 17. Fotos del caso clínico con una semana de vida. a) Con varias lesiones, pero sin dificultades para desplazarse junto a la madre, b) Miembro anterior derecho con bordes necróticos de piel alrededor del tejido subcutáneo descubierto.

Finalmente, a los doce días de nacido, la muerte sobrevino luego de las extensas heridas necróticas y su consecuente gangrena, sin indicios de cicatrización. No fue posible realizarle la necropsia.

A través de la anamnesis descartamos algunos diferenciales relacionados al ambiente, alimentación y sanidad y únicamente coincidieron las enfermedades de piel de origen genético. Con base en lo anteriormente expuesto y en función de los signos clínicos observados, nos planteamos los diagnósticos diferenciales que pueden verse resumidos en el cuadro 4, con características que llevaron a su descarte.

Cuadro 4. Síntesis de características principales de la Dermatosparaxis y sus diferenciales en bovinos según bibliografía mencionada.

	Epiteliogénesis imperfecta	Acantólisis familiar	Epidermólisis ampollosa	Dermatosparaxis
Características principales	Ausencia de epidermis y sus anexos al nacimiento Afectados: carpo, tarso, cavidad oral, dorsal de lengua, incorrecta oclusión de dientes Incompatible con la vida	Normal al nacimiento Desprendimiento de epidermis en carpo y tarso hasta borde coronario y pezuñas Costras cubriendo superficies sangrantes Úlceras en lengua, paladar y encía	Normal al nacimiento Formación de ampollas epidérmicas luego de leve presión Úlceras y costras posteriores	Normal al nacimiento Desprendimiento de dermis y epidermis frente a leve tensión Cualquier zona del cuerpo afectada Bordes necróticos

Por consiguiente, con la anamnesis y signos clínicos, planteamos a la Dermatosparaxis como diagnóstico presuntivo. En este caso la secuencia de estudios paraclínicos seleccionada para su confirmación, constó de la histología en primera

instancia y a partir de los resultados histopatológicos, se procedió con los análisis moleculares correspondientes.

6.2- HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

La histopatología reveló que el animal enfermo carecía de fibras colágenas en dermis, como se puede observar en las Figuras 18, 19 y 20, en comparación con la piel de un bovino sano usado como control.

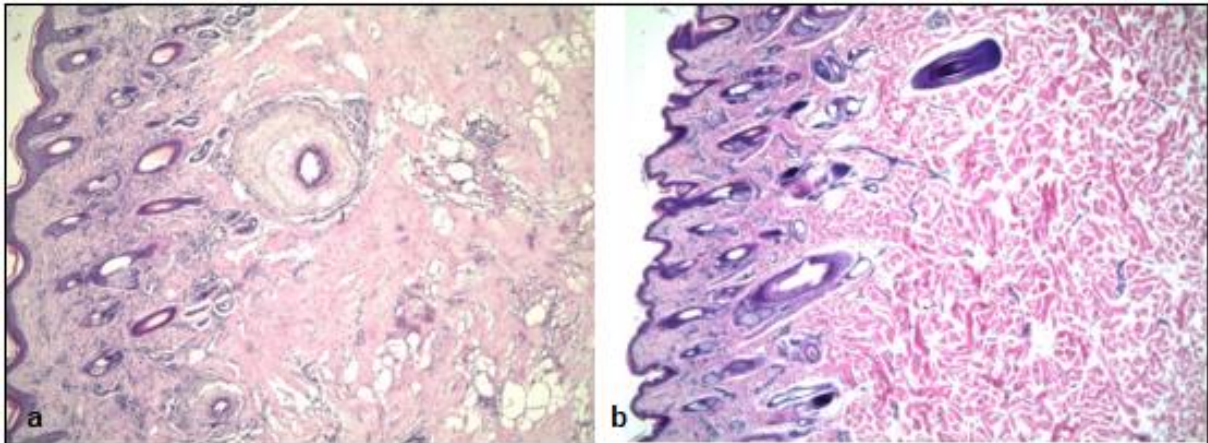


Figura 18. Cortes histopatológicos de piel con tinción H-E, 4x. a) Ternero enfermo. Detalles panorámicos de las lesiones. Nótese la ausencia de fibras de colágeno, el edema extenso del subcutáneo y la intensa infiltración inflamatoria del subcutáneo y sus anexos. b) Ternero normal. Detalles panorámicos de la piel normal. Nótese la abundancia de fibras de colágeno normales que aparecen fuertemente eosinófilas.

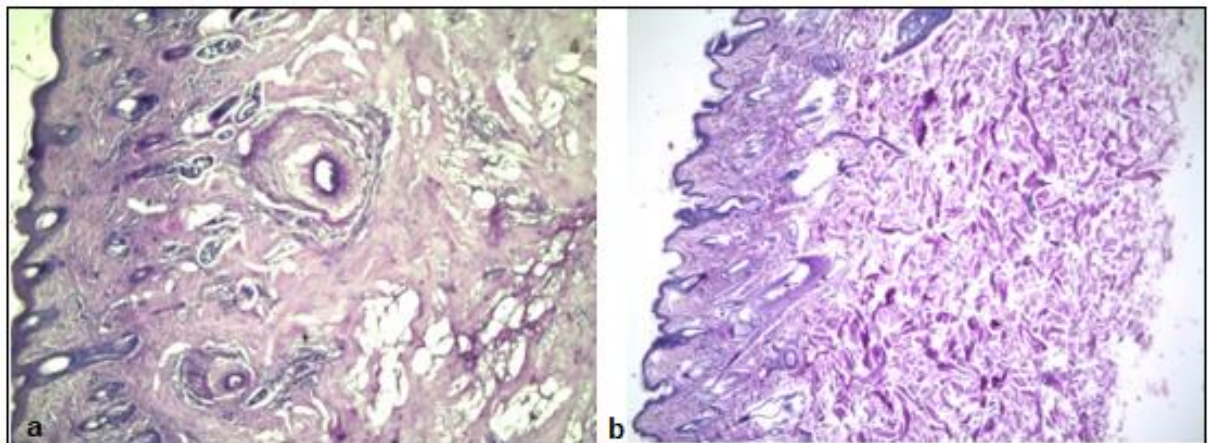


Figura 19. Cortes histológicos con tinción PAS, 4x. a) Ternero enfermo, ausencia de fibras colágenas. b) Ternero sano, fibras colágenas teñidas de color fucsia.

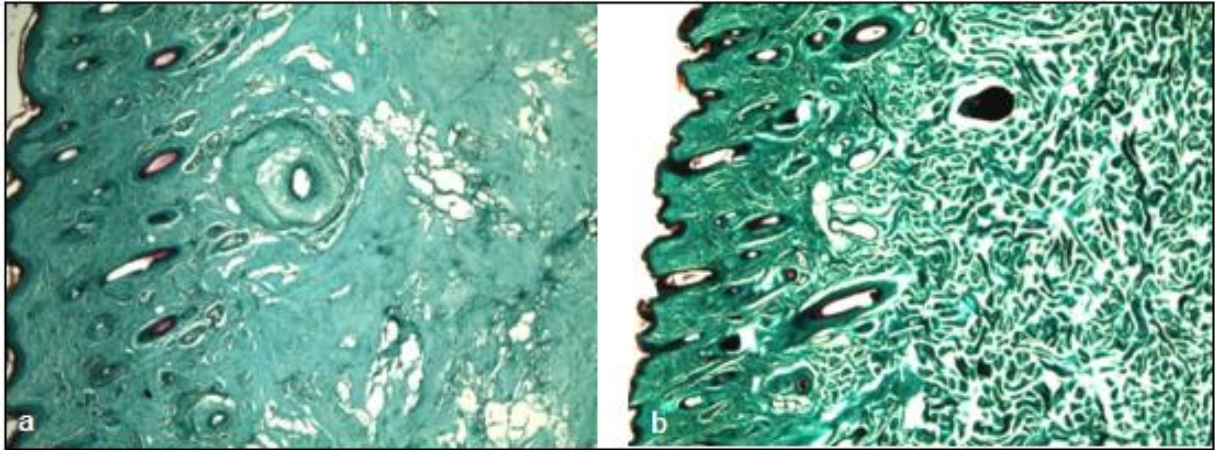


Figura 20. Cortes histopatológicos de piel con tinción tricrómica de Masson, 4x. a) Ternero enfermo, ausencia de fibras colágenas. b) Ternero sano, fibras colágenas teñidas de intenso color verde azulado.

6.3- HALLAZGOS MOLECULARES

Las tres muestras de ADN extraído se pueden visualizar en el cuadro 5 con la concentración y pureza correspondientes. Los valores del índice 260/280 próximos a 1,8 indican alto nivel de pureza del ADN obtenido.

Cuadro 5. Valores de la cuantificación de tres muestras de ADN del ternero en estudio.

Muestra	[ADN] (ng/μl)	260/280
1	115,7	1,84
2	82,2	1,86
3	105,0	1,82

Mediante electroforesis en gel de agarosa evaluamos la integridad de las cadenas de ADN extraído. En la Figura 21 se observan bandas nítidas representando ADN íntegro.

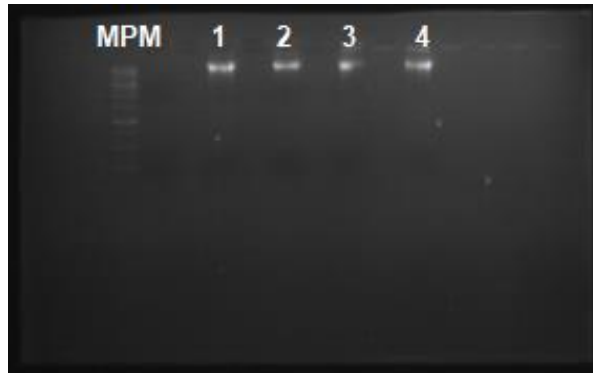


Figura 21. Electroforesis para evaluar la integridad del ADN extraído. (MPM=marcador de peso molecular; 1-4= muestras de ADN extraído). Se observan las cuatro bandas íntegras.

El PCR determinó que el ternero enfermo no portaba la mutación (delección de 17pb en ADAMTS2) descrita por Colige y col. (1999). En la Figura 22 se observa la electroforesis de las muestras del animal en estudio y de dos animales sanos usados como control.

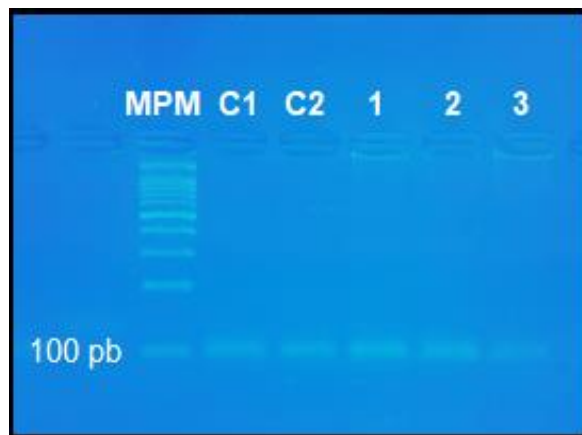


Figura 22. Resultado de PCR evaluado por electroforesis en gel de agarosa. (MPM=marcador de peso molecular AccuRuler 100 pb DNA RTU Ladder (MAESTROGEN); C1 y C2= muestras de dos bovinos sanos usadas como control; 1, 2 y 3= muestras del animal enfermo) Cada muestra de ADN se visualizó como una banda nítida correspondiente con el fragmento de 101 pb presente en bovinos sanos. Ninguno de los tres animales es portador de la mutación (fragmento de 84 pb).

7- DISCUSIÓN

En este caso los signos clínicos se asemejan a los reportados por Jayasekara y col. (1979) y Carty y col. (2016), que también fueron visualizados enseguida del nacimiento. A diferencia con el reporte de Holm y col. (2008), donde la manifestación clínica fue similar, pero se presentó luego de varios meses del nacimiento de los animales enfermos.

La fragilidad cutánea descrita en este caso se asemeja a la descrita en otras especies domésticas con *Dermatosparaxis* (Monteagudo y col. 2015; Holbrook y col. 1980; Jaffey y col. 2019) y se incluye entre los hallazgos clínicos presentados en humanos con SED tipo VIIc (Nusgens y col. 1992).

En uno de los casos reportados por Jayasekara y col. (1979) y en los de Carty y col. (2016), así como en el presente caso, no se aplicó tratamiento. Hasta el momento no se ha descrito tratamiento eficaz para *Dermatosparaxis* en rumiantes, ya que el mismo incrementa la injuria a causa de la manipulación (Jayasekara y col. 1979; Monteagudo y col. 2015), la evolución es desfavorable, las lesiones limitan la viabilidad del animal y todos los casos descritos han culminado en muerte inminente o eutanasia por motivos humanitarios, como mencionaron Prockop y Guzmán (1977). Además, durante el transcurso del presente caso, no hubo indicios de cicatrización de la piel del ternero, sino que los bordes de las heridas y tejidos circundantes tendieron a necrosarse. En este caso, al igual que en los reportes de los autores mencionados previamente, no hubo superficies sangrantes en las zonas de desgarros de piel.

En lo que refiere a los resultados histopatológicos, confirmamos la ausencia de fibras colágenas en la dermis del animal enfermo, comparándola con la piel del animal sano usado como control, procedimiento similar al realizado por Sinke y col. (1997), Sequeira y col. (1999) y Carty y col. (2016). Por el contrario, Jayasekara y col. (1979) y Carty y col. (2016) reportaron que las fibras colágenas sí estaban presentes en dermis, a pesar de su disminución de tamaño y disposición desordenada. De forma análoga a Carty y col. (2016), la tinción tricrómica de Masson acentuó la diferencia entre lo visto en el caso en estudio en comparación con lo normal. Del mismo modo, observamos como Carty y col. (2016), infiltración neutrofílica en la dermis indicando dermatitis.

Lamentablemente no se realizó la necropsia, pese a ello, Carty y col. (2016) no describen hallazgos contundentes en órganos internos, por lo que es probable que no se hubiera encontrado algo relevante además de lo ya mencionado. No obstante, Jayasekara y col. (1979) y Holm y col. (2008) no mencionan haberla realizado. Por otra parte, si se hubiese hecho necropsia se habría tomado muestras de aquellos tejidos en los que predomina el colágeno. En el presente caso, hubiera correspondido tomar muestras de la esclerótica, dado a que la misma presentaba un tono azulado, al igual que los terneros Charolais y Simmental reportados por Jayasekara y col. (1979), puesto que dicho hallazgo se debe a alteraciones estructurales de esta

glicoproteína, que disminuyen el espesor escleral y permiten que la pigmentación subyacente de la úvea se haga visible (Lora y col., 2002). Algo similar para el colágeno de la córnea que, si bien este no fue el caso, en el reporte de Carty y col. (2016) se evidenció clínicamente opacidad corneal bilateral.

Por otra parte, con los análisis moleculares no pudimos demostrar la presencia de la alteración genética buscada. De todos modos, sabemos que esto no indica la ausencia de una mutación, sino que la misma es diferente a la descrita por Colige y col. (1999) y se encuentra en otro sitio del gen ADAMTS2, tal como concluyeron previamente en sus reportes Holm y col. (2008) y Carty y col. (2016) en terneros de razas Drakensberger y Limousin respectivamente. Pudiendo entonces, existir una mayor heterogeneidad alélica a la ya conocida, así como describieron Zhou y col. (2012) y Joller y col. (2017) para ovinos Dorper en relación a otras razas. Si bien diferentes mutaciones dentro del gen ADAMTS2 son responsables del SED tipo VIIc en diferentes especies (ver citas en OMIA), no podemos descartar la presencia de mutaciones en otros genes diferentes.

Curiosamente, y dada la dificultad para identificar la mutación causante, desde que se implementaron las técnicas moleculares de diagnóstico, Colige y col. (1999) han sido los únicos en identificar la mutación, en su caso en un bovino Belgian Blue. Concordamos de este modo en que individuos de la misma especie (diferentes razas) pueden no presentar mutaciones idénticas a pesar de tener cuadros fenotípicos muy similares entre sí, tal como reportaron también Colige y col. (1999) para pacientes humanos con SED tipo VIIc. Dada la gran extensión de dicho gen y lo engorroso que resultaría estudiarlo en su totalidad por los métodos rutinarios; Longo y col. (2012) afirmaron que el diagnóstico puede únicamente basarse en los signos clínicos observados. En el presente caso, además de la anamnesis y los signos clínicos, la histopatología respalda el diagnóstico compatible con Dermatosparaxis.

Según Carty y col. (2016), la naturaleza recesiva de la herencia descrita anteriormente puede sugerir que la anomalía genética está presente en la población en un estado heterocigota y, por lo tanto, puede preservarse. Dicho caso también destaca el riesgo potencial de la diseminación rápida y generalizada de enfermedades genéticas, a causa de las tecnologías reproductivas que se han estado usando en todo el mundo. La misma inquietud habían planteado en 1967 Hanset y Ansay, al concluir que luego de la selección genética para mejorar calidad carnicera en una línea de ganado belga, se había expandido ampliamente al gen responsable de la enfermedad de extrema fragilidad de piel que llamaron Dermatosparaxis o "torn skin" (derivado del griego: piel rasgada). Carty y col. (2016) al considerar la naturaleza letal del fenotipo en cuestión, mencionaron que se puede usar la identificación del defecto genético específico, para detectar la condición en los pedigrís de los animales que se usan para mantener la reserva genética.

Dado al modo de herencia recesiva de esta enfermedad, coincidimos además con Zhou y col. (2012) en que ambos padres del animal en estudio, fenotípicamente

normales, debieron ser portadores (heterocigotas) del alelo mutante para que se pudiera manifestar el fenotipo problema (homocigota recesivo) en su descendencia. Por tanto, es probable que no fueran los únicos portadores en el rodeo, hecho que ameritaría, luego de identificada la mutación implicada, un relevamiento genético en profundidad a los animales que integran los planteles de reproductores y consiguiente seguimiento de líneas genealógicas. Hoy día la asociación encargada a nivel nacional de los registros genealógicos (ARU) se encuentra en vías de generar registros de marcadores de selección genética de cada animal inscripto. Por lo que, en un futuro no tan lejano y teniendo en cuenta lo que mencionaban Hanset y Ansay (1967), acerca de la relación entre selección y difusión de la Dermatosparaxis, se podría utilizar esa herramienta para descartar a reproductores portadores y potenciales difusores de esta enfermedad letal.

Finalmente, con los hallazgos clínicos y los resultados histopatológicos, estamos en condiciones de concluir un reporte compatible con Dermatosparaxis, sin precedentes en Uruguay, de un bovino cruce de razas Charolais y Hereford. Por lo pronto, mantenemos almacenado material genético del ternero para continuar la investigación y dejamos abierta la posibilidad de efectuar un muestreo del rodeo del predio de origen, tal como lo reportan Suregaonkar y col. (2013), para buscar otros ejemplares portadores, en este caso en dos razas de amplia distribución mundial como son Hereford y Charolais, así como sus cruces en rodeos endogámicos.

8- CONCLUSIONES

Se realizó la descripción del primer caso compatible con Dermatosparaxis en un ternero cruza en Uruguay.

Se diagnosticó histopatológicamente a través de H&E, PAS y tricrómica de Masson.

Se descartó mediante estudios moleculares que la mutación causante de este caso, fuese la previamente descrita para Dermatosparaxis en la especie bovina.

No se identificó la mutación genética causante del caso descrito.

Se compararon los hallazgos obtenidos con los descritos en la bibliografía.

9- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Butler WF (1975). Fragility of the skin of a cat. *Res Vet Sci*; 19:213-216.
2. Bridges C, McMullan W (1984). Dermatosparaxis in quarter horses. Proceedings of the 35th Annual Meeting of the American College of Veterinary Pathologists. Toronto: American College of Veterinary Pathologists, p. 12.
3. Carty CI, Lee AM, Wienandt NA, Stevens EL, Alves DA, Browne JA, Jill B, Ryan EG, Cassidy JP (2016). Dermatosparaxis in two Limousin calves. *Irish Vet J*; 69:15.
4. Colige A, Sieron AL, Li SW, Schwarze U, Petty E, Wertelecki W, Wilcox W, Krakow D, Cohn DH, Reardon W, Byers PH, Lapière CM, Prockop DJ, Nusgens BV (1999). Human Ehlers-Danlos syndrome type VII C and bovine dermatosparaxis are caused by mutations in the procollagen I N-proteinase gene. *Am J Hum Genet*; 65:308–17.
5. Counts DF, Knighten P, Hegreberg GA (1977). Biochemical changes in the skin of mink with Ehlers-Danlos syndrome; increased collagen biosynthesis in the dermis of affected mink. *J Invest Dermatol*; 69: 521-6.
6. Danlos M (1908). Un cas de cutis laxa avec tumeurs par contusion chronique des coudes et des genoux. *Bull Soc Franc Dermatol Syph*, 19: 70-72.
7. Dalir-Naghadeh B, Seifi HA, Farshid AA. (2004). Congenital Bovine Epitheliogenesis Imperfecta: A Report of Three Cases from Iran. *J. Vet. Med. A*; 51:409–412.
8. De Robertis, E. Hib, J. (2004). Fundamentos de Biología Celular y Molecular de De Robertis. 4ª ed. Buenos Aires , El Ateneo, 444p.
9. Ehlers, E (1901). Cutis laxa, Neigung zu Haemorrhagien in der Haut, Lockerung mehrerer Artickulationen. *Dermatol Z*; 8: 173-174.
10. Farreras, P.; Rozman, C.; von Domarus, A.; Cardellach, F (2012). *Medicina Interna*. 17ª ed. Barcelona, Ed. Elsevier, 3111p.
11. Felius M (1995). *Cattle Breeds, an Encyclopaedia*. Misset, Doetinchem, The Netherlands.
12. Fjølstad M, Helle O (1974) A hereditary dysplasia of collagen tissues in sheep. *J Pathol*; 112:183–8.
13. Gething MA (1971). Suspected Ehlers-Danlos syndrome in the dog. *Vet. Res*; 89: 638-641.
14. Hanset R, Ansay M (1967) Dermatoxparaxie (peau déchirée) chez le veau un défaut general du tissu conjonctif, de nature héréditaire. *Ann Med Vet*; 7: 451-470
15. Hardy MH, Fisher KRS, Vrablic OE (1988). An inherited connective tissue disease in the horse. *Lab Invest*; 59: 253-62.
16. Hegreberg GA, Padgett SA, Ott RL, Henson JB (1970). A heritable connective tissue disease of dogs and mink resembling Ehlers-Danlos syndrome of man I. Skin tensile strength properties. *J Invest Dermat*; 54:377–385.

17. Hegreberg GA (1978). The Ehlers-Danlos syndrome of animals and people. En: Slauson DO, McCullough B. Biochemical Mechanisms and Disease Processes. San Antonio, .p 217-226.
18. Holbrook, K.A., Byers, P.H., Counts, D.F., Hegreberg, G.A. Dermatosparaxis in a Himalayan cat. II. (1980). Ultrastructural studies of dermal collagen J Invest Dermat; 74:100-104.
19. Jaffey, J.A., Bullock, G., Teplin, E., Guo, J., Villani, N.A., Mhlanga Mutangadura, T., Schnabel, R.D., Cohn, L.A., Johnson, G.S. (2019). A homozygous ADAMTS2 nonsense mutation in a Doberman Pinscher dog with Ehlers Danlos syndrome and extreme skin fragility. Anim Genet; 50:543-545.
20. Joller, S., Berenguer Veiga, I., Drögemüller, C(2017) . Dermatosparaxis in White Dorper sheep: confirmation of a causative nonsense mutation in ADAMTS2. Anim Genet 48:729-730.
21. Jolly, RD., Alley, MR., O'Hara, PJ. (1973). Familial acantholysis of Angus Calves. Vet Pathol; 10: 473-483
22. Holm DE, van Wilpe E, Harper CK, Duncan NM (2008). The occurrence of dermatosparaxis in a commercial Drakensberger cattle herd in South Africa. JS Afr Vet Assoc; 79:19.
23. Jayasekara M, Leipold H, Phillips R (1979). Ehlers-Danlos Syndrome in cattle. J Anim Breed Genet; 96:100–7.
24. Kumar, V.; Abbas, A.K.; Aster, J.C (2013). Robbins: Patología humana. 9ª ed. Barcelona, Ed. Elsevier, 910 p.
25. Lapière, C.M, Nusgens, B.V (1993). Ehlers-Danlos Type VII-C, or Human Dermatosparaxis: The Offspring of a Union Between Basic and Clinical Research. Arch Dermatol; 129:1316-1319.
26. Láu H (1997) Dermatosparaxis in buffalo: a case report. Buffalo Bull; 6:46.
27. Longo, D.L.; Fauci, A.S.; Kasper, D.L.; Hauser, S.L.; Jameson, J.L.; Loscalzo, J (2012). Harrison: Principios de Medicina Interna. 18ª ed. México, Ed. McGraw Hill–Interamericana, 2081 p.
28. Lora, D., Vilca, M., Avilés, R. (2002). Síndrome de escleras azules. Anales de la Facultad de Medicina; 63: 233-240.
29. Medeiros, G.X., Riet-Correa, F., Armién, A.G., Dantas, A.F., de Galiza, G.J., Simões, S.V. (2012). Junctional epidermolysis bullosa in a calf. J Vet Diagn Invest; 24:231-4.
30. Medeiros, G.X., Riet-Correa, F. (2015). Epidermolysis bullosa in animals: a review. Vet Dermatol; 26:3-13.
31. Megías M, Molist P, Pombal MA. (2019). Atlas de histología vegetal y animal. Técnicas histológicas. Disponible en: <http://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/1-introduccion.php>. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2020.
32. Minor RR (1980). Collagen metabolism. A comparison of diseases of collagen and diseases affecting collagen. Am J Pathol; 98: 227-79.
33. Minor RR, Wootton JAM, Prockop DJ, Patterson DF (1987). Genetic diseases of connective tissues in animals. Curr Probl Derm; 17: 199-215.

34. Monteagudo, L.V., Ferrer, L.M., Catalan-Insa, E., Savva, D., McGuffin, L.J., Tejedor, M.T. (2015) In silico identification and three-dimensional modelling of the missense mutation in ADAMTS2 in a sheep flock with dermatosparaxis. *Vet Dermatol* 26:49-52.
35. Montero, C. (1997) *Manual de Técnicas de Histoquímica Básica*. San Luis Potosí, México. Disponible en: http://www.seapcongresos.com/2011/SEAP/19_mayo_jueves/Anfiteatro/08.00/Dolores_Isabel.pdf. Fecha de consulta: 18 de mayo de 2020.
36. Nusgens, B. V., Verellen-Dumoulin, C., Hermanns-Le, T., De Paepe, A., Nuytinck, L., Pierard, G. E., Lapiere, C. M. (1992). Evidence for a relationship between Ehlers-Danlos type VII C in humans and bovine dermatosparaxis. *Nature Genet.* 1: 214-217.
37. O'Hara PJ, Read WK, Romane WM, Bridges CH (1970). A collagenous tissue dysplasia of calves. *Lab Invest*; 23: 307-14.
38. OMIA-Online Mendelian Inheritance in Animals (2018). Ehlers-Danlos Syndrome, type VII (Dermatosparaxis) in *Bos Taurus*. Disponible en: www.omia.org/OMIA000328/9913/ Fecha de consulta: 11 de mayo de 2020.
39. OMIA-Online Mendelian Inheritance in Animals (2018). Osteogenesis imperfecta, type II COL1A1-related in *Bos Taurus*. Disponible en: www.omia.org/OMIA002127/9913/ Fecha de consulta: 11 de mayo de 2020.
40. OMIA-Online Mendelian Inheritance in Animals (2018). Marfan syndrome in *Bos Taurus*. Disponible en: www.omia.org/OMIA000628/9913 Fecha de consulta: 11 de mayo de 2020.
41. Paciello O, Lamagna F, Lamagna B, Papparella S (2003). Ehlers-Danlos-Like Syndrome in 2 Dogs: Clinical, Histologic, and Ultrastructural Findings. *Vet Clin Pathol*; 32:13–8.
42. Paterson D, Minor R (1977). Hereditary fragility and hyperextensibility of the skin of cats. A defect in collagen fibrillogenesis. *Lab Invest*; 37:170-179.
43. Pierard GC, Lapière CM (1976). Skin in dermatosparaxis. Dermal microarchitecture and biomechanical properties. *J Invest Dermatol*; 66:2–7.
44. Potter, K.A.; Hoffman, Y.; Sakai, L.Y.; Byers, P.H.; Besser, T.E.; Milewicz, D.M (1993). Abnormal Fibrillin metabolism in Bovine Marfan Syndrome. *Am J. Pathology*; 142: 803-810.
45. Prockop DJ, Guzmán NA (1977). Collagen disease and the biosynthesis of collagen. *Hosp. Pract.* 12: 61-68.
46. Radostits, O., Gay, C., Blood, D., Hinchcliff, K. (2002). *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9ª ed. Madrid, Ed, McGraw Hill, 2215 p.
47. Ross, M.H.; Pawlina, W (2012). *Histología. Texto y Atlas color con Biología Celular y Molecular.* 6ª ed. Buenos Aires, Ed. Médica Panamericana, 974 p.
48. Sequeira JL, Rocha NS, Bandarra EP, Figueiredo LM, Eugenio FR. (1999) Collagen dysplasia (cutaneous asthenia) in a cat. *Vet Pathol*; 36:603–6.

49. Sinke JD, Van Dijk JE, Willemse T (1997). A case of Ehlers-Danlos-like syndrome in a rabbit with a review of the disease in other species. *Vet Q*;19:182–5.
50. Smith LT, Wertelecki W, Milstone LM, Petty EM, Seashore MR, Braverman I, Jenkins TG (1992). Human dermatosparaxis: a form of Ehlers-Danlos syndrome that results from failure to remove the amino-terminal propeptide of type I procollagen. *Am J Hum Genet*; 51:235–244.
51. Suregaonkar SN, Kotikalapudi R, Patel RK, Suregaonkar PSS. (2013). Screening of cattle breeds for 17bp deletion in a gene causing Ehlers-Danlos syndrome, type VII (Dermatosparaxia). *Int J Vet Sci Med*; 2:96–8.
52. Trigo, FJ (2011). *Patología Sistémica Veterinaria*. 5ª ed. México DF, Ed. McGraw Hill, 388 p.
53. Van Leuven J (1987). Heritable collagen dysplasia in domestic animals and man: a comparative review. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*; 56: 89-99.
54. Zhou, H., Hickford, J.G., Fang, Q. (2012). A premature stop codon in the ADAMTS2 gene is likely to be responsible for dermatosparaxis in Dorper sheep. *Anim Genet*; 43:471-3.