

***Solanum Stuckertii* Bitter nueva planta tóxica causante de Calcinosis enzoótica caprina: evaluación experimental de su toxicidad**

Carlos Esteban Rossanigo *¹, Emilio Pablo Parnisari², Walter Juan Page¹, Paula Celina Frigerio², Ricardo Luis Sager¹

(¹) Laboratorio en Sanidad Animal. EEA INTA. San Luis. CC 17, (5730), Villa Mercedes (San Luis). (²) Facultad de Veterinaria, Univ. Católica de Cuyo (San Luis).

* e-mail: rossanigo.carlos@inta.gob.ar

Resumen

La calcinosis enzoótica (CE) es una patología caracterizada por la deposición de sales de calcio en tejidos blandos, que afecta a los animales en pastoreo, que se ven expuestos a la ingestión crónica de plantas con propiedades calcinogénicas. Estas plantas se componen de vitamina D y sus metabolitos (1,25-dihidroxivitamina D3 (1,25 (OH)₂ D3) o calcitriol, que aumenta la absorción intestinal de calcio. En bovinos de Argentina la intoxicación se la conoce comúnmente como "enteque seco", producida por la intoxicación de *Solanum glaucophyllum*, planta autóctona de la Cuenca del Plata pero ausente en la región semiárida central de nuestro país. Sin embargo ésta enfermedad ha sido diagnosticada con baja morbilidad pero alta letalidad, en varios casos en cabras de la zona serrana de San Luis. La recolección de plantas sospechosas de producir esta intoxicación permitió identificar ejemplares del género *Solanum stuckertii* Bitter (Ss). Ante la sospecha y la hipótesis que el Ss podría ser el causante de la CE, se llevó a cabo la reproducción experimental sobre el modelo conejo. Los hallazgos macroscópicos e histológicos post-mortem de los animales intoxicados mostraron calcificación en las grandes arterias, pulmones, riñones y piel. Se concluye que el Ss es una nueva planta tóxica para la flora de San Luis, Argentina y América. Estos resultados son los primeros reportes de que ésta maleza induce a la calcinosis enzoótica en cabras y animales experimentales.

Palabras claves: Calcinosis enzoótica, ganado caprino, *Solanum stuckertii* Bitter, reproducción experimental.

***Solanum Stuckertii* Bitter new toxic plant causing Enzootic calcinosis in goats: experimental evaluation of its toxicity**

Abstract

Enzootic calcinosis (EC) is a pathology characterized by the deposition of calcium salts in soft tissues, which affects grazing animals, which are exposed to the chronic ingestion of plants with calcinogenic properties. These plants are composed of vitamin D and its metabolites (1,25-dihydroxyvitamin D3 (1,25 (OH) 2 D3) or calcitriol, which increases the intestinal absorption of calcium. In bovines in Argentina poisoning is commonly known as "enteque seco", produced by the poisoning of *Solanum glaucophyllum*, an autochthonous plant of the Plata Basin but absent in the central semiarid region of our country. However this disease has been diagnosed in several cases in goats of the San Luis mountain area with low morbidity but high lethality. The collection of plants suspected of producing this intoxication allowed the identification of specimens of *Solanum stuckertii* Bitter (Ss). Given the suspicion and the hypothesis that the Ss could be the cause of the EC, experimental reproduction was carried out on the rabbit model. The macroscopic and histological findings of the intoxicated animals showed calcification in the great arteries, lungs, kidneys and skin. It is concluded that the Ss is a new toxic plant for the flora of San Luis, Argentina and America. These results are the first reports that this weed induces enzootic calcinosis in goats and experimental animals.

Key words: Enzootic calcinosis, goat cattle, *Solanum stuckertii* Bitter, experimental reproduction.

Parte de la información de este trabajo fue previamente presentada en formato de poster en el 18th WAVLD International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVL), 7 al 10 junio de 2017, Sorrento (Italia) y como Tesis de grado para obtener el título de Médico Veterinario de la Facultad de Veterinaria de la UCCuyo sede San Luis del tesista Parnisari E.

Introducción

La calcinosis enzoótica (CE) es una patología caracterizada por la deposición de sales de calcio en tejidos blandos, que afecta a los animales en pastoreo, en su mayoría bovinos que se ven expuestos a la ingestión crónica de plantas con propiedades calcinogénicas ¹⁻²⁻³, descrita también en ovinos ⁴, porcinos ⁵, caprinos ⁴⁻⁶, equinos ⁴⁻⁷ y búfalos ⁸.

Esta enfermedad, bien conocida en Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, ha recibido distintas denominaciones: "enteque ossificans", "bichoquera", "guata-í" (del guaraní: caminar corto), "espichamento", "espichação", y más corrientemente "enteque seco" ⁹.

Estas plantas tienen distintos metabolitos de la vitamina D (el 1,25-dihidroxitamina D₃ (1,25 (OH)₂ D₃) o calcitriol, que aumenta la absorción intestinal de calcio. Existen diferentes variedades de plantas calcinogénicas que se encuentran distribuidas a nivel mundial ⁹⁻¹⁰. Hasta el momento se han encontrado seis plantas que inducen calcinosis sistémica por intoxicación crónica: *Solanum glaucophyllum* (Sg) (synonym: *S. malacoxylon*) (vulgarmente llamado "duraznillo blanco"), *Cestrum diurnum*, *Solanum torvum*, *Trisetum flavescens*, *Nierembergia veitchii* y *Stenotaphrum secundatum* ⁹⁻¹⁰⁻¹¹. En bovinos de Argentina la intoxicación se la conoce comúnmente como "enteque seco", producida por la intoxicación de *Solanum glaucophyllum*, siendo considerado como el único agente etiológico de CE en el país. Esta planta es autóctona de la Cuenca del Plata pero ausente en la región semiárido central de nuestro país ¹¹⁻¹².

Sin embargo esta enfermedad ha sido diagnosticada con baja morbilidad pero alta letalidad, en varios casos en cabras de San Luis afectando a animales en pastoreo de zonas serranas ubicadas al norte de la provincia ¹³⁻¹⁴. Los primeros antecedentes fueron reportados por Iglesias y col. (2008) en el Departamento Chacabuco, en proximidades del faldeo de Los Comechingones con una morbilidad de cabras adultas aproximada del 12% y con una letalidad del 100% de un total de 830 animales. Años más tarde Rodríguez y col. (2013) comunican la presentación de otro caso de CE en el otoño/invierno del 2012 en un establecimiento en el paraje "Quebrada San Vicente", Departamento San Martín, en donde sobre un total de 160 animales murieron 60. En ambos casos la deposición de sales de calcio en tejidos blandos, se acompaña de un severo deterioro físico y problemas articulares.

Este publicación tiene como objetivo reportar un nuevo caso en el mismo establecimiento y determinar los efectos del *Solanum stuckertii* Bitter (Ss) Ss como presunto vegetal calcinogénico, mediante la administración de diferentes dosis de soluciones acuosas de hojas en un modelo experimental en conejos

Materiales y métodos

Caso clínico

El caso se presentó en un establecimiento caprino localizado en la Quebrada de San Vicente (Departamento San Martín) (latitud s 52° 23' y longitud oeste 23° 12') ¹⁵. El sistema era extensivo sobre pastizal natural serrano y monte, con una majada compuesta de 60 cabras y 3 machos base criolla-Anglo Nubian. Durante el 2016 se presentaron cabras con sintomatología típica de calcinosis con una morbilidad del 17% y 100% de mortalidad. Se realizaron exámenes clínicos, y necropsias a los animales afectados para la obtención de sangre y tejidos que fueron procesados para la determinación de la calcemia por espectrofotometría de absorción atómica y estudios histopatológicos.

Recolección e identificación del presunto vegetal calcinogénico

Durante la jornada de campo se recolectaron ejemplares de las principales plantas no forrajeras presentes en el establecimiento con el objetivo de reconocer algunas de ellas como posible agente etiológico de esta enfermedad, identificando a ejemplares del género *Solanum spp.* como presunto vegetal calcinogénico. La identificación taxonómica de los especímenes fue realizada en el Departamento de Ciencias Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto ¹⁶.

Reproducción experimental in vivo

Ejemplares de Ss, recolectadas en cantidad en diciembre del 2016 en el establecimiento problema, se dejaron secar sobre papel, para facilitar la pérdida de humedad. Cuando las hojas se tornaron crocantes se molieron con la mano y la ayuda de un mortero, para ser posteriormente envasadas en recipientes de plástico con tapa.

Para la intoxicación experimental se emplearon 8 conejos mestizos de ambos sexos adultos de 2 a 3 kilos de peso vivo, clínicamente sanos. Se alojaron en jaulas individuales, donde recibieron alimento balanceado comercial y agua ad libitum. Anteriormente pasaron por un período de adaptación de 30 días, para luego dar lugar al período de intoxicación

Para la intoxicación de los conejos se procedió de acuerdo con el método descrito por Gomar (2006) ¹², con pocas modificaciones. Se utilizaron tres grupos distribuidos al azar:

- *Grupo A (GA)* de 3 conejos: intoxicados con 250 mg/kg/día de *Ss*.
- *Grupo B (GB)* de 3 conejos: intoxicados con 500 mg/kg/día de *Ss*.
- *Grupo C (GC)* control o testigo de 2 conejos sin la dosis de la planta tóxica.

Los animales intoxicados recibieron diariamente un extracto acuoso de *Ss* (hojas molidas diluidas en 3 ml de agua destilada durante 24 horas), por vía oral mediante una jeringa. Los animales controles fueron manipulados de la misma manera que los experimentales, aunque sólo recibieron agua. El periodo de intoxicación se desarrolló por un lapso de 21 días, durante los cuales los grupos A y B recibieron la dosis tóxica. Posteriormente a este período, los animales que sobrevivieron fueron sacrificados mediante la inhalación de éter.

Todos los animales fueron pesados antes y durante la experiencia. Diariamente se registraba de manera individual el consumo de alimento, la presencia de diarrea, la fecha de deceso en el caso de animales muertos y cualquier otro signo que llamase la atención, especialmente en los animales intoxicados.

Previamente como posterior al periodo de intoxicación se tomaron imágenes de rayos X a todos los animales de los tres grupos utilizando un equipo de rayos Phillips Practix, modelo NR21836/00 con procesado digital. Ambas tomas fueron en posición latero-lateral y dorso-ventral con el fin de realizar una comparación entre las imágenes para determinar la presencia de calcificaciones a nivel articular y óseo.

Se tomaron muestras de sangre con la finalidad de observar los diferentes niveles de calcemia durante el procedimiento de intoxicación. Se realizaron 4 extracciones a todos los grupos con un lapso de tiempo de 7 días para cada una (día: 0, 7, 14, 21). Los conejos fueron inmovilizados por sujeción manual y la extracción de sangre se realizó de la vena safena lateral (rama craneal) de los miembros posteriores. Los valores individuales de calcio (Ca mg/%), se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica (Perkin Elmer modelo 2380) Se tomó como referencia de concentración normal de calcio en conejos sanos a los guarismo aportados por Nouaille y col., (1994)¹⁷: 10,6 a 18,6% mg/%.

De todos los animales muertos durante el ensayo y de aquellos sacrificados al finalizar el mismo se les realizó una necropsia minuciosa haciendo mayor hincapié en las lesiones calcigénicas. Se registraron individualmente las lesiones macroscópicas y se tomaron muestras de los tejidos dañados (corazón, aorta torácica y abdominal, pulmones, hígado, riñón y piel), los que fueron fijados en formol al 10%, y posteriormente incluidos en parafina. Se realizaron cortes histopatológicos coloreados con hematoxilina-eosina.

Los pesos de los animales y el consumo de alimento obtenidos en cada grupo fueron comparados estadísticamente utilizando el análisis de varianza y el test de comparación de Tukey por medio del Software estadístico Infostat/P 2013.

Resultados

Caso clínico

En la visita al establecimiento se detectó una cabra clínicamente afectada con dificultades en la locomoción con pasos rígidos y cortos en distancias muy cortas, con un avanzado estado de caquexia, pobre condición corporal, con deformaciones duras y depilación de la articulación femorotibial derecha (Figura 1) y atrofia muscular del miembro. A la necropsia se observó calcificaciones extensas de los lóbulos apicales y cardíacos de ambos pulmones (Figura 2), en los tendones y ligamentos de la articulación femorotibial y en grandes vasos (aorta ascendente y arco aórtico, aorta descendente torácica y abdominal, carótidas, arterias mesentéricas e ilíacas) (Figura 3). La superficie endotelial de todas estas arterias se presentaba rugosa y áspera. Los demás órganos sin lesiones aparentes. Se extrajo sangre del animal enfermo y se tomaron muestras de tejidos afectados para la realización de cortes histológicos.

Las lesiones histológicas de las arterias afectadas mostraban calcificaciones en la capa media y proliferación conjuntiva subendotelial. En pulmones se hallaron depósitos de calcio en forma de pequeños gránulos sobre las fibras elásticas y tabiques interalveolares. La determinación del Ca sérico reveló un valor de 18,4 mg/% (rango de referencia en caprinos 8 a 11,5 mg/%).

Recolección e identificación del presente vegetal calcinogénico

La recolección de plantas presentes al costado de arroyos y vertientes permitió identificar ejemplares del género *Solanum stuckertii* Bitter como posible agente etiológico de esta enfermedad (Figura 4).

Vulgarmente en Argentina se lo conoce con "Bolillos del perro", "Comida de víbora", "Duraznillo" o como "Hediondillo negro". En Bolivia los nombres locales "Malva" y "Pereremi grande"¹⁸. Se trata de un arbusto de 0,3-3 m de alto, con tallos moderadamente a densamente pubescentes. Sus hojas son simples con 6 o más por unidad simpodial, inflorescencia simple o bifurcada con corola estrellada blanca

(más raro violácea) y anteras generalmente amarillas elipsoides. Los frutos tienen 1-3 cm de largo, 1-3 cm de diámetro, globosos, obtuso en el ápice, glabro, de color naranja a rojizo cuando está maduro. Fenológicamente se colectan en flor desde octubre hasta mayo y con frutos en octubre hasta agosto. Se encuentra distribuido en los Andes del sur de Argentina (Catamarca, Córdoba, Jujuy, La Rioja, Salta, San Luis, Santiago del Estero y Tucumán) en forma aislada o en matorrales en claros del monte o bosques abiertos a menudo en las orillas de arroyos, en áreas relativamente secas de aproximadamente 250-2000 m. de altura ¹⁸. También se han recolectado especímenes en Bolivia en áreas bajas al este de las laderas andinas y en el bosque del Chaco ¹⁸.

Seguimiento de la clínica de los animales (Sintomatología)

Los principales signos de los animales experimentales se muestran en la tabla 1. Los animales intoxicados pertenecientes a ambos grupos mostraron signos de anorexia aproximadamente a las 12 horas del comienzo de la intoxicación. Algunos comenzaron con diarrea y astenia (decaimiento) a partir de las 24 horas post-primera intoxicación. La mayoría de los conejos de los grupos intoxicados no completaron los 21 días del ensayo debido al mal estado generalizado ocasionado por los síntomas mencionados anteriormente que le provocaron la muerte. De los tres animales del GA el N° 6 murió a la segunda semana, el N° 5 a la tercera y el N° 2 se mantuvo con vida los 21 días cuando fue eutanasiado. Del GB el conejo N° 4 murió a la primera semana, el N° 8 a la segunda semana y el N° 7 se mantuvo con vida sacrificándose el día 21 del experimento. Los animales del GC grupo control no presentaron sintomatología durante todo el transcurso del ensayo y permanecieron con vida al cabo de los 21 días de la reproducción experimental.

Todos los individuos experimentales sufrieron pérdida de peso y condición corporal notoria. En la figura 5 se observa la evolución del peso vivo promedio de cada grupo durante el transcurso del ensayo. El análisis estadístico del peso vivo demostró que el grupo control testigo ganó significativamente más peso ($p < 0,05$) a partir de la 2da semana que los grupos GA y GB intoxicados con diferentes dosis de *Ss*.

El consumo de alimento de los tres grupos experimentales se observa en la figura 6. Al cabo de los 21 días el grupo GC Testigo consumió significativamente más alimento ($p < 0,05$) que los grupos GA y GB intoxicados con *Ss*. Cabe aclarar en el consumo de los últimos cuatro días del grupo GB corresponde a la medición de un solo sobreviviente.

Toma de imágenes rayos X (Rx)

En el análisis de las imágenes radiográficas de uno de los conejos del Grupo A y dos del Grupo B, solo se observaron en ambos planos varios puntos amorfos de diferentes tamaños distribuidos en abdomen y tórax que podrían corresponder a calcificaciones de piel, ya que coinciden con las palpaciones. Los conejos del Grupo control no manifestaron cambios.

Calcemia

La figura 7 muestra la evolución de la calcemia de cada grupo estudiado. La calcemia de los grupos intoxicados aumentó luego de recibir la primera dosis del extracto acuoso de *Ss*, manteniéndose alto hasta el final del ensayo. Los valores fueron similares entre los grupos intoxicados pero estadísticamente diferente ($p < 0,05$) al grupo testigo o control.

Hallazgos macroscópicos post-mortem

A simple vista se pudo detectar, en un principio de la necropsia, la escasa grasa corporal presente en los sujetos expuestos a la administración de *Ss*. La Tabla 2 muestra las alteraciones macroscópicas halladas, indicando en cada caso, la cantidad de días que fueron expuestos a la ingestión de *Ss*.

Las lesiones de calcificaciones de piel se detectaron al tacto de la superficie corporal como pequeños engrosamientos duros de diferentes tamaños que se desplazaban con el pelaje sobre el cuerpo del animal.

En aorta se observaron focos blanquecinos compatibles con depósitos de calcio en la superficie interna, de tamaño y distribución variables, los cuales se podían visualizar desde el exterior junto a un agrandamiento que al tacto tenían una consistencia rígida. En la inspección de la superficie interna de las aortas se las encontró con sus paredes rugosas al tacto, engrosadas, con presencia de focos de asperezas, y relieves a lo largo del vaso durante la palpación (Foto 5)

En los riñones afectados se observaron depósitos blanco-grisáceos a lo largo de la profundidad de la corteza renal y en la zona limítrofe entre corteza y medula, los cuales al tacto se notaban ásperos (Foto 6).

En dos conejos de ambos grupos fue posible detectar áreas muy pequeñas de calcificación del tamaño de una cabeza de alfiler en el parénquima de los pulmones, pero nunca se observaron depósitos de calcio hígados y deformaciones articulares en los animales intoxicados. En ambos animales del Grupo C

(GC) no se observaron particularidades y se pudo establecer la comparación con los hallazgos de los conejos intoxicados (Foto 7).

Hallazgos microscópicos post-mortem (Tinción con hematoxilina y eosina)

Tanto los cortes longitudinales como transversales de la aorta torácica mostraron masiva mineralización (calcificaciones) con cristales amorfos en la capa media e íntima con fragmentación de fibras elásticas, sin proliferación de tejido conjuntivo ni inflamatorio (Foto 8).

Los riñones presentan dos zonas bien marcadas de mineralización con cristales amorfos basófilos; en corteza y en la zona de transición entre corteza y médula. En corteza los cristales se depositan principalmente sobre la cápsula de Bowman, sobre la pared de los tubos contorneados proximales con un granulado fino y en la luz de los tubos como cristales amorfos grandes y acelulares. En la transición entre corteza y médula los depósitos observados son longitudinales sobre y dentro de las asas de Henle (Foto 9).

Los cortes de piel mostraron la epidermis muy delgada con escasa presencia de queratina. En la dermis se observa abundante mineralización de cristales amorfos y de variable tamaño en proximidad y a mayor profundidad que los folículos pilosos y glándulas sebáceas. La mineralización se produce sobre las fibras conjuntivas sin generar encapsulamiento o reacción inflamatoria (Foto 10).

En los pulmones se observó depósitos minerales amorfos compatibles con calcio en la íntima de las grandes arterias de pulmón y sobre todo en las paredes alveolares destruyendo el epitelio y la estructura alveolar (Foto 11). En bronquiolos se observan depósitos de mineral en su lámina propia junto con células de descamación, condrocitos mineralizados y células gigantes multinucleadas en el epitelio bronquiolar en las áreas de calcificación (Foto 12).

No se observaron lesiones y depósitos minerales, solo una gran congestión hepática.

Discusión

El modelo conejo como animal de reproducción experimental utilizado previamente por otros autores¹²⁻¹⁹ se mostró como válido y adecuado para comprobar la toxicidad del *Solanum stuckertii* Bitter.

La pérdida de peso, la anorexia y la astenia fueron signos reportados en distintas especies afectados de CE por una numerosa cantidad de investigadores⁸⁻⁹ y también descritas en reproducciones experimentales¹²⁻¹⁹, destacando una marcada disminución de la condición corporal, que junto a la presencia de diarrea, coinciden con los síntomas observados durante esta experiencia. Según Zanuzzi (2010), los cambios en la diferenciación, proliferación y muerte celular en el intestino podrían explicar la diarrea y adelgazamiento que manifestaron los animales intoxicados.

En los conejos intoxicados se manifestaron guarismos elevados de calcio en sangre en comparación con los del grupo control. Estos elevados valores de calcemia coinciden con los valores reportados por Nouaille et al., (1994) en animales afectados por una calcificación de la aorta, mientras que la calcemia del grupo control se mantuvo dentro del rango de los valores reportados para animales sanos.

La presencia de calcificaciones de diversos tamaños en piel detectables a la palpación discrepan de las que se dieron en el ensayo de Gomar (2006) el cual no observó particularidades macroscópicas en piel, sin embargo coincide el punto de vista microscópico a través de los cortes histopatológicos con tinción hematoxilina.

La calcificación de grandes vasos como la aorta es una característica que se hace presente en los casos clínicos de CE tanto en bovinos, caprinos, como en los conejos utilizados por diferentes autores para la reproducción de la enfermedad. En el trabajo se observa la presencia de depósitos de calcio en las paredes internas de las aortas de conejos intoxicados lo que coincide con los hallazgos de otros autores⁶⁻⁹⁻¹⁰⁻¹², al igual que la descripción de la acumulación de cristales amorfos en las capas media e íntima junto a alteraciones en las fibras elásticas que se observan en los cortes teñidos con hematoxilina y eosina.

En riñones, se encontraron depósitos de color blanquecino en la corteza y en la zona de transición entre corteza y médula similares a los que se describieron en los riñones de bovinos y conejos de otros trabajos bajo el efecto de Sg³⁻¹², que al microscopio presento zonas de acumulación de cristales al igual que los conejos intoxicados con Ss.

La técnica histopatológica utilizada en los diferentes tejidos permitió probar la presencia de depósitos de cristales sin forma definida compatible con calcificaciones al igual que otros autores⁶⁻⁹⁻¹². Barros et al. (1981)²⁰ fueron los primeros en comunicar la existencia de células gigantes multinucleadas en la aortas y en los pulmones de animales intoxicados con plantas calcinogénicas. Estudios *in vitro* han demostrado que el 1,25(OH) 2D3 induce la diferenciación de monocitos a macrófagos y su posterior fusión para formar células gigantes similares a osteoclastos. En el estudio de Gomar (2006) se observaron macrófagos y células gigantes multinucleadas, principalmente en los pulmones. La presencia

de células multinucleadas, similares a los osteoclastos, obedecería a la acción de 1,25(OH) 2D3 presente en las hojas de *Sg*.

Las lesiones microscópicas encontradas en los pulmones coinciden con las observaciones realizadas en reproducciones experimentales con conejos intoxicados con *Sg*¹², tanto por las calcificaciones de vasos, paredes alveolares, bronquiolos, condrocitos mineralizados, sino también por la presentación de macrófagos y células gigantes multinucleadas en el epitelio bronquiolar en las áreas de calcificación.

No se encontraron reportes bibliográficos que describan depósitos de Ca en el hígado de los animales intoxicados como sucedió en el presente estudio.

En este trabajo no se hallaron particularidades macroscópicas que indiquen calcificación en articulaciones al igual que los otros trabajos experimentales con intoxicación de corto plazo¹², a diferencia con intoxicación naturales a largo plazo donde la osteoesclerosis y la calcificación de articulaciones, especialmente de la rodilla (articulación femorotibiorotuliana) son siempre descriptas¹³⁻¹⁴⁻¹⁵.

Las imágenes de rayos x no evidenciaron lesiones articulares, quizás debido a que la intoxicación fue de corto plazo. En los animales del Grupo control no se observaron signos y lesiones por lo que se pudo establecer la comparación con los hallazgos de los conejos intoxicados.

Luego del análisis de los resultados obtenidos en esta reproducción experimental se concluyó que el *Solanum stuckertii* Bitter es nueva planta tóxica para la flora de San Luis, Argentina y América, ya que no hay reportes en la bibliografía y que estos resultados son los primeros reportes de que esta la maleza induce a la Calcinosis enzoótica en cabras y animales experimentales. La hipótesis es comprobada debido a que los individuos intoxicados con *Solanum stuckertii* Bitter presentaron sintomatología característica de la calcinosis enzoótica y tanto los hallazgos post-mortem como los de laboratorio coinciden con los observados en los caprinos del relato.

Bibliografía

1. **Eckell OA, Gallo GG, Martín AA, Portela RA.** Observaciones sobre el enteque seco de los bovinos. Rev. Fac. Cs. Vet. UNLP 1960; 2: 193-211.
2. **Masselin JN, Chiaravalle AM.** Frecuencia de la esclerosis aórtica en el bovino. Rev Inv Agrop 1965; 10: 117-147.
3. **Carrillo BJ, Worker NA.** Enteque Seco: arteriosclerosis y calcificación metastática de origen tóxico en animales a pastoreo. Rev. Investigaciones Agropecuarias INTA 1967; S4, PA 4: 9-30.
4. **Ruager J, Gimeno EJ.** Enteque seco en ovinos, caprinos y equinos. Gac Vet 1977; 39: 597-599
5. **Campero CM, Odriozola E.** A case of *Solanum malacoxylon* toxicity in pigs. Vet Human Toxicol 1990; 32: 238-239.
6. **Ribeiro de Castro M, Almeida Gouveia B, Bezerra da Silva MC, Medeiros-Ronchi AA.** Calcinose enzoótica em caprino no estado de Minas Gerais. Relato de caso. Enciclopedia Biosfera (Centro Científico Conhecer Goiania) 2018; 15 (27): 228- 235.
7. **Odriozola ER, Rodríguez AM, Micheloud JF, Cantón GJ, Caffarena RD, Gimeno EJ y col.** Enzootic Calcinosis in Horses Grazing *Solanum glaucophyllum* in Argentina. J Vet Diagn Invest 2018; 30 (2): 286-289.
8. **Santos CEP, Pescador CA, Ubiali DG, Colodel EM, Souza MA.** Intoxicação natural por *Solanum glaucophyllum* (Solanaceae) em búfalos no Pantanal Matogrossense. Pesquisa Veterinária Brasileira 2011; 31 (12): 1053-1058
9. **Gimeno EJ.** Calcinosis enzoótica en rumiantes: Un problema vigente de la ganadería nacional. Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria LIV 2001:202-234. Disponible en: http://www.anav.org.ar/trabajos_publicados/8/gimeno.pdf
10. **Carrillo BJ.** The pathology of Enteque Seco and Experimental *Solanum malacoxylon* Toxicity. PhD Thesis, Davis, University of California 1971.
11. **Mello JRB.** Calcinosis-calcinogenic plants. Toxicon 2003; 41: 1-12.
12. **Gomar MS.** Efectos de la hipervitaminosis D vegetal en la diferenciación y proliferación celulares cutáneas, aórticas y pulmonares del conejo. trabajo de tesis de la carrera del doctorado en ciencias veterinarias. FCV UNLP 2006: 90 pag.
13. **Iglesias VJ, Costa EF, Gimeno EJ.** Calcinosis enzoótica en caprinos de la Provincia de San Luís. Revista Argentina de Producción Animal 2008; 28, Supl 1:333-334.
14. **Rodríguez M, Rey JP, Iglesias V, Costa EF, Gimeno EJ.** Nuevos aportes referidos a la Calcinosis Enzoótica en caprinos en la provincia de San Luis. Memorias Primer Congreso Argentino de Producción Caprina, La Rioja (Arg.) 2013: 387-391.

15. **Rossanigo CE, Rey JP, Page W, Celi Preti JM, Rodriguez C, Lartigue EC.** Enzootic calcinosis in Argentine goats due to presumptive intoxication with *Solanum stuckertii* Bitter. Abstract book. 18th WAVLD International Symposium of the World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVL). Sorrento (Italia) 2017; Resumen 091: pag 227.
16. **Arana M.** Comunicación personal 2017.
17. **Nouaille L, Lebas F, Mercier P.** La calcificación de la aorta: una lesión relativamente frecuente. Cuniculture 1994; 21 (6): 274-276.
18. **Bohs L.** Revision of *Solanum* Section *Cyphomandropsis* (Solanaceae). Source: Systematic Botany Monographs, Vol. 61, Revision of *Solanum* Section *Cyphomandropsis* (Solanaceae); **2001**: pp. 1-85
Disponible en: <http://www.jstor.org/stable/25027891>
19. **Zanuzzi CN.** Efectos de la intoxicación con *Solanum glaucophyllum* (duraznillo blanco) sobre la proliferación, diferenciación y muerte celular en el intestino de conejos. Trabajo de tesis realizado como requisito para optar al título de Doctor en Ciencias Veterinarias. FCV UNLP 2010: 286 pag.
20. **Barros D, Tabone E, Santos M, Andujar M, Grimaud JA.** Histopathological and ultrastructural alterations in the aorta in experimental *Solanum malacoxylon* poisoning. Virchows Arch.1981; 35:169-175.



Figura 1: Calcificación de articulación de la rodilla (Art. femorotibiorotuliana). Rayos X con osteoesclerosis.



Figura 2: Calcificación del lóbulo apical y cardíaco de pulmón.



Figura 3: Calcificaciones en la superficie endotelial de los grandes vasos (flechas).



Figura 4: *Solanum stuckertii* Bitter.

Tabla 1: Manifestaciones clínicas de la intoxicación y muerte de animales por semana.

Grupo	Nº Conejo	Diarrea			Anorexia			Astenia		
		1era semana	2da semana	3ra semana	1era semana	2da semana	3ra semana	1era semana	2da semana	3ra semana
GA	2	-	X	X	X	X	X	X	X	X
	5	X	X	X+	X	X	X+	X	X	X+
	6	-	X+	-	X	X+	-	X	X+	-
GB	4	-+	-	-	X+	-	-	X+	-	-
	7	-	X	-	X	X	-	X	X	-
	8	-	X+	-	X	X+	-	X	X+	-
GC	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-

La "X" representa la manifestación del síntoma y el símbolo "-" representa la ausencia del síntoma. "+" representa la muerte del animal.

!

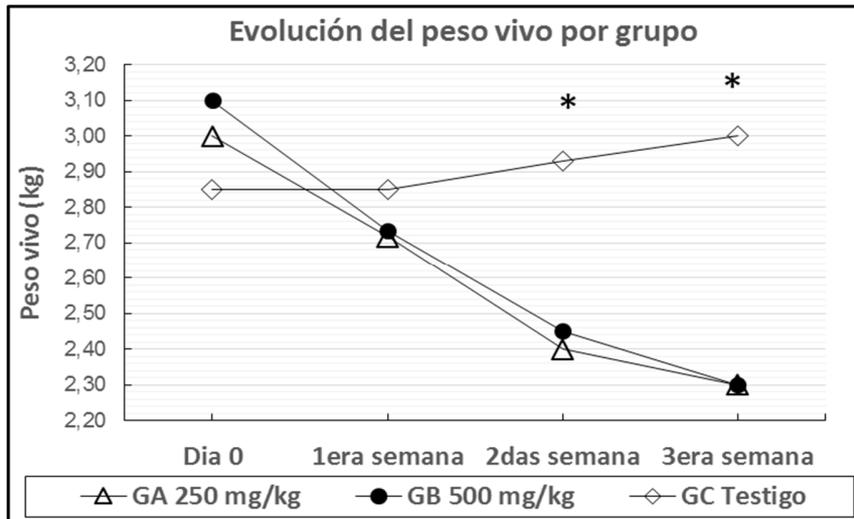


Figura 5: Evolución media del peso vivo de cada grupo. * Diferencias significativas en las medias de las variables bajo estudio ($p < 0,05$).

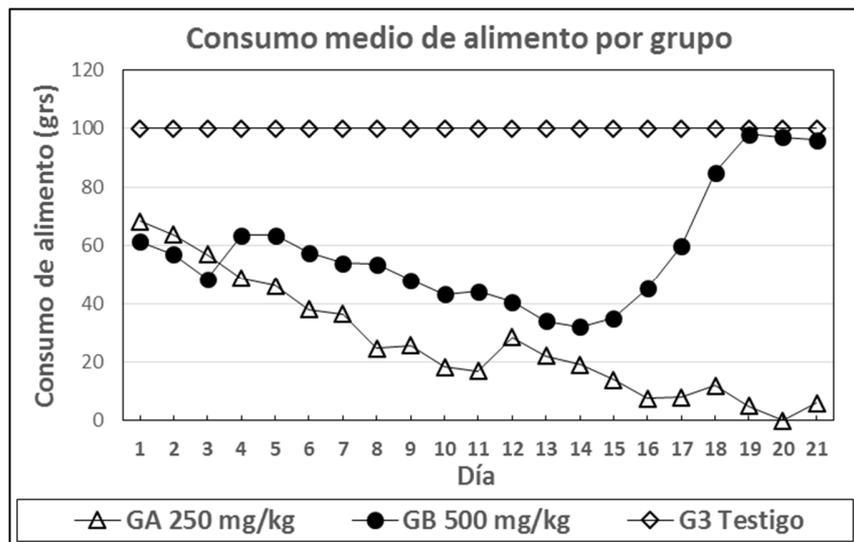


Figura 6: Evolución media del consumo de alimento de los grupos experimentales.

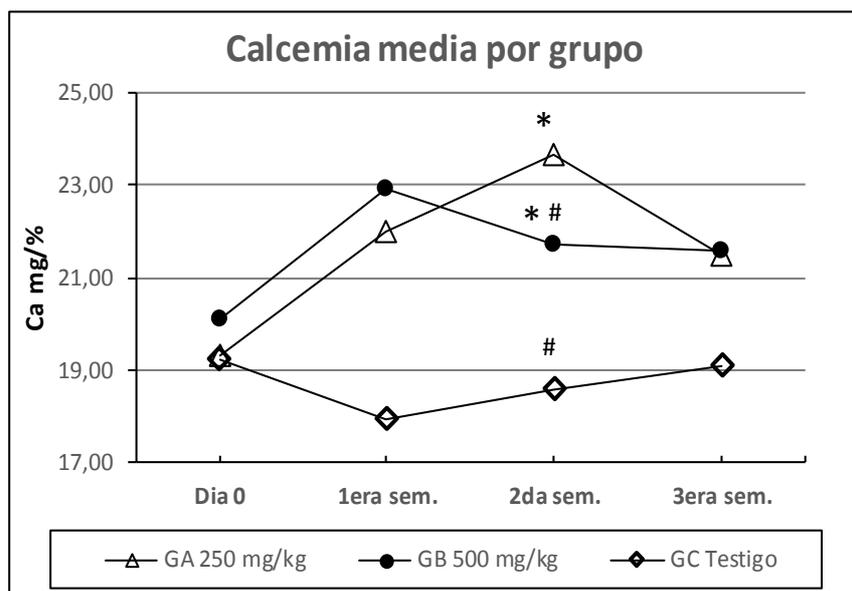


Figura 7: Evolución de la calcemia media de los grupos *experimentales*.
Signos diferentes determinan diferencias significativas en las medias ($p < 0,05$). 3era semana: no hay datos disponibles para anova (datos individuales de animales sobrevivientes).

Tabla 2: Alteraciones macroscópicas encontradas en cada grupo.

Grupo	N°	Calcificación					Días de intoxicación
		Aorta	Riñón	Piel	Pulmó n	Hígado	
A	2	X	X	X	X	-	21
	5	X	X	-	X	-	16
	6	X	X	-	-	-	11
B	4	X	-	-	-	-	5
	7	X	X	-	X	-	21
	8	X	X	X	X	-	13
C	1	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-

La "X" representa la manifestación de calcificación y el símbolo "-" representa la ausencia.

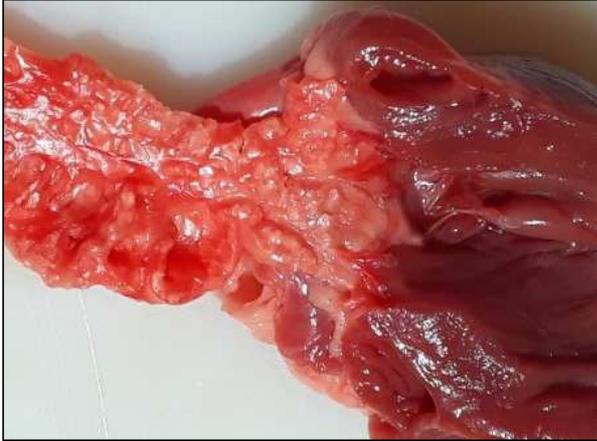


Foto 5: Pared interna de la aorta ascendente con depósitos de calcio



Foto 6: Riñón con depósito de calcio en corteza y en la zona entre corteza y médula



Foto 7: Comparación de la superficie interna de la aorta de un animal intoxicado (arriba) con la de una del grupo control (abajo).

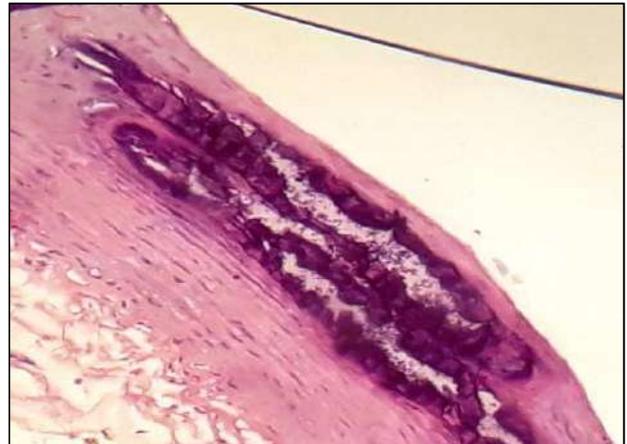


Foto 8: Sección transversal de arteria aorta con calcificación (x400).

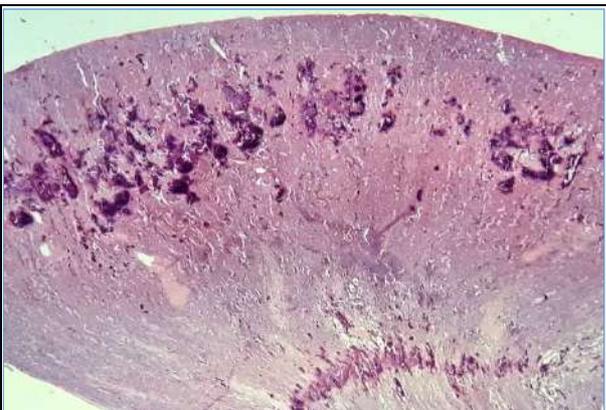


Foto 9: Sección de riñón con calcificaciones en corteza y en la zona de transición entre corteza y médula (x10).

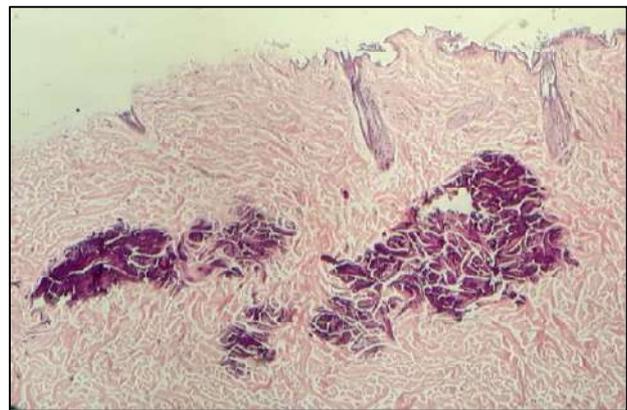


Foto 10: Sección de piel: dermis con abundante mineralización de cristales amorfos (x160).

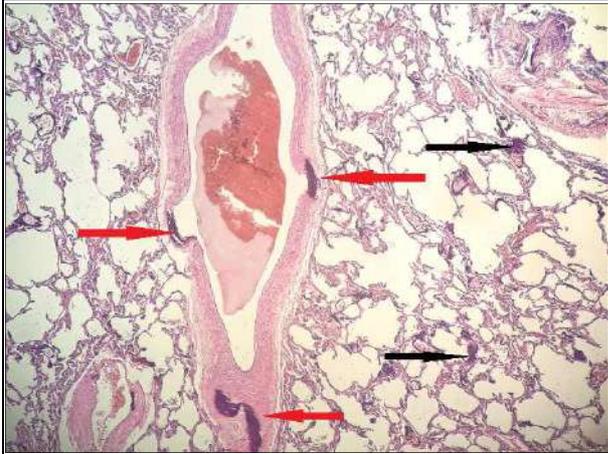


Foto 11: Sección de pulmón: depósitos minerales amorfos en grandes arterias (flechas rojas) y en las paredes alveolares (flechas negras) (x 140).

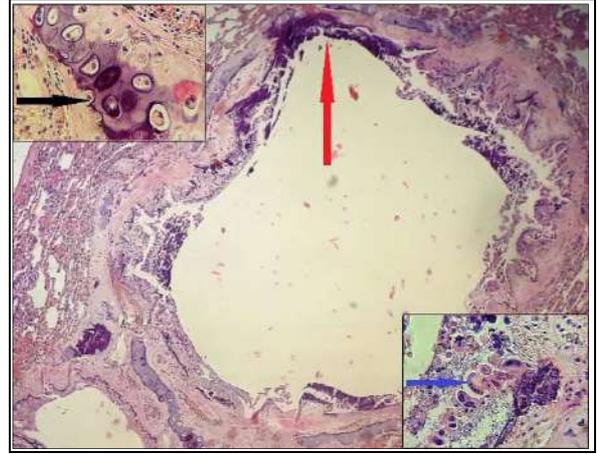


Foto 12: Sección de bronquiolo: depósitos de mineral en la lámina propia (Flecha roja) (x 140). Condrocitos mineralizados (Flecha negra) y células gigantes multinucleadas en el epitelio bronquiolar en las áreas de calcificación. (Flecha azul) (x 1200).