

Universidad de Córdoba
Facultad de Veterinaria



CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LAS PROTEINAS TOTALES E
INMUNOGLOBULINAS EN PLASMA Y LAGRIMA DEL CABALLO
DE PURA RAZA ESPAÑOLA

Trabajo presentado por la Licenciada
en Veterinaria Dña. Eva M^a Martín
Suárez para acceder al grado de
Doctor.

INDICE

Introducción

Revisión bibliográfica

Inmunidad general.....	1
1. Órganos que participan.....	1
2. Mecanismo de acción.....	2
3. Proteínas plasmáticas.....	5
4. Inmunoglobulinas plasmáticas equinas.....	8
4.1. Evolución del sistema inmune desde el nacimiento.....	9
4.2. Principales inmunoglobulinas plasmáticas equinas.....	13
▶ IgG.....	13
▶ IgGT.....	17
▶ IgM.....	21
▶ IgA.....	24
4.3. Factores de variación.....	26
5. Inmunodeficiencias.....	32
Inmunidad secretora.....	39
1. El film lagrimal precorneal.....	39
2. Las glándulas lagrimales.....	41

2.1. La glándula lagrimal principal.....	41
2.2. La glándula lagrimal del tercer párpado.....	42
2.3. Las glándulas lagrimales accesorias.....	42
3. Evacuación de la lágrima.....	43
4. Composición de la lágrima.....	44
4.1. Inmunidad no específica.....	47
4.2. Inmunidad específica:	
Principales inmunoglobulinas lagrimales equinas.....	48
▶ IgA.....	49
▶ IgM.....	52
▶ IgG.....	53
▶ IgGT.....	55

Material y Método

1. Población.....	58
2. Extracción y conservación de las muestras.....	58
3. Procesado de las muestras.....	59
3.1 Determinación de las proteínas plasmáticas.....	60
3.2. Determinación de las proteínas totales lagrimales.....	61
3.3 Cuantificación de inmunoglobulinas en plasma y lágrima.....	64
4. Análisis estadístico de los resultados.....	66

Resultados

1. Proteínas totales.....	67
---------------------------	----

1.1. Proteínas totales plasmáticas.....	67
1.2. Proteínas totales lagrimales.....	68
2. Inmunoglobulinas.....	73
2.1 Inmunoglobulinas plasmáticas.....	73
▶IgG.....	73
▶IgGT.....	75
▶IgM.....	77
▶IgA.....	79
2.2. Inmunoglobulinas lagrimales.....	83
▶IgA.....	83
▶IgM.....	86
▶IgG.....	88
▶IgGT.....	90

Discusión

1. Proteínas totales.....	93
1.1. Proteínas totales plasmáticas.....	93
1.2. Proteínas totales lagrimales.....	97
2. Inmunoglobulinas.....	101
2.1. Inmunoglobulinas plasmáticas.....	101
▶IgG.....	101
▶IgGT.....	106
▶IgM.....	110
▶IgA.....	113
2.2. Inmunoglobulinas lagrimales.....	116
▶IgA.....	116
▶IgM.....	122

▶IgG.....	125
▶IgGT.....	128

i

Conclusiones.....	131
Resumen.....	133
Bibliografía.....	135

Introducción

El gran progreso conseguido en la salud pública es en parte consecuencia del interés puesto sobre la investigación del sistema inmunitario. Es mucho lo que se sabe a cerca de la inmunología, pero aún es bastante lo que queda oculto y numerosos los beneficios que puede aportar, sobre todo si nos internamos en el campo de la veterinaria. El conocimiento de los niveles normales de inmunoglobulinas equinas , para la consiguiente detección y corrección de las inmunodeficiencias, es una importante medida de profilaxis que se habrá de desarrollar junto con programas higiénico sanitarios que permitan disminuir las alteraciones que afecten en gran medida a la raza equina y en particular al caballo de Pura Raza Española. Las diferencias raciales señaladas con anterioridad en los niveles medios de inmunoglobulinas de la especie equina, y la ausencia de datos inmunológicos para esta raza en particular, nos indujo a estudiar y establecer los niveles basales y determinar los factores que pudieran modificarlos. Dentro de este estudio hemos hecho particular hincapié en la determinación de la inmunidad local ocular, estudiando las inmunoglobulinas de la lágrima de esta raza equina, para continuar con la línea iniciada en el Departamento de Patología Clínica Veterinaria sobre Oftalmología.

Revisión bibliográfica

□ INMUNIDAD GENERAL

1- ÓRGANOS QUE PARTICIPAN

Los órganos del sistema linfático están ampliamente distribuidos para proteger eficazmente al organismo. Los órganos linfoides, inmunológicamente, se dividen en dos grandes categorías, primarios o centrales y secundarios o periféricos. Se consideran primarios aquellos donde los linfocitos se originan y maduran hasta ser capaces de reconocer y responder específicamente a los estímulos antigénicos y son, la médula ósea, productora de linfocitos B, y el timo, productor de linfocitos T. Los órganos linfoides secundarios son aquellos donde se acumulan los linfocitos ya maduros e inmunológicamente competentes e incluyen los ganglios linfáticos, el bazo y el tejido linfoide asociado a las mucosas (Wyatt y col. 1988, Dudan y col. 1990, Gómez de la Concha 1991b, Latimer 1991, Gallart y Vives 1992).

2- MECANISMO DE ACCIÓN

El organismo está protegido por un conjunto heterogéneo de células y moléculas que trabajan coordinadas. Los linfocitos constituyen el principal componente del sistema inmune. Aunque estas células poseen una apariencia similar, sus funciones específicas son diversas siendo genéricamente divididas en: respuesta inmune humoral y respuesta inmune celular (Gorman y Halliwell 1989, Latimer 1991, Gómez de la Concha 1991a, Tizard 1992).

Los linfocitos T constituyen entre un 60 y un 80 p.ciento de los linfocitos circulantes en el caballo (McGuire y col. 1974). Están divididos en dos subpoblaciones según su funcionalidad, los CD4⁺ o coadyuvantes, y los CD8⁺ o citotóxicos. Los CD4⁺ activados producen una gran cantidad de linfocinas que aceleran la división de otras células T. Los CD8⁺ activados producen menos linfocinas pero pueden perforar las membranas y segregan sustancias químicas que destruyen las células infectadas frenando la propagación del virus (Tizard 1992, Nossal 1993).

Para que los linfocitos T puedan reconocer al antígeno, éste debe ser presentado formando un complejo, en la membrana de los macrófagos y monocitos que lo fagocitaron, con las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC), denominado ELA (Equine Leucocyte Antigen) en el caballo (Tizard 1992). Los linfocitos T activados, se dividen y segregan linfocinas que movilizan a otros componentes del sistema inmunitario, entre ellos linfocitos B (Nossal 1993). Además, son capaces de inducir la actividad de otros linfocitos T coadyuvantes mediante la liberación de linfocinas, de destruir las células transformadas o infectadas y de modular las respuestas inmunes suprimiendo la actividad de otros linfocitos T y B (Latimer 1991). Las células

presentadoras de antígenos, una vez estimuladas, pueden liberar interleucina I que inducirá a la producción por parte de los linfocitos T coadyuvantes de interleucina II estimuladora de la proliferación de células T (Holmes 1992).

Los linfocitos B constituyen el 25 p.ciento restante de los linfocitos circulantes (Dudan y col. 1990). Se diferencian de los linfocitos T por llevar en su membrana inmunoglobulinas como receptores capaces de reconocer a cualquier antígeno que se halle en solución (Gallart y Vives 1992). Los linfocitos B, activados por las interleucinas elaboradas y liberadas por los linfocitos T activados, se dividen y determinan células plasmáticas que segregan anticuerpos que no son más que formas solubles de sus receptores (Gómez de la Concha 1991a, 1991b; Gallart y Vives 1992, Nossal 1993)

Se ha observado que los linfocitos B equinos también pueden ser estimulados por una proteína sérica equina, una beta-globulina, conocida como transferrina, sólo si dicha proteína es Fe-saturada (holo-Tf), es decir, si está unida al Fe (Gotoh 1990). Algunas células T y B se convierten en células con memoria que persisten en la circulación y estimulan el sistema inmunitario para eliminar el mismo antígeno si éste se presentara en un futuro. Debido a que los genes de los anticuerpos en las células B están sujetos a frecuentes multiplicaciones, la respuesta de los anticuerpos mejora después de inmunizaciones repetidas (Tizard 1992, Nossal 1993).

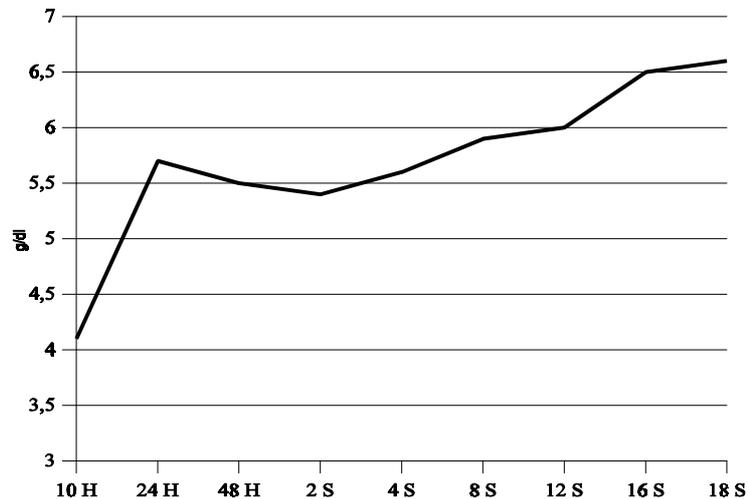
Por último, existe un pequeño porcentaje de linfocitos que no presentan las características fenotípicas de los linfocitos B o T. Poseen una función fundamentalmente citotóxica y se llamarán "NK" (Natural killer) si producen citotoxicidad natural o "CK" (células K) si producen una citotoxicidad natural

dependiente de anticuerpo. Las células NK son capaces de lisar ciertas poblaciones celulares sin mediar reconocimiento antigénico y las células CK pueden unirse y lisar aquellas células a las que se haya unido una IgG (Gómez de la Concha 1991b, Latimer 1991).

A pesar de su enorme flexibilidad, los anticuerpos no pueden por sí solos proporcionar una protección completa frente al antígeno. Algunos gérmenes se esconden en el interior de sus células hospedadoras con una rapidez tal, que pueden pasar desapercibidos a las moléculas de los anticuerpos. En estos casos es la inmunidad mediada por células la que actúa frente a una célula alterada (Nossal 1993).

3-PROTEINAS PLASMATICAS EQUINAS

El potro al nacer posee una cantidad de proteínas plasmáticas inferior a los 0,03-0,05 g/dl. Estos reducidos niveles se ven incrementados al adquirir, mediante el calostro, una concentración media de 16 g/dl de proteínas, aunque su concentración definitiva no se alcanza hasta los primeros meses de edad (Decazes 1984) como se puede observar en la Gráfica 1.



Gráfica 1. Evolución de los niveles medios de proteínas totales plasmáticas (g/dl) en el potro durante las primeras semanas de vida.

El caballo adulto posee una concentración media de proteínas plasmáticas que varía entre 6,1 g/dl (Littlejohn 1968) y 7,7 g/dl (Baetz y Pearson 1972), según el autor considerado (Tabla I). Existen factores que afectan al valor normal de proteínas plasmáticas, entre ellos, el sexo, la edad, la alimentación,

la presencia de alteraciones patológicas e incluso la técnica analítica empleada (Dimopoulos 1970, Kaneko 1980).

Jenning y Mulligan 1953	7,1
Matthews y Poulter 1966	6,47
Hort 1968	7,29
Littlejohn 1968	6,1
Mussman y Rubiano 1970	6,6 (5,4-7,2)
Baetz y Pearson 1972	7,7
Osbaldiston 1972	7,3
Makimura y col. 1975 (jóvenes)	6,30 (5,8-6,8)
Makimura y col. 1975 (adultos)	6,87 (6,1-7,7)
Kirk 1975	7,53 (6,5 -8,5)
Kristensen y Firth 1977	6,64
Rumbaugh y col. 1982	7,3
Coles 1986	6,72
Ricketts 1987	(4,7- 6,7)

Tabla I. Valores medios y/o rangos (g/dl) de proteínas totales plasmáticas en el caballo.

Las proteínas plasmáticas se clasifican en dos grandes grupos: albúminas y globulinas sintetizadas, la mayoría de ellas en el hígado, a excepción de las γ -globulinas que son sintetizadas por las células plasmáticas (Henson 1964). Estas proteínas pueden ser separadas mediante electroforesis en diversas fracciones estableciéndose un patrón característico para cada especie (Ek 1970).

El patrón electroforético del caballo ha estado sujeto a numerosas

variaciones a lo largo de los años, tanto en el número de fracciones como en los valores de cada una de éstas (Ek 1970, Mussman y Rubiano 1970). En él podemos diferenciar las albúminas y globulinas, divididas estas últimas en tres fracciones (Hort 1968, Ek 1970, Latimer 1991, Tizard 1992): la fracción I está a su vez subdividida en tres subfracciones, α_1 pequeña y de mayor rapidez, α_2 más lenta, y una última, α_3 , que sólo ha sido descrita por Hort (1968). La fracción II corresponde a las β -globulinas donde también aparecen dos tipos β_1 y β_2 . Por último, la fracción III se corresponde con las γ - globulinas. Esta fracción no fue detectada en los potros recién nacidos por lo que se pensó que nacían agammaglobulinémicos aunque posteriormente se pudieron detectar algunos niveles de gammaglobulinas en los potros antes de la primera toma del calostro (Rouse 1971, Makimura y col. 1975, Eisenhauer y col. 1984, Latimer 1991, Tizard 1992). La mayoría de las inmunoglobulinas migran en la fracción γ , algunas de ellas como la IgM e IgGT, de menor movilidad electroforética, sólo llegan a la región de las β -globulinas (Latimer 1991, Tizard 1992).

Existen mayores diferencias individuales en las fracciones proteicas del suero del caballo que en otras especies como la oveja y el cerdo (Ek 1970), especialmente en la fracción II (β globulinas). La razón de esta diversidad puede ser debida a la aparición de varios tipos de transferrinas en el suero del caballo (Ek 1970).

4. INMUNOGLUBULINAS PLASMATICAS EQUINAS

El sistema inmune es activado por las estructuras moleculares, tanto internas como externas, produciendo respuestas celulares y/o humorales de afinidades muy variadas que son la base del equilibrio dinámico del sistema, y que en un momento dado le permiten hacer frente a las agresiones externas. A estas estructuras moléculares se las denomina antígeno, y a los productos de la respuesta inmune humoral, anticuerpos. La característica fundamental de los anticuerpos es su especificidad es decir, la capacidad para reconocer y distinguir entre estructuras antigénicas diferentes (Figueredo y col. 1991).

Los anticuerpos o inmunoglobulinas, son moléculas sintetizadas por las células plasmáticas en respuesta a la estimulación antigénica y tienen la propiedad de unirse específicamente al antígeno que indujo su formación (Gallart 1992).

Todas las inmunoglobulinas tienen la misma estructura básica: cuatro cadenas polipeptídicas, dos grandes y dos pequeñas, unidas entre sí por puentes de disulfuro intercatenarios, adoptando la forma de Y (Gorman y Halliwell 1989, Gallart 1992, Tizard 1992). A las cadenas grandes se les denomina cadenas pesadas o H y a las cadenas pequeñas ligeras o L siendo estas últimas de dos tipos kappa (κ) y lambda (λ) (Gorman y Halliwell 1989, Figueredo y col. 1991, Tizard 1992). El caballo presenta un 95 p.ciento de cadenas λ (Tizard 1992). Los cuatro tipos principales de inmunoglobulinas, IgG, IgM, IgA e IgE, encontrados en el caballo, se diferencian por la secuencia de aminoácidos de sus cadenas pesadas teniendo en común sus cadenas ligeras

(Mercier 1977). Cada una de estas inmunoglobulinas se subclasifica según la naturaleza de su cadena ligera (κ o γ) y cada molécula de inmunoglobulina tiene sus dos cadenas ligeras de la misma clase (Gallart 1992). Al romperse los puentes de disulfuro, mediante procedimientos químicos, dan lugar a fragmentos funcionales aislados de 50.000 daltons cada uno, a dos de estos fragmentos se les denominó regiones Fab (Antigen binding fragment) porque poseían la capacidad de unirse al antígeno y al tercer fragmento se le denominó Fc (Fragment crystalline) por su capacidad de cristalización aunque carecía de actividad anticuerpo (Gallart 1992).

Las inmunoglobulinas pueden existir en forma de monómero (IgG, IgA o IgE) o en forma de polímero, dímero fundamentalmente, para la IgA o pentámero para la IgM (Mercier 1977, Gorman y Halliwell 1989).

4.1. Evolución del sistema inmune desde el nacimiento

Durante un cierto tiempo se pensó que al nacer el potro carecía de inmunoglobulinas séricas (Rouse 1971, Dudan y col. 1990, Silim y col. 1990) ya que la placenta equina es de tipo epiteliochorial e impide el paso de anticuerpos maternos al feto (Pellerin y col. 1986, Silim y col. 1990). Posteriormente se llegó a demostrar que el feto equino es capaz de producir IgM y pequeñas cantidades de IgG (McGuire y Crawford 1973, McGuire y col. 1974, Rumbaugh y col. 1982, Decazes 1984, Eisenhauer y col. 1984, Dudan y col. 1990, Latimer 1991, Tizard 1992) e IgGT (Makimura y col. 1975, Tizard 1992) detectables en el último mes de gestación y antes de la primera toma de calostro (Tabla II), por lo que no puede ser descartada la posibilidad de una

transferencia transplacentaria como señalan McGuire y Crawford (1973), y es posible que el feto inmunizado al sexto o séptimo mes de gestación, pueda producir anticuerpos específicos frente a determinados antígenos (Silim y col. 1990, Perryman 1991,).

IgG	IgA	IgM	IgT	
16		27		Rouse 1971
		18		
3,5		3	13	Makimura y col. 1975
13		20		Rumbaugh y col. 1982
5,1		16,5		Latimer 1991

Tabla II. Niveles medios de inmunoglobulinas (mg/dl) en el plasma del potro antes de tomar el calostro.

El periodo neonatal es por tanto un periodo de alto riesgo para contraer infecciones y es necesario que el potro reciba inmunoglobulinas de forma indirecta, al principio por el calostro y más tarde por la leche (Mercier 1977, Perryman y McGuire 1980, Ley y col. 1990). De esta forma el sistema inmune del potro es capaz de responder a la estimulación antigénica aunque estas primeras respuestas sean demasiado lentas para ser efectivas (Dudan y col. 1990).

A partir de la primera toma de calostro es posible detectar niveles de inmunoglobulinas, similares a los del adulto, en el plasma del potro, ya que la glándula mamaria de la gestante concentra, de forma activa y selectiva, los anticuerpos del suero en éste (Genin y Clement 1989). Al ingerir el calostro, los

anticuerpos son absorbidos en el intestino delgado alcanzando su máxima absorción a las 6 horas (Jeffcot 1974, Mercier 1977) siendo la IgG la que se absorbe con mayor rapidez (Decazes 1984). De esta forma el potro consigue a las 24-48 horas de vida unos niveles de IgG, IgG(T), IgM e IgA similares a los del animal adulto (Rouse 1971, McGuire y Crawford 1973, Decazes 1984). Permanecen más o menos estables durante la primera semana y disminuyen a partir de ésta, al iniciarse el catabolismo de los anticuerpos maternos cuando aún no está bien desarrollado el sistema inmune del potro (Rouse 1971, Ek 1974, Eisenhauer y col. 1984, Pellerin y col. 1986). La vida media de los anticuerpos maternos es variable así, la IgG e IgGT se reducen al mínimo entre el primer y el segundo mes de nacimiento, en cambio la IgM e IgA lo hacen mucho antes, entre los 6 y los 16 días y los 16 y los 24 días respectivamente (McGuire y Crawford 1973). Esta rápida disminución de la IgM maternal se debe a que el potro sintetiza IgM muy pronto (Rouse 1971). El catabolismo de los anticuerpos maternos, unido a la hemodilución que se produce al aumentar el volumen del plasma del potro conduce a una disminución relativa de la concentración de inmunoglobulinas (Dudan y col. 1990, Ley y col. 1990). Esta predisposición a la inmunodeficiencia se inicia al mes de edad y permanece hasta que su sistema inmune madura (Ley y col. 1990).

Durante un cierto periodo de tiempo, los niveles de anticuerpos permanecen constantes debido al equilibrio existente entre la propia formación, -más o menos en la segunda semana de vida (Jeffcot 1974, Dudan y col. 1990), y el catabolismo de los anticuerpos maternos; para más tarde volver a subir hasta su concentración definitiva ya con anticuerpos de elaboración propia, al

cuarto mes de vida (Rouse 1971, Jeffcot 1974). La vida media de los anticuerpos maternos es proporcional a la cantidad de anticuerpos recibidos de la madre (McGuire y Crawford 1973). De esta forma entre los 30 y los 60 días de edad el potro ya ha catabolizado la mayor parte de los anticuerpos maternos (Decazes 1984) y a los 5 meses de edad están totalmente ausentes (Jeffcot 1974).

La IgM es la primera inmunoglobulina en desarrollarse aumentando su concentración muy rápido lo que permite que el potro sea capaz de responder a los estímulos antigénicos (Rouse 1971). En segundo lugar se desarrolla la IgG, aumentando la concentración de esta inmunoglobulina mucho más rápidamente que la IgM y la IgA lo que indicaría que a edades tempranas la IgG del potro es más activa que la IgM (Rouse 1971, Ek 1974, Decazes 1984). De esta forma, la IgM al madurar más lentamente, no alcanza los niveles adultos hasta los 3-4 años de edad, en cambio los niveles de IgG en potros son elevados siendo por tanto la inmunoglobulina más importante de los caballos jóvenes (Ek 1974). Similarmente, McGuire y Crawford (1973), observan como en el potro los niveles de IgG son superiores a los de IgM en determinados momentos de su vida así en el tercer día se encuentra una relación de IgM/IgG de 10/50, al sexto día de 10/40 y a los tres meses de 640/750 mg/dl.

Todos estos acontecimientos vienen corroborados por la menor capacidad de los potros para producir una respuesta inmune ya que poseen un menor número de células productoras de anticuerpos que los adultos. Durante el desarrollo, una β globulina, la transferrina, actúa como factor promotor ya que al unirse al Fe, fomenta o acelera la formación de células productoras de anticuerpos (Gotoh 1990).

4.2. Principales inmunoglobulinas plasmáticas equinas.

Las características fundamentales de las principales inmunoglobulinas plasmáticas son similares entre las distintas especies, sin embargo, existen diferencias en cuanto a número, tipo de subclases y existencia de alotipos (Wells y McBeath 1981, Dudan y col. 1990, Tizard 1992)

► IgG

Características estructurales:

Estructuralmente la IgG es similar en las distintas especies. Posee dos cadenas ligeras cuyo peso molecular varía entre 19.400 y los 23.100 daltons y dos cadenas pesadas de peso molecular de 53.000 daltons lo que conllevaría a un peso molecular total de 150.000 daltons (McGuire y col. 1972, Mercier 1977, Wells y McBeath 1981, Gorman y Halliwell 1987). Su coeficiente de sedimentación de 7 svedberg (S) (McGuire y col. 1972).

En el caballo existen tres subclases IgGa, IgGb e IgGc (McGuire y col. 1972, Gorman y Halliwell 1989), según su movilidad electroforética decreciente hacia el ánodo (Makimura y col. 75, Mercier 1977). La separación de las tres subclases es realmente difícil por la contaminación de las IgGa con las IgGb, por

lo que a veces suelen designarse como IgG_{ab} e IgG_c (Ek 1974, Mercier 1977). Algunos autores consideran la IgG_T como una subclase de IgG (Weir y Porter 1966, Fernandes y col. 1991, Tizard 1992) aunque, Sandor y Audibert (1970), prefieren distinguirla separadamente como IgT. Otro componente del suero, conocido como inmunoglobulina agregante (AI), 10S γ 1 (Helms y Allen 1970, Sandor y Audibert 1970) o IgB, también ha sido propuesta como una subclase de IgG siendo considerada como IgG_B (Fernandes y col. 1991).

El significado de las subclases de IgG aún no se ha determinado. No existen diferencias físico-químicas entre las moléculas de IgG en muchas especies para garantizar claras divisiones en subclases. Más aún, parecen formar parte de una población heterogénea en la que los componentes difieren entre sí por la carga electrostática, presumiblemente, como resultado de diferencias en la secuencia de aminoácidos de sus fragmentos Fc (Outteridge 1989).

Función:

La función principal de la IgG es el fomento de la eliminación de los microorganismos y la neutralización de las toxinas en la fase secundaria de la respuesta inmune. Es la inmunoglobulina que se distribuye con mayor facilidad por los espacios extravasculares debido a su reducido tamaño, difunde muy bien a través de las membranas y es la inmunoglobulina predominante en los líquidos tisulares como el sinovial, peritoneal, pleural, cefalorraquídeo y humor acuoso (Gallart 1992). Por tanto interviene rápidamente en la defensa tisular y de las superficies corporales (Gorman y Halliwell 1989, Tizard 1992).

La IgG posee la capacidad de aglutinar los antígenos que están adheridos

a la superficie de los eritrocitos, "hemaglutinación", y además puede fijar el complemento después de interactuar de forma específica con el antígeno e incluso puede inhibir la fijación del mismo, si se halla en cantidades equivalentes, pudiendo diferir su capacidad funcional según su eficacia por atraer y fijar el complemento (McGuire y col. 1973) Algunas subclases de IgG pueden unirse a la superficie de las células cebadas interviniendo así en las reacciones de hipersensibilidad tipo I (McGuire y col. 1973, Tizard 1992).

Posee un mecanismo catabólico específico al igual que ocurre en otras especies, siendo catabolizada en proporción directa a la cantidad de ésta en el suero (Nansen y Riising 1971).

Concentración:

Al igual que ocurre en otras especies, en el caballo constituye la inmunoglobulina en mayor proporción en el suero y calostro (Rouse 1971). Los valores medios (Tabla III) se encuentran entre los 1065 mg/dl (Rouse 1971) y los 2463 mg/dl (Kohn y col. 1989) aunque se pueden encontrar niveles extremos de 570 mg/dl (Rouse 1971) y de 4000 mg/dl (Andrews y col. 1990). Más del 80 p.ciento de las inmunoglobulinas séricas están representadas por la IgGa y la IgGT, si bien hay que considerar que estos valores pueden presentar diferencias raciales (McGuire y Henson 1973, Dudan y col. 1990).

	IgG
Rouse 1971 (Pura Sangre)	1227 (570-2000)
Rouse 1971 (Pony de Shetland)	1065 (580-1770)
Nansen y Riising 1971	(960-1870)
Pahud y Mach 1972	1800 (1600-1900)
McGuire y col. 1973	1334 (720-1920)
McGuire y Crawford 1973	1500
Makimura y col. 1975	1640 (1150-2150)
Wilkie 1982	1500
Rumbaugh y col. 1982	2069 (1450-3000)
Olsen y Krakowka 1983	1334
Kent y Blackmore 1985b	1200
Kohn y col.1989	2463,9
Andrews y col. 1990	2222 (925- 4000)
Tizard 1992	(1000-1500)
O'Rielly 1993	1369,5

Tabla III. Niveles medios y/o rangos de IgG (mg/dl) en el plasma equino.

De todas las localizaciones extravasculares, es en el calostro donde la IgG adquiere una mayor importancia, por lo que pasa a ser la principal inmunoglobulina del potro recién nacido. De ahí el valor que en los momentos perinatales se le confiere, ya que concentraciones plasmáticas menores a 400mg/dl los hace más susceptible a los procesos infecciosos, mientras que una concentración superior a los 800 mg/dl puede aportar una protección adecuada, sin que por ello dejen de estar totalmente sometidos a riesgo (Bublitz 1990). La concentración media de IgG en el calostro disminuye progresivamente desde el día del parto, así a los 15 días podemos encontrar un valor medio de 28 mg/dl reduciéndose hasta 14 mg/dl a los 6 meses (McGuire y Crawford 1972).

► IgGT

Características estructurales:

La IgGT es una inmunoglobulina específica del caballo. La clasificación de esta inmunoglobulina ha estado sujeta a numerosos estudios y variaciones durante los últimos años ya que su elevado contenido en carbohidratos y alta concentración en las secreciones corporales hicieron pensar que fuera homóloga a la IgA de las demás especies (Herbert 1971, Olsen y Krakowa 1983, Outteridge 1989, Tizard 1992). Estudios más detallados de la secuencia de aminoácidos de la región Fc, llevaron a determinar la similitud existente entre esta inmunoglobulina y la IgG clasificándola, definitivamente, como una subclase de IgG (Weir y Porter 1966, Helms y Allen 1970, Widders y col. 1986, Gormam y Halliwell 1989, Outteridge 1989, Tizard 1992). A pesar de esto, tiene una serie de características que la hacen diferente y le confieren entidad propia:

- 1) posee distintos determinantes antigénicos de cadena pesada que la IgG,
- 2) la rotación óptica espectral de la IgGT perdía el efecto "algodón" de 240nm observado en otras subclases de IgG equina.;
- 3) el mapa peptídico de las cadenas H de las distintas subclases de IgG presenta grandes diferencias con la IgGT;
- 4) la cadena a-terminal sugiere que la IgG es más parecida a la IgG humana, bovina y de conejo que a la IgGT equina. (Widders y col.1986).

Posee una movilidad electroforética β_2 a diferencia de la IgG que lo hace en la banda de la γ globulinas y, además, posee puentes disulfuro intracatenarios adicionales (Gorman y Halliwell 1989)

Tiene un peso molecular de 152.000 daltons y un coeficiente de sedimentación de 7S (Ek 1974).

Función:

Esta inmunoglobulina se reconoció, inicialmente, en los caballos que se usaron para la producción del toxoide antitetánico equino, encontrándose en bajas concentraciones en los sueros de caballos normales (Van der Scherr 1941, Sandor y Audibert 1970, Widders y col. 1986, Gorman y Halliwell 1989, Tizard 1992).

En la respuesta frente al antígeno, existe la posibilidad de que estén representadas todas las subclases de IgG aunque, normalmente, una será la dominante. En el caballo la asociación de IgGT con la respuesta inmune a los parásitos y al toxoide tetánico es interesante, a pesar de que los mecanismos que operan en este sistema están poco claros (Gorman y Halliwell 1989). Los caballos parasitados con *Strongylus vulgaris* sufren un aumento de las β -Globulinas (Kent y Blackmore 1985a) de tal forma que los cambios que se producen en la concentración de IgGT tras la vacunación de toxoide tetánico son mínimos, en relación con los producidos tras la parasitación con *Strongylus vulgaris* (Patton y col. 1978, Kent y Blackmore 1985a, Tizard 1992).

La aparición de esta inmunoglobulina está ocasionada por el estímulo causado sobre los linfocitos B por diferentes tipos de interleucinas, producidas por los linfocitos T activados, de tal forma que las interleucinas al estimular a las linfocitos B sintetizan diferentes clases y subclases de inmunoglobulinas. Esto

sugiere que las interleucinas pueden actuar regulando el tipo de inmunoglobulina que va a determinar la respuesta inmune. Gracias a ello, se podría reducir la cantidad de proteínas heterólogas usadas en la terapia sérica, administrando preparaciones que sólo contengan IgGT (Fernandes y col. 1991).

La IgGT no fija el complemento, ni tiene capacidad de aglutinar, pero posee una alta capacidad para neutralizar la toxina tetánica (Tizard 1982) y flocular el antígeno. La IgGT posee un puente de disulfuro intercatenario adicional que restringe sus cambios conformacionales y que le facilita la unión de sus dos sitios de combinación antigénica con el mismo antígeno. Esta característica le limita su capacidad para formar agregados para precipitación (McGuire y col. 1973).

Concentración:

La IgGT de los potros es muy activa y se producen grandes cantidades lo que hace que ésta sea una de las principales inmunoglobulinas del caballo joven (Ek 1974), pudiendo llegar a constituir más del 50 p.ciento de las inmunoglobulinas séricas equinas (McGuire y col. 1973).

Su concentración media varía entre los 162 mg/dl (Rouse 1971), y los 1286 mg/dl (Ek 1974), aunque es posible hallar valores entre los 76 mg/dl (Rouse 1971) y los 2130 mg/dl (Ek 1974) como puede observarse en la Tabla IV.

	IgGT
Rouse 1971 (Pony de Shetland))	705 (200-900)
Rouse 1971 (Pura Sangre)	162 (78-400)
McGuire y col. 1973	821 (214-1500)
McGuire y Crawford 1973	283,6
Ek 1974 (Dole, joven)	1286 (570-2130)
Ek 1974 (Dole, adulto)	948 (570-1290)
Makimura y col. 1975	619 (320-850)
Wilkie 1982	700
Olsen y Krakowa 1983	820
Kent y Blackmore 1985a	710
Tizard 1992	(100-1500)

Tabla IV. Niveles medios y/o rangos de IgGT (mg/dl) en el plasma equino.

En el calostro también posee un papel importante siendo la segunda inmunoglobulina de mayor concentración, pero al igual que la IgG, la concentración media se reduce rápidamente de tal forma que a los 15 días del parto sólo existen 8 mg/dl y a los 6 meses, la secreción mamaria posee 2 mg/dl (McGuire y Crawford 1972).

► IgM

Características estructurales:

Existen dos formas de IgM, una polimérica que se encuentra en el plasma y otra monomérica de 180.000 daltons, que se encuentra en la superficie celular linfocítica (Gorman y Halliwell 1989) donde actúa como receptor de los linfocitos B (Gorman y Halliwell 1989, Tizard 1992)

La IgM plasmática posee un peso molecular de 950.000 daltons y un coeficiente de sedimentación de 19S. Consta de 5 monómeros con un coeficiente de sedimentación de 7S cada uno los cuales están unidos por puentes de disulfuro y, dos de ellos, además por una cadena J de 15.000 daltons de peso molecular (McGuire y col. 1973, Tizard 1992).

No existen subclases de IgM en el caballo (Tizard 1992).

Función:

Esta inmunoglobulina actúa en las respuestas primarias y, de forma más reducida, en las respuestas secundarias asociada a otras inmunoglobulinas, aunque en algunas infecciones sólo se produce IgM, y es un mecanismo importante frente a gastroenteritis y enfermedades causadas por E.coli y Salmonella sp. (Gorman y Halliwell 1989, Tizard 1992). Es decir, la IgM es responsable de la actividad defensiva tras la primera exposición al antígeno, en cambio, en exposiciones sucesivas, se produce en menor cantidad siendo fundamentalmente la IgG la encargada de dicha función (Wells y col. 1981). Al ser una inmunoglobulina multivalente formada de forma rápida en la respuesta inmune, generalmente, tiene muy baja afinidad por el antígeno. Por ello, suele tener una gran capacidad de aglutinación pero es poco efectiva para la

neutralización o precipitación de toxinas. Por otro lado, tiene una gran capacidad de estimular la vía clásica del complemento cuando está unido al antígeno (Tizard 1982).

Como es una inmunoglobulina de gran tamaño se queda retenida en los vasos, a menos que haya rotura de estos, y por ello es poco efectiva en la protección de los líquidos tisulares y de las secreciones corporales (Gorman y Halliwell 1989, Tizard 1992). En cambio, cuando existe algún mecanismo patológico la permeabilidad para esta inmunoglobulina se altera y puede verse, en concentraciones variables, en diferentes líquidos tisulares como el líquido sinovial (Rumbaugh y col. 1982). A pesar de esto, gracias a su gran tamaño y a su reducida concentración plasmática, es difícil de detectar en determinadas localizaciones como puede ser el líquido cefalorraquídeo aún cuando la barrera hemato-encefálica se halle alterada (Andrews y col. 1990).

Concentración:

Es, junto con la IgA, la inmunoglobulina de menor concentración plasmática y se halla en una proporción similar a ésta. Los niveles medios se encuentran entre los 85,2 mg/dl (Rumbaugh y col. 1982) y los 206 mg/dl (Makimura y col. 1975) como puede verse en la Tabla V.

	IgM
Pahud y Mach 1972	180 (160-200)
McGuire y Crawford 1973	128,3 (83-180)
McGuire y col. 1973	120 (82-200)
Makimura y col. 1975	206 (90-200)
Rumbaugh y col. 1982	85,2 (39-160)
Olsen y Krakowka 1983	120
Kohn y col 1989	136,4 (24,2-1341)
Tizard 1992	(100-200)

Tabla V. Niveles medios y/o rangos de IgM (mg/dl) en el plasma equino.

En condiciones normales, se encuentra en muy baja concentración en los líquidos corporales así como en las diferentes secreciones, a excepción del calostro (400 mg/dl) donde es concentrada de forma activa y selectiva para ser transmitida al potro (Rumbaugh y col. 1982).

► IgA

Características estructurales:

En principio, se pensó que el caballo no poseía un sistema IgA semejante al del hombre y al de otras especies (Genco y col. 1969). Posteriormente, se demostró la existencia de una inmunoglobulina equina que poseía reacciones cruzadas con el antisuero específico humano lo que condujo a pensar en la posibilidad de una IgA similar a la ya descrita en las demás especies confirmando, además, la existencia de un Componente Secretor (SC) que, unido a la IgA, le permite el paso a través de los epitelios a las secreciones (McGuire y Crawford 1972, 1973) . Esta IgA secretora fue purificada y aislada por primera vez por Kurimoto y col. (1981) mediante un método inmunoabsorbente.

En los équidos, la IgA plasmática se encuentra fundamentalmente en forma de polímero al igual que en el perro, cerdo, oveja, vaca y a diferencia del hombre donde se halla principalmente en forma de monómero (McGuire y col. 1973). El peso molecular varía entre 160.000 y los 700.000 daltons, de los cuales, el dímero de IgA de 350.000 daltons, formado gracias a la cadena J, es el que se halla en mayor proporción (McGuire y Crawford 1972, McGuire y col. 1973, Olsen y Krakowka 1983, Gorman y Halliwell 1989) aunque se pueden encontrar monómeros, trímeros y tetrámeros (McGuire y Crawford 1973, Tizard 1992). El coeficiente de sedimentación de la forma monomérica es de 7S.

Función:

La IgA actúa, junto con la IgG, como mecanismo de respuesta en una segunda inmunización, y aunque la IgG predomina al principio, la IgA se incrementa gradualmente hasta llegar a ser el principal componente tras varios meses del inicio (Klinman y col. 1966).

La importancia biológica de la IgA reside en las secreciones (respiratoria, genital, intestinal y ocular) donde aparece como IgA secretora. Es capaz de activar el complemento por la vía alternativa lo que permite eliminar el agente patógeno pero tiene poca capacidad de aglutinación de partículas antigénicas y de neutralización de virus (Gorman y Halliwell 1989).

La propiedad más importante de ésta inmunoglobulina está determinada por su capacidad de unirse a la pieza secretora por el extremo Fc, gracias a lo cual puede ser transportada, a través de los epitelios, a las secreciones corporales donde ejerce su papel más importante, saliva, secreción nasal y bronquial, lágrima, leche, etc. (Peña 1988, Tizard 1992). Su elevada concentración en la leche nos indica el relevante papel que esta inmunoglobulina ejerce en la protección de la glándula mamaria y probablemente en el tracto gastrointestinal del potro (McGuire y Crawford 1973).

Concentración:

La IgA representa un 10 p.ciento de la concentración total de inmunoglobulinas séricas estando en un porcentaje similar al de la IgM (McGuire y Crawford 1972). Los valores medios ofrecidos por los distintos autores oscilan entre un mínimo de 43,88 mg/dl (Johnson y col. 1994) y un máximo de 305,20 mg/dl (Kohn y col. 1989), aunque sus valores extremos están comprendidos entre 10 mg/dl (Perryman 1980) y 1000 mg/dl (Kohn y col. 1989), Tabla VI.

	IgA
Pahud y Mach 1972	200 (80-300)
McGuire y col 1973	153 (60-350)
McGuire y Crawford 1973	293,3
Olsen y Krakowka 1983	150
Kohn y col. 1989	305,2 (36-1000)
Johnson y col. 1994	43,88

Tabla VI. Niveles medios y/o rangos de IgA (mg/dl) en el plasma equino.

No ejerce un papel primordial en el calostro donde su concentración media varía entre los 20 y los 28 mg/dl. Este valor se eleva progresivamente hasta alcanzar, a los 15 días una concentración de 80 mg/dl y de 130 mg/dl a los 6 meses (McGuire y Crawford 1972). Puede llegar a constituir el 50 p.ciento de las inmunoglobulinas de las secreciones (Tizard 1992) aunque no ejerce un papel de importancia a nivel de los líquidos tisulares y sus reducidas concentraciones, como los 0,08 mg/dl del humor acuoso, son muy difíciles de detectar (Glaze y col. 1984).

4.3. Factores de variación.

Los niveles de proteínas séricas, y en particular de inmunoglobulinas, pueden presentar variaciones según la especie, la raza, la edad, el sexo, el estado fisiológico y las condiciones de manejo y medioambientales.

▸Raza

Rouse (1971) observa como la concentración media de IgG en los

caballos Pura Sangre se diferencia de la de los Ponys de Shetland (Tabla VII), y Le Blanc y col. (1986) encuentran variaciones en la concentración de IgG entre caballos de raza Pura Sangre, Cuarto de Milla y Arabes, (Tabla VIII) aunque no pudo relacionar dichas diferencias con el factor raza debido a la amplitud de los rangos encontrados. El resto de los autores realizan sus estudios en razas concretas de caballos y, tan sólo Makimura y col. (1974), Andrews y col. (1990) y O'Rielly (1993), utilizan muestras de varias razas para la obtención de su valor medio de IgG. Si consideramos los valores medios aportados por los distintos autores para determinadas razas equinas podemos observar cómo varían según el autor considerado, así LeBlanc y col. (1986), establecen una concentración media de IgG de 1320 mg/dl en el caballo Arabe; McGuire y Crawford (1973), Rumbaugh y col. (1982) y LeBlanc y col. (1986) establecen una concentración de 1500 mg/dl, 2069 mg/dl y 1073 mg/dl, respectivamente, para el Cuarto de Milla; Rouse (1971) y McGuire y col.(1973) determinan una concentración media de IgG de 1065 mg/dl y 1334 mg/dl para el Pony de Shetland y por último para el Pura Sangre, el valor medio establecido por Rouse (1971) es de 1227 mg/dl y de 1369,5 por O'Rielly (1993), aunque la población de este último autor, podría estar alterada por la presencia de dos caballos de raza Trotón Americano.

Rouse (1971) y McGuire y col. (1973) sugieren que los valores medios de IgGT podrían estar influenciados por la raza de caballo estudiada. En 1971, Rouse observa como la concentración media de IgGT es significativamente menor en el Pura Sangre que en el Pony de Shetland, atribuyendo dicha diferencia a un posible carácter genético (Tabla VII). Sin embargo, EK (1974), realizando sus estudios en dos razas de caballos noruegos, Døle y Fjord, sometidas a iguales condiciones de manejo y alimentación, no encuentra dichas

diferencias, atribuyendo las variaciones observadas por Rouse (1971) a posibles factores medio ambientales ya que los dos grupos de caballos fueron sometidos a distinto régimen de vida (Tabla IX). A igual conclusión llegan LeBlanc y col. (1992), al encontrar diferencias significativas entre razas sometidas a diferentes condiciones de manejo y alimentación.

	IgG	IgGT
PURA SANGRE	1227	162
PONY DE SHETLAND	1065	705

Tabla VII. Niveles medios de IgG e IgGT (mg/dl) encontrados por Rouse (1971) en el plasma de las razas señaladas.

	IgG
Pura Sangre	1272
Cuarto de Milla	1073
Arabe	1320

Tabla VIII.. Niveles medios de IgG (mg/dl) encontrados por LeBlanc y col (1986) en el plasma de las razas señaladas.

	IgG	IgGT
DØLE	1470	948
FJORD	1454	908

Tabla IX. Niveles medios de IgG e IgGT (mg/dl) encontrados por Makimura y col. (1975) en el plasma de las razas señaladas.

►Edad

Las variaciones de los niveles de inmunoglobulinas del potro desde el nacimiento hasta la edad adulta, han sido ampliamente estudiadas. Los potros al primer día de edad ya poseen concentraciones de inmunoglobulinas similares a las del animal adulto, pero se reducen bruscamente en los dos primeros meses de vida. Entre los dos y los cuatro meses mantienen un equilibrio entre el catabolismo de las inmunoglobulinas maternas y las propias inmunoglobulinas, y a partir de los cuatro meses, la tasa de anticuerpos vuelve a elevarse progresivamente hasta su concentración definitiva (Rouse 1971). En la Tabla X se recogen los niveles de IgG e IgGT en los tres momentos donde los valores consiguen el máximo y el mínimo de dicha evolución :

	IgG	IgGT
1 día	1500	498
3 meses	328	172
10 meses	949	783

Tabla X. Niveles medios plasmáticos de IgG e IgGT (mg/dl) en diferentes edades del potro.

Ek, en 1974, realizando sus estudios en caballos noruegos de raza Døle, encuentra que los niveles medios de IgG e IgGT presentaban diferencias significativas con la edad (Tabla XI). De tal forma que la IgGT era superior en los caballos jóvenes, mientras que la IgG lo era en los animales adultos.

	IgGT	IgG
Døle (2 años)	1282 ± 432 (570-2130)	1070 ± 196 (690- 1440)
Døle (adultos)	940 ±209 (570 -1290)	1470 ± 158 (1200-1770)

Tabla XI. Comparación de los niveles medios de IgG e IgGT (mg/dl) en el plasma de caballos de distinta edad.

Similares resultados observan Nansen y Riising (1971) y Makimura y col (1975) al observar cómo los valores medios de IgG se elevan progresivamente con la edad, al igual que ocurre también según Makimura y col. (1975) con la IgM. Por el contrario, la IgGT permanece constante en los niveles adultos.

►Sexo

Ninguno de los autores consultados han considerado si el sexo actúa como un factor que pueda modificar los valores medios de inmunoglobulinas plasmáticas en caballos, aunque sí ha sido considerado en otras especies como el ganado vacuno (Penhale y Christie 1969), el perro (Glickman y col. 1988) o el hombre (Butterworth y col. 1967, Alexander 1980).

►Estado fisiológico

Makimura y col. (1975), observan un cambio notable en los valores medios de IgGT entre hembras no gestantes (619 mg/dl) y gestantes (714 mg/dl), en cambio la IgG, la IgM y las proteínas totales no presentaban diferencias.

►Condiciones de manejo

Se ha observado que los caballos hiperinmunizados con el toxoide

tetánico producen mayores cantidades de IgGT (Sandor y Audibert 1970). De igual forma aquellos caballos parasitados con *Strongylus vulgaris*, ven incrementados, hasta cuatro veces más, sus niveles de IgGT (Makimura y col. 1975, Patton y col. 1978), de tal forma que los cambios producidos tras la vacunación con el toxoide tetánico son mínimos , según Kent y Blacmore (1985a), que los que suceden tras una parasitación con *Strongylus vulgaris*.

El regimen alimentario, así como el tipo de trabajo a que se ve sometido el animal, puede modificar sus niveles medios de IgGT. En este sentido podemos observar como estos niveles son claramente diferentes si el animal es sometido a régimen en libertad, o por el contrario, lleva un riguroso control tanto en la alimentación como en el ejercicio (Tabla XII).

	Libre	Estabulado
Kent y Blackmore 1985b	710	410
Rouse 1971	705	162

Tabla XII. Comparación de los niveles medios de IgG (mg/dl) en el plasma de caballos sometidos a diferentes modos de manejo.

Otros autores, como LeBlanc y col. (1992), observan que los factores medioambientales modifican la concentración media de IgG de tal forma que, a medida que las radiaciones solares aumentan, se incrementan los niveles de IgG en el plasma de los potros, por el contrario, Ripatti y col. (1990) consideran que la concentración media de IgG aumenta en los caballos estabulados debido a la mayor carga antigénica que reciben por la escasa ventilación de estos lugares.

5. INMUNODEFICIENCIAS

Las inmunodeficiencias son realmente frecuentes en el caballo, especialmente cuando se comparan con otros animales. Se han llegado a identificar varios tipos de inmunodeficiencias primarias entre las que se incluyen: *Fallo de transferencia pasiva (FTP)*, *Inmunodeficiencia combinada (IDC)*, *Deficiencia selectiva de IgM*, *Hipogammaglobulinemia transitoria*, *Agammaglobulinemia* y *Deficiencia Selectiva de IgA*. En cambio, las inmunodeficiencias de tipo secundario no han sido bien estudiadas en el caballo y sólo se han encontrado casos de inmunodeficiencias secundarias a herpesvirus o a linfosarcoma (Boy y col. 1992, Ahmed y col. 1993). Los animales afectados poseen alterada la función de los linfocitos T y/o B, suelen tener carencia de algún tipo de inmunoglobulina y morir muy jóvenes. Para diagnosticarlas y diferenciarlas es esencial valorar la respuesta inmune mediada por células "in vitro", a parte de considerar los niveles séricos de las inmunoglobulinas (Goto y col. 1992).

La mayoría de los "kits" comerciales que se utilizan en la actualidad, se han elaborado con la finalidad de poder detectar estas inmunodeficiencias de forma rápida, midiendo "in situ" los niveles medios de IgG en los potros de pocas horas de edad, aunque los resultados que aportan son aproximativos (Ley y col. 1990). La técnica de elección sería la Inmunodifusión radial. Otros métodos, como el test de turbidez en sulfato de zinc o la electroforesis, aportan resultados fiables y son más prácticos en la clínica de campo (Rumbaugh y col.

1978).

Muchos son los estudios encaminados a descubrir o paliar cualquiera de estas inmunodeficiencias. En el caballo, al igual que en otras especies, el aporte de selenio en la dieta, supone un estímulo en la respuesta inmune humoral, particularmente la IgG, y en los títulos de hemaglutinación de los glóbulos rojos, siendo mayor esta respuesta en los animales viejos que en los jóvenes (Knight y Tyznik 1990).

► El factor de infección y muerte más común en los potros recién nacidos es el **Fallo de transferencia pasiva (FTP)** que afecta al 19,7 p.ciento de los potros (Perryman y McGuire 1980). Esta alteración se caracteriza por la existencia de bajos niveles de IgG plasmática, posiblemente debido a una dificultad para tomar adecuadamente el calostro, a un fallo en la absorción de las inmunoglobulinas calostrales o a una reducida concentración de IgG en el calostro materno (McGuire y col. 1977, Lavoie y col. 1990). Se considera que existe FTP cuando el nivel plasmático de IgG es inferior a 200 mg/dl y, FTP parcial, cuando está entre los 200 mg/dl y los 400 mg/dl (Lavoie y col. 1990). Los potros que nacen débiles son altamente susceptibles de poseer esta inmunodeficiencia la cual supone graves pérdidas económicas considerando la necesidad de transfusión de plasma, los antibióticos parenterales que hay que utilizar y, a veces, la necesidad de hospitalizar al potro (Ley y col. 1990). Controlando la concentración de IgG en el calostro y midiendo la concentración de IgG en el plasma, suero o sangre total a las 12-48 horas de vida, cuando la absorción intestinal de las inmunoglobulinas calostrales es completa, podemos detectar la existencia de esta alteración (Oikawa y col. 1986, Lavoie y col.

1990).

► La **Inmunodeficiencia Combinada** (IDC), es una alteración genética que se caracteriza por linfopenia T y B, y ausencia de una o más clases de inmunoglobulinas, lo que hace a los potros más susceptibles a las infecciones (McGuire y Crawford 1973). McGuire y col. (1974), observan que los caballos con esta inmunodeficiencia poseen un número inferior a 936 leucocitos/mm³, mientras que lo normal es de 4119 leucocitos/mm³, y son deficientes en IgM. Después del nacimiento, la mayoría de los potros con IDC tienen unas concentraciones normales de inmunoglobulinas ya que la transferencia de éstas ha sido normal, por lo que a las 24 horas del nacimiento, poseen unas concentraciones medias similares a las del adulto (McGuire y col. 1974, Perryman y McGuire 1980), pero cuando los anticuerpos maternos son catabolizados, los niveles plasmáticos de inmunoglobulinas descienden ya que el potro no es capaz de realizar su propia síntesis.

Afecta fundamentalmente a los caballos de Raza Árabe en los que es transmitida de forma autosómica recesiva (McGuire y col. 1974). Estos caballos se ven afectados por infecciones respiratorias producidas por *Pneumocystis carinii* (McGuire y col. 1974), alteraciones digestivas ocasionadas por *Cryptosporidium* y *Coronavirus* (Mair y col. 1990), meningoencefalitis producidas por *Listeria monocytogenes* (Clark y col. 1978) y por otras alteraciones producidas por adenovirus (McGuire y col. 1974).

► La **Deficiencia Selectiva de IgM** es una alteración caracterizada por

la ausencia, o muy reducidos niveles de IgM plasmática (Buening y col. 1971, Weldom y col. 1992). La disminución o la ausencia de la IgM es un factor común en muchas enfermedades como la IDC, agammaglobulinemia, uremia, linfosarcoma etc., sólo la asociación de otros síntomas nos permite diferenciar esta inmunodeficiencia. Afecta a animales jóvenes, con historia de infecciones crónicas, con bajos niveles de IgM pero con niveles de IgA, IgG e IgGT normales, y una población normal de linfocitos (Perryman y col. 1977, Perryman 1991). La IgM es el primer anticuerpo producido en la respuesta inmune. Posee una forma pentamérica y diez sitios de unión para el antígeno, lo que contribuye a formar una línea de defensa muy efectiva. Cualquier deficiencia de esta inmunoglobulina, hace débil la primera línea de defensa y el paciente es más susceptible a los procesos infecciosos (Buening y col. 1971, Perryman 1991, Weldom y col. 1992).

Esta alteración puede ser secundaria a la presencia de un linfosarcoma en los caballos adultos, donde los linfocitos T tumorales pueden poseer un potencial inmunorregulador que resulta en una deficiencia de IgM (Perryman y col. 1984, Boy y col. 1992). La etiología de la deficiencia primaria es desconocida aunque se sospecha que posea una base genética, probablemente ligada al cromosoma X (Weldom y col. 1992), que aún no ha podido ser demostrada, por lo que, generalmente, se considera una alteración secundaria a la aparición de otras enfermedades (Perryman 1982).

► En la ***Hipogammaglobulinemia transitoria*** existe una disminución de la síntesis de inmunoglobulinas por el potro (Perryman y McGuire 1980). A los

dos meses de edad el potro debería tener una determinada cantidad de anticuerpos de elaboración propia, independientemente que la transferencia pasiva haya ocurrido o no. Unos bajos niveles de anticuerpos a esta edad, supone un fallo en la autoformación de anticuerpos, existiendo una cantidad normal de linfocitos (McGuire y col. 1975, Perryman y McGuire 1980).

Esta enfermedad es menos importante en los ponys recién nacidos que en los caballos Pura Sangre o Trotón Americano (Bellinghausen 1989).

Las manifestaciones oculares de esta enfermedad no son específicas pero se pueden presentar como uveítis anterior, hyphema, coriorretinitis, desprendimientos de retina y ceguera, ocasionada por daño intraocular o afectación del sistema nervioso (Lavach 1990).

► La **Agammaglobulinemia** es una alteración caracterizada por un fallo para producir linfocitos B funcionales (Perryman y McGuire 1980) e inmunoglobulinas, aunque el número y la funcionalidad de los linfocitos T es normal (Deem y col. 1979). Es una inmunodeficiencia muy poco frecuente y se ha visto asociada a caballos Pura Sangre y Trotón Americano (Deem y col. 1979, Perryman y McGuire 1980). Los signos clínicos generalmente son inespecíficos y los caballos mueren entre los 2 y los 18 meses de edad, con una historia de infección recurrente y poca respuesta al tratamiento (Deem y col. 1979). Su etiología es poco conocida pero se piensa que sea una alteración genética ligada al cromosoma X (Boy y col. 1992).

► La **Deficiencia Selectiva de IgA**, es muy poco frecuente en los caballos. Se caracteriza por la presencia de bajos niveles plasmáticos de IgA,

con concentraciones medias de IgM e IgG normales e incluso, a veces, aumentadas.

Puede no acompañarse de ninguna sintomatología aunque, la mayoría de las veces, hay una predisposición a problemas respiratorios, gastroenteritis y alergias (Tizard 1992). Sólo Targowski (1976) relaciona los procesos diarreicos encontrados en una determinada población de caballos a un déficit de IgA plasmática. Estos caballos además, poseían baja la inmunidad mediada por células.

► Buntain (1981), describe un caso de **Deficiencia Selectiva de IgG** en un potro cruzado con Arabe. Se caracteriza por presentar un número de linfocitos, así como una concentración de IgGT, IgA e IgM normales mientras que la concentración plasmática de IgG, a los 90 días de edad, era anormalmente baja, menor a 337 mg/dl. Esta inmunodeficiencia fue suficiente para predisponer a los potros a salmonellosis, neumonía y muerte.

► Existen otros tipos de inmunodeficiencias que aún no han sido bien establecidas. Se ha descrito un caso particular en un potro Arabe, en el que los niveles de IgM, IgA e IgGT estaban bajos mientras que los niveles de IgG permanecían normales (Boy y col. 1992). Los linfocitos B poseen una baja respuesta siendo normal la de los linfocitos T (Boy y col. 1992). La existencia de estas alteraciones nos demuestran que existen otros tipos de inmunodeficiencias en los caballos, por tanto es importante considerar la posibilidad de que una alteración de este tipo pueda suceder en caballos con historia de infecciones recurrentes y sin respuesta al tratamiento (Perryman 1991).

El sistema inmune depende de la presencia y del normal funcionamiento de los linfocitos T y B. Cualquier alteración que conduzca a la ausencia o al mal funcionamiento de éstos, producirá una enfermedad inmunológica. Los problemas de inmunodeficiencia son frecuentes en el caballo y debe de incluirse en el diagnóstico diferencial de los procesos infecciosos crónicos, tanto de los potros como de los adultos (Perryman y McGuire 1980, Weldom y col. 1990).

□ INMUNIDAD SECRETORA

Cada organismo presenta su primera barrera frente a los microorganismos a nivel de las superficies corporales donde existe una microflora bien adaptada que previene el establecimiento de otros microorganismos menos adaptados y potencialmente patógenos (Tizard 1992).

1. EL FILM LAGRIMAL PRECORNEAL

La estructura física del film lagrimal, así como su composición química, representan la defensa no específica de la superficie ocular y es esencial para el mantenimiento de la córnea y de la conjuntiva (Eichenbaum y col. 1987, Dziezyc 1992).

El film lagrimal es la secreción formada por un conjunto de glándulas que se distribuye sobre la córnea y la conjuntiva formando una lámina cuyo espesor va a variar según la región donde se localice. Su existencia es de importancia vital para la córnea, permite mantener una superficie corneal ópticamente uniforme, eliminar el material extraño de la córnea y conjuntiva, lubricar ambas estructuras, aportar nutrientes a la córnea y controlar el crecimiento bacteriano (Schmidt y Coulter 1981, Lavach 1990).

Posee tres capas:

1) la capa más superficial es la capa lipídica cuya función es evitar la evaporación de la capa acuosa intermedia, y formar una especie de barrera por los bordes palpebrales para que ésta no sea desbordada sobre la piel (Mishima 1965, Eichenbaum y col. 1987, Wyman 1988, Cooley 1992, Moore 1992). Está compuesta de lípidos de baja polaridad formados por las glándulas de Meibomio, principalmente, y por las glándulas de Zeiss en menor proporción (Mishima 1965, Lavach 1990).

2) la capa intermedia es la capa acuosa cuyas funciones son realmente fundamentales: desarrolla un importante papel en el metabolismo de la córnea ya que absorbe oxígeno a través de esta fracción, y recibe la mayor parte de los nutrientes incluyendo sales inorgánicas, glucosa y proteínas que participarán en los mecanismos defensivos, específicos y no específicos, frente a los microorganismos (Eichenbaum y col. 1987, Moore 1992). Por otro lado contribuye a eliminar CO₂ y ácido láctico (Moore 1992).

Está formada por la secreción de la glándula lagrimal principal y de la glándula del tercer párpado (Cooley 1992).

3) la capa profunda, aún más delgada que la capa lipídica, está constituida por mucina producida por las células globosas conjuntivales. Esta mucina permite la adhesión a la córnea y conjuntiva de la capa intermedia ya que las mucoproteínas de esta capa se adhieren por su parte hidrofóbica fácilmente a la superficie epitelial de estas dos estructuras, rellenando las irregularidades de la superficie corneal y por la porción hidrofílica a la capa acuosa del film lagrimal precorneal (Eichenbaum y col. 1987, Cooley 1992,

Moore 1992). Además estas mucoproteínas retienen IgA y lisozima y ayudan a la lubricación e hidratación de la córnea y conjuntiva (Moore 1992).

2. LAS GLANDULAS LAGRIMALES

2.1. La glándula lagrimal principal.

La glándula lagrimal principal es de color gris-rojizo, ovalada, aplanada y lobulada (Schwarze 1979) y mide 5 cm de longitud por 2-3 cm de anchura. Está situada dentro de la órbita, entre el proceso zigomático y la cara dorso lateral del globo ocular (Diesem 1975, Lavach 1990). Su cara superficial es convexa y se adapta a la superficie cóncava inferior del proceso zigomático; la cara interna es cóncava para adaptarse al globo ocular del que está separada por una fascia y puede estar parcialmente cubierta de grasa (Diesem 1975, Lavach 1990). Sus conductos excretores, de 1 a 1,5 mm de longitud y en número de 12 a 16, desembocan en la conjuntiva del párpado superior en su mitad temporal (Diesem 1975, Schwarze 1979, Lavach 1990, Dziezyc 1992).

El aporte sanguíneo proviene de la arteria lagrimal, y está innervada por fibras parasimpáticas del nervio facial (Moore 1992).

Las características estructurales y funcionales de la glándula se ven modificadas por la edad y por el sexo. Las hembras poseen una glándula de menor tamaño, pero de mayor densidad acinar, que los machos. Por otro lado, en los animales adultos, aumenta el depósito de tejido conectivo, la infiltración de células inflamatorias y se produce atrofia acinar (Sullivan y col. 1990).

2.2. La glándula lagrimal del tercer párpado.

El tercer párpado está recubierto por conjuntiva tanto en la cara palpebral como en la cara bulbar. Para darle base anatómica posee un cartílago elástico en forma de T de 3 cm de longitud por 3,5 cm de anchura y cuya morfología se adapta a la superficie ocular (Cooley 1992).

En la base de éste, se halla la glándula lagrimal del tercer párpado envuelta en tejido graso y haciendo prominencia hacia la cara palpebral (Lavach 1990). Es de tipo tubular compuesto (Aureli y Tanzii 1959), y de naturaleza serosa llegando a medir de 1 a 1,5 cm de anchura por 2 a 2,5 cm de longitud (Lavach 1990). Su secreción forma parte, junto a la de la glándula lagrimal principal, de la porción acuosa del film lagrimal vertiendo su contenido en la cara bulbar del tercer párpado a partir de 2 o 3 conductillos secretores (Aureli y Tanzii 1959, Cooley 1992, Millicham 1992).

En los caballos, es posible encontrar un acúmulo de folículos linfoides en la superficie bulbar del tercer párpado que sirven como una nueva fuente de inmunoglobulinas a la lágrima (Lavach 1990, Millicham 1992).

2.3. Las glándulas lagrimales accesorias.

► las **glándulas de meibomio** o glándulas tarsales, se encuentran localizadas en el borde palpebral. En el párpado superior están en número de 40 a 50 y en el inferior, donde son de menor tamaño, en número de 30 a 40. Proporcionan la parte lípidica del film lagrimal precorneal (Lavach 1990, Cooley 1992, Moore 1992).

► las **células globosas conjuntivales** se hallan inmersas en el epitelio conjuntival. Su número es particularmente elevado en los fornix conjuntivales y en la cara palpebral del tercer párpado, en cambio, se reduce considerablemente en la conjuntiva bulbar (Gum 1991, Cooley 1992, Millicham 1992). Contribuyen a formar la capa mucosa profunda del film lagrimal precorneal (Lavach 1990, Cooley 1992, Millicham 1992).

► Nicolas (1914) menciona la existencia de 2-3 acinos glandulares en la conjuntiva tarsal temporal, llamadas **Glándulas de Krause**, aunque no han sido descritas por otros autores (Lavach 1990).

3. EVACUACION DE LA LAGRIMA

La lágrima producida es eliminada por los puntos lagrimales que se encuentran en la conjuntiva palpebral, en la unión mucocutánea, a 5 mm del canto nasal, el inferior, y a 8 mm el superior. Tienen una morfología alargada paralela al borde del párpado y miden de 1 a 3 mm de diámetro (Lavach 1990).

Estos se continúan con los conductos lagrimales de 1,5 cm de longitud el inferior y de 2 cm el superior (Schwarze 1979, Cooley 1992), que convergen en el saco lagrimal manifestado como una dilatación de los dos conductillos. El saco lagrimal ocupa una depresión ósea llamada fosa del saco lagrimal poco desarrollada en el caballo (Lavach 1990).

De esta estructura sale el conducto nasolagrimal de 25 a 30 cm de

longitud y de 2 a 11 mm de diámetro según en el punto en que sea medido (Latimer y col. 1984) ya que existen varias dilataciones durante su recorrido y es a nivel del primer premolar donde se encuentra la mayor de ellas (Lavach 1990). El conducto nasolagrimal sale del canal óseo y sigue por el surco lagrimal del maxilar para desembocar en el ángulo ventral del orificio nasal, justo en el límite preciso entre la mucosa y la piel (Diesem 1975, Schwarze 1979, Latimer y col. 1984, Cooley 1992). A veces, cerca de la desembocadura, existen pequeñas derivaciones de este conducto, muchas de ellas ciegas, que se abren igualmente en la cavidad nasal (Lavach 1990).

4. COMPOSICIÓN DE LA LAGRIMA

La lágrima es el resultado de la unión de todas las secreciones de las glándulas lagrimales (Lavach 1990). La porción acuosa de la lágrima es la que constituye la mayor proporción del volumen total lagrimal conteniendo cantidades variables de agua, sales inorgánicas, glucosa, urea, polímeros activos, glicoproteínas y proteínas, algunas de las cuales son filtradas desde el plasma y otras son secretadas por la glándula lagrimal (Moore 1990). De todas ellas vamos a hacer referencia a las que, de una u otra manera, contribuyen en la defensa, específica o no, de la superficie ocular.

Se han realizado muy pocos estudios a cerca de la composición proteica de la lágrima del caballo (Marts y col. 1977, Davidson y Gerds 1994), en cambio,

éste parámetro ha sido mayor objeto de investigaciones en el hombre y otras especies (Sen y col. 1978, Mii y col 1992, Sack y col. 1992, Davidson y Gerds 1994), la vaca (Butler y col. 1972, Pedersen y Nansen 1972, Arora y col. 1977, Maidment y col. 1985), el perro (Barrera 1989, Ginel 1991) y el gato (Davidson y col. 1992), Tabla XIII. El origen de estas proteínas puede ser plasmático como ocurre con la albúmina, transferrina, ceruloplasmina, haptoglobulina y algunas inmunoglobulinas, o bien pueden ser secretadas y elaboradas por la glándula lagrimal como ocurre con la prealbúmina específica lagrimal, lactoferrina, lisozima e IgA (Moore 1990, Sack y col. 1992). La falta de estudios en la composición proteica lagrimal de las diferentes especies animales ha contribuido a la utilización, como base científica, del patrón proteico lagrimal humano, aunque actualmente se ha observado en los bovinos, caninos y equinos un patrón proteico diferente (Brightman y col. 1991, Davidson y Gerds 1994).

La concentración proteica de la lágrima puede ser modificada por muchos factores que afectan, de forma selectiva, a los diferentes componentes proteicos de ésta. Entre otros factores podemos destacar los procesos inflamatorios que producen un incremento de las proteínas de origen plasmático y una reducción de las proteínas específicas de la lágrima (Mii y col. 1992). Con la edad, la apariencia morfológica de la glándula se modifica y se produce una atrofia acinar. Este cambio conlleva paralelamente una disminución de la producción lagrimal y de la secreción de proteínas. También se han observado cómo la composición proteica de la lágrima puede verse modificada por el sexo. La testosterona actúa aumentando la concentración de IgA en la lágrima sin que se altere el número de células plasmáticas formadoras de IgA (Sullivan y Hann

1989), en cambio los estrógenos, producen un aumento de lactoferrina y otras proteínas específicas de la lágrima, de tal forma que la diferencia hormonal entre machos y hembras puede conducir a diferencias en los mecanismos defensivos del ojo frente a los agentes externos (Mii y col. 1992).

Otro de los muchos factores que pueden influir en la concentración proteica lagrimal, es la técnica utilizada para la recolección de la lágrima, tal que los niveles medios de proteínas son inversamente proporcionales al estímulo necesario para la obtención de la muestra (Fullard y Tucker 1991). En este sentido Sullivan y col. en 1990 observaron cómo en ratas, las hembras poseían un menor volumen lagrimal que los machos lo que suponía una mayor concentración de proteínas lagrimales en éstas.

Bovinos	0,89	Butler y col. 1972
	0,64	Pedersen y Nansen 1972
	0,77 (0,41-1,48)	Maidment y col. 1977
Perros	0,63	Barrera 1989
	0,64 (0,10-2,32)	Ginel 1991
Gatos	0,58 (0,17-1,36)	Davidson y col. 1992
Hombre	0,2	Mii y col. 1992
	0,73	Fullard y Tucker 1991
	0,9	Sack y col.1992

Tabla XIII. Valores medios y/o rangos de proteínas lagrimales (g/dl) en diferentes especies.

4.1. Inmunidad no específica.

Parte de las proteínas de la lágrima, llevan a cabo una acción antimicrobiana **no específica**. Este mecanismo parainmunológico, se encarga de la digestión de las bacterias mediante enzimas lisosomiales como son la lisozima y la lactoferrina, elaboradas por los neutrófilos en la glándula lagrimal, y la β -lisina, elaborada por las plaquetas (Tizard 1992).

▸ La lisozima es la sustancia antimicrobiana más frecuente en la lágrima humana, aunque su proporción varía según las especies y no está presente en la de los bovinos (Brightman y col. 1991). Elaborada localmente por la glándula lagrimal (Eichenbaum y col. 1987), actúa, por un lado, rompiendo los azúcares de los polímeros de peptidoglicanos que forman la pared de las bacterias, sobre todo las Gram positivas y, por otro, facilitando la acción bacteriolítica de la IgA en presencia del complemento (Selinger y col. 1979, Chandler y Guillette 1983).

▸ La β lisina posee un efecto antibacteriano mayor que la lisozima y su acción complementa la de ésta. Es elaborada por las plaquetas en el plasma, desde donde es concentrada y filtrada a la lágrima, o bien es segregada activamente por la glándula lagrimal (Selinger y col. 1979, Eichenbaum y col. 1987). Actúa rompiendo la membrana celular de las bacterias (Selinger y col. 1979).

▸ La lactoferrina posee la capacidad de unirse, de forma reversible y más

estable que la transferrina, a dos átomos de hierro, así como a la IgA, IgG y albúmina (Selinger y col. 1979, Eichenbaum y col. 1987) produciendo un sistema antimicrobiano más poderoso que estas sustancias por separado (Chandler y Guillette 1983). Al unirse al hierro impide que éste sea utilizado en el metabolismo de las bacterias donde es fundamental (Selinger y col. 1979).

4.2. Inmunidad específica:

Principales inmunoglobulinas lagrimales equinas.

Otras proteínas lagrimales llevan a cabo una **acción específica**. Este mecanismo inmunológico es realizado por las inmunoglobulinas.

La detección de anticuerpos en los fluidos oculares ha sido investigado, en distintas especies, en los últimos años aunque son muy pocos los estudios que cuantifican los constituyentes de las lágrimas equinas. El estudio de las inmunoglobulinas lagrimales, tanto en el hombre como en los distintos animales, han revelado que en ellos existen tres tipos de inmunoglobulinas, IgA, IgG e IgM, (Sapse y col. 1969, Pedersen y Nansen 1972, Chandler y col. 1974, Arora y col. 1977, Sen y col. 1978, Glaze y col 1984, Barrera 1989, Ginel 1991, Fullard y Tucker 1991, Wehnmeyer y col. 1991), y una cuarta en el caballo, la IgGT (McGuire y Crawford 1972, Pahud y Mach 1972, Wilkie 1982). La IgA parece ser la inmunoglobulina predominante, pero la identificación de IgM e IgG en la lágrima de los caballos sanos, demuestra que estas otras inmunoglobulinas poseen, también, un importante papel en la defensa de la superficie ocular y

que la IgA no es la única en la lágrima del caballo (Glaze y col. 1984).

El origen de la mayoría de estas inmunoglobulinas es plasmático, pasando por filtración desde los vasos sanguíneos a través de la barrera hematolagrimal, cuya permeabilidad puede verse fácilmente afectada por fenómenos inflamatorios (Eichenbaum y col. 1987). Por otro lado, la diferencia de isotipos y de concentraciones existente entre los niveles de inmunoglobulinas plasmáticas y lagrimales indican la contribución de un sistema de transporte selectivo o de producción local de proteínas (Josephson y Weiner 1968, Frankling y col. 1973, Glaze y col. 1984, Liotet y Morin 1988).

► IgA _____

Al igual que en el hombre (Bluestone y col. 1975, Sen y col. 1978, Selinger y col. 1979, Mii y col. 1992, Sack y col. 1992) y en otras especies domésticas (Pedersen y Nansen 1972, Arora y col. 1977, Barrera 1989, Ginel 1991), la IgA secretora es la inmunoglobulina predominante en la lágrima del caballo (Pahud y Mach 1972, McGuire y col. 1973, Glaze y col. 1984, Gorman y Halliwell 1989, Wilkie 1982), donde se presenta en forma de dímero al igual que en el plasma. El peso molecular de la IgA lagrimal es superior al de la IgA plasmática, ya que posee un componente secretor -SC-, similar al humano, unido a ésta por una cadena J polipeptídica (Pahud y Mach 1972, McGuire y col. 1973). El componente secretor, con un peso molecular de 80.000 daltons, se puede encontrar libre en las secreciones o unido a la IgA, protegiéndola de la acción proteolítica de las enzimas y facilitando la fijación de esta IgA a la superficie de los epitelios (Mercier 1977, Wenhmeyer y col. 1991, Tizard 1992).

La IgA sintetizada por las células plasmáticas, en respuesta a una estimulación antigénica local, se une a un receptor que existe en la superficie basal de la células epiteliales. Ambos son englobados en una vesícula y transportados por toda la célula epitelial hasta la superficie exterior, donde se funde con la membrana plasmática y es liberada a la luz. Este receptor actúa como componente secretor SC y puede hacer el mismo camino sin necesidad de ir ligado a la IgA, por lo que es fácil encontrar SC en forma libre en las secreciones (Tizard 1992). Este mecanismo puede estar regulado por dos interleucinas liberadas por los linfocitos CD4⁺, las interleucinas 5 y 6, que estimulan selectivamente la producción de células plasmáticas formadoras de IgA (Tizard 1992).

La IgA puede neutralizar algunas partículas víricas y bacterianas aunque su función principal es prevenir su adherencia a las superficies epiteliales tal que puedan ser eliminadas con la lágrima (Selinger y col. 1979, Tizard 1992).

Se encuentra fundamentalmente en las secreciones, lágrima, saliva, leche, secreción nasal e intestinal (Vaerman y col. 1971, Pahud y Mach 1972, Wilkie 1982). Los valores medios de IgA en la lágrima equina (Tabla XIV) se encuentran entre los 135 mg/dl (McGuire y col. 1973) y los 200 mg/dl (Pahud y Mach 1972, Wilkie 1982) aunque es posible encontrar valores extremos de 80 mg/dl (McGuire y col. 1973) y 400 mg/dl (Pahud y Mach 1972). La concentración media de IgA en lágrima suele ser superior a la de IgA plasmática (Bluestone y col. 1975, Barrera 1989, Ginel 1991) y generalmente no se modifica con los fenómenos inflamatorios como ocurre con otras inmunoglobulinas especialmente la IgG (Chandler y col. 1974, Mii y col. 1992).

En las demás especies la concentración media de IgA lagrimal varía en un rango muy amplio, de tal forma que es posible encontrar niveles medios de IgA de 10,70 mg/dl en el hombre (Bluestone y col. 1975) y de 388 mg/dl en la vaca (Buttler y col. 1972). Pero estas variaciones no sólo se presentan entre especies si no que dentro de la misma especie es posible encontrar valores medios de IgA muy diferentes según el autor considerado (Tabla XV).

El sexo no parece ser un factor que modifique su concentración lagrimal (Allansmith y col. 1985, Barrera 1989, Ginel 1991) aunque algunos autores como Sen y col. (1978) encuentran una mayor concentración de IgA en las mujeres. Sullivan y Hann (1989), utilizando ratas para su estudio, observan por el contrario, una concentración superior en los machos debido al efecto, que sobre ésta inmunoglobulina, posee la testosterona. Por otro lado, la edad, parece tener una mayor influencia sobre este parámetro, observándose una mayor concentración en los adultos (Allansmith y O'Connors 1970, Pedersen y Nansen 1972, Arora 1977, Sen y col. 1978, Allansmith y col. 1985). Además, se ha observado que en el hombre, los niveles medios de IgA varían significativamente dependiendo del estado ocular. Así, cuando el ojo está cerrado, la IgA representa el 70 p.ciento de las proteínas lagrimales, alcanzando una concentración media de 850 mg/dl, desde unos niveles basales de 85 mg/dl, con la finalidad de realizar un mecanismo compensatorio ante la disminución de la acción protectora físico-química del ojo (Sack y col. 1993), en cambio cuando existe una secreción refleja de lágrima los niveles de esta inmunoglobulina disminuyen (Fullard y Tucker 1991, Sack y col. 1993).

► IgM

La IgM, al ser una molécula de tamaño considerable, no atraviesa fácilmente el endotelio vascular y no es frecuente encontrarla en la lágrima. La capacidad de asociarse al componente secretor (SC), le permite ser transportada de igual forma que la IgA (Franklin y col. 1973, Khaleel y col. 1975, Eichenbaum y col. 1987, Liotet y Morin 1983, Bazin 1990, Fullard y Tucker 1991), por lo que en ciertas ocasiones se encuentra en cantidades variables en la lágrima (Pahud y Mach 1972, McGuire y col. 1973, Glaze y col. 1984, Eichenbaum y col. 1987, Bazin 1990, Fullard y Tucker 1991). Gracias a este mecanismo la IgM puede ejercer una acción compensadora e incrementar su concentración cuando los niveles de IgA en la lágrima son anormalmente bajos (Kuizenga y col. 1990).

En el caballo, la concentración media de IgM varía según los autores consultados, entre los 10,6 mg/dl observados por Glaze y col. (1984) y los 3 mg/dl por Pahud y Mach (1972), aunque otros autores como Wilkie (1982), citen valores medios de 4 mg/dl (Tabla XIV). Debido a su reducida concentración es difícil de determinar (Robert y Erickson 1962, Sapse y col. 1969, Bluestone y col. 1975, Sen y col. 1978, Barrera 1989, Ginel 1991),(Tabla XV). A pesar de esto, la presencia de células plasmáticas formadoras de IgM en la glándula lagrimal humana, así como la presencia de un mecanismo secretor similar al de la IgA para la IgM, son dos hechos que apoyan la existencia de IgM en la lágrima de los individuos sanos (Liotet y Morin 1988, Fullard y Tucker 1991).

► IgG

La siguiente inmunoglobulina de mayor concentración en la lágrima equina es la IgG (Pahud y Mach 1972, McGuire y col. 1973, Wilkie 1982, Glaze y col. 1984) al igual que ocurre en el perro (Barrera 1989, Ginel 1991).

Esta inmunoglobulina no posee una función local ya que no posee capacidad para unirse al componente secretor, por lo que, en condiciones normales, no puede atravesar la barrera epitelial y llega a la lágrima por mecanismos pasivos, pasando a favor de gradiente desde la glándula a la lágrima (Sullivan y col. 1990). A pesar de eso, en inflamaciones oculares agudas, se incrementa la permeabilidad capilar en los tejidos inflamados pasando diferentes tipos de proteínas a través de las paredes de los vasos (Glaze y col. 1984, Theodore y col. 1985) y el nivel medio de IgG se eleva (Chandler y col. 1974, Eichenbaum y col. 1987, Mii y col. 1992) de forma más intensa que la IgA o la IgG_T (Glaze y col. 1984). La presencia de células plasmáticas formadoras de IgG en la glándula lagrimal podría indicar éste como un lugar de síntesis, aunque su concentración este más relacionada con la de proteínas plasmáticas que con la de proteínas específicas de la lágrima (Fullard y Tucker 1991). En aves se ha demostrado la existencia de un paso selectivo y específico de IgG del plasma a la lágrima (Toro y col. 1993). En el caballo (Pahud y Mach 1972, McGuire y col. 1973, Glaze y col. 1984), al igual que ocurre en el perro (Barrera 1989, Ginel 1991), la IgG está presente en la lágrima de los animales sanos en cantidades cuantificables y no correlacionadas con el plasma lo que indicaría, también, la posible existencia de un paso selectivo o un transporte activo (Glaze y col. 1984, Ginel 1991).

Los valores medios de IgG en la lágrima del caballo (Tabla XIV) oscilan entre los 12 mg/dl (Pahud y Mach 1972, Wilkie 1982) y los 15,5 mg/dl McGuire

y col. (1973), con valores extremos comprendidos entre 5 mg/dl (Pahud y Mach 1972) y los 20 mg/dl (McGuire y col. 1973).

Al igual que ocurre con la IgA, la IgG se encuentra en concentraciones variables en las distintas especies aunque el rango en el que varía es menor que para la IgA, y está comprendido entre los 0,36 mg/dl encontrados en el hombre (Fullard y Tucker 1991) y los 75 mg/dl encontrados en los bovinos (Arora y col. 1977). En el perro las dos referencias encontradas citan valores de IgG significativamente diferentes entre sí, 10,81 mg/dl (Barrera 1989) y 23,10 mg/dl, atribuyendo esta diferencia al factor racial (Ginel 1991). En el hombre la IgG no está presente en la lágrima de los individuos sanos (Mii y col. 1992) y aunque ha sido detectada y cuantificada en pequeñas concentraciones (Bluestone y col. 1975, Sen y col. 1978, Fullard y Tucker 1991) se ha atribuido su presencia al método de recolección utilizado (Mii y col. 1992).

Los niveles medios de IgG se incrementan, considerablemente, en la lágrima asociado a los procesos inflamatorios, llegando a multiplicarse por 18 su nivel normal en el caballo (Glaze y col. 1984), por ello, el simple hecho de la recogida de la lágrima en determinadas ocasiones podría suponer un ligero proceso inflamatorio que modificaría los niveles medios de esta inmunoglobulina (Sapse y col. 1969, Bluestone y col. 1975).

El sexo no parece influir en la concentración media de IgG lagrimal (Sullivan y Hann 1989, Sullivan y col. 1990), en cambio si se han detectado menores concentraciones de esta inmunoglobulina en la lágrima de los jóvenes que en la de los adultos (Arora y col. 1977, Sullivan y col. 1990).

► IgGT

La IgGT es una inmunoglobulina poco estudiada en la lágrima del caballo, y por ser específica de éste, no se presenta en el resto de las especies. Al principio esta inmunoglobulina fue considerada homóloga a la IgA por su elevado contenido en carbohidratos y por su presencia en las secreciones corporales (Herbert 1971, Olsen y Krakowa 1989, Tizard 1992). Su concentración media lagrimal es pequeña, 3mg/dl (McGuire y col. 1973, Wilkie 1982), por lo que no siempre ha sido detectada en animales sanos (Glaze y col 1984), Tabla XIV.

En parasitaciones con *Oncocerca cervicalis* es frecuente que exista una elevación de la concentración de IgGT lagrimal junto con un aumento de la IgGa (Glaze y col. 1984).

	IgA	IgG	IgM	IgGT
Pahud y Mach 1972	200 (100-400)	12 (5-20)	3 (2-4)	ND
McGuire y col. 1973	135 (80-170)	15,5 (13-20)	5	3 (1-7)
Wilkie 1982	200	12	4	3
Glaze y col. 1984	166,4	12,8	10,6	NE
Tizard 1992	150			

Tabla XIV. Valores medios y/o rangos de inmunoglobulinas (mg/dl) en la lágrima del caballo. NE: no encontrada, ND: no determinada.

	IgA	IgG	IgM
HOMBRE			
Chander y col. 1974	23-30	0,6-1,2	
Bluestone y col 1975	10,7	<0,38	
Sen y col. 1978	30,7	<1	
Allansmith y col.1985	87		
Fullard y Tucker 1991	193	0,36	1,83
Sack y col. 1992	85		
BOVINOS			
Mach y Pahud 1971	260	30	0,6
Pedersen y Nansen 1972	250	13,9	38,70
Butler y col. 1972	388	54	
Arora y col. 1977 (<8semanas de edad)	29,4	75	
Arora y col.1977 (de 16 a 30 semanas de edad)	78,6	67	
Lefrançoise y Brisson 1987	75	35	
GATO			
Yamada y col. 1984	24	2	4,00
PERRO			
Barrera 1989	24,26	10,81	
Ginel 1991	25,28	23,1	

Tabla XV. Niveles medios de inmunoglobulinas lagrimales (mg/dl) en las distintas especies.

Material y Método

1. POBLACION

Para realizar este trabajo se han utilizado cuarenta caballos, de Pura Raza Española, procedentes de la provincia de Córdoba, 19 machos y 21 hembras, con edades comprendidas entre los 10 y los 156 meses. Cada uno de ellos es sometido a un examen general y a un detallado examen ocular, previo a la obtención de las muestras, para descartar aquellos que presentaran cualquier enfermedad que nos pudiera alterar la prueba. De cada uno obtuvimos una muestra de sangre y otra de lágrima. Los animales estaban desparasitados y vacunados de tétanos e influenza.

2. EXTRACCION Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS

a) Material

Para la extracción de las muestras de sangre se han utilizado jeringuillas de plástico desechable de 10 ml, con heparina "Analema" como anticoagulante.

La muestra de lágrima se ha obtenido sin estimulación previa utilizando microcapilares de 2 milímetros de diámetro y 10 cm de longitud de la casa "Dade, Diagnostic, Inc".

b) Método

La extracción de sangre se realiza mediante punción de la vena yugular. Esta sangre es centrifugada en el laboratorio a 3000 rpm, durante 7 minutos y el plasma se separa en partes alícuotas, envasándolas en tubos Eppendorf, correctamente identificados, que se congelan a -20°C hasta su análisis. Antes de iniciar el procesado de las muestras se dejan descongelar a temperatura ambiente ya que, el calentamiento para conseguir una rápida descongelación, podría alterarnos los resultados (O'Rielly 1993).

Para la extracción de la lágrima no se utiliza ningún método de estimulación (Pahud y Mach 1972) para no introducir posibles factores que nos pudieran modificar la composición de ésta. La lágrima es recogida por capilaridad desde el ángulo interno de ambos ojos, colocando el capilar paralelo a la conjuntiva con el fin de no tocarla y recogiendo la lágrima que se halla acumulada en la carúncula lagrimal. Esta operación se repite varias veces hasta obtener, de ambos ojos en conjunto, un volumen de lágrima suficiente. Una vez envasadas en tubos Eppendorf debidamente rotulados se congelan a -20°C para su posterior análisis.

3. PROCESADO DE LAS MUESTRAS

Para la determinación de las proteínas totales en plasma y lágrima usamos la totalidad de las muestras obtenidas. Para la obtención de los valores medios de las inmunoglobulinas plasmáticas y lagrimales empleamos veintiseis

de las muestras recogidas, ya que estadísticamente comprobamos que a partir de un número de 10 muestras el error cometido era menor al 2,5 p.ciento.

3.1. Proteínas totales plasmáticas.

a. Material

* Suero de referencia con una concentración proteica de 7g/dl de Albúmina sérica bovina elaborada por los laboratorios " CROMATEST ".

* Reactivo Biuret (reactivos CROMATEST, de los laboratorios Knickerbocker)

* Pipeta de precisión de 100µl

* Espectrofotómetro "Shimadzu" UV-visible, modelo 120-02.

* Baño termostático "Selecta", modelo "Tectrom Biomedic 60"

b. Método

El método utilizado para la determinación de las proteínas totales en plasma es el **método colorimétrico de Biuret**. Para ello se colocan 5ml del reactivo de Biuret en tres tubos a los que vamos a rotular como "blanco", "control" y "muestra" y a continuación se le añadirán 0,10 ml de agua bidestilada, suero control y muestra a analizar respectivamente. Se agitan todos los tubos para homogeneizar la muestra y se incuban a 37°C durante 20 minutos. Finalizado este tiempo se dejan reposar 5 minutos a temperatura ambiente y se leen las densidades ópticas (DO) del control y de cada una de las

muestras frente al blanco, a una longitud de onda de 540 nm. La concentración de proteínas, expresada en g de proteínas por dl de plasma se calcula por la siguiente fórmula:

$$\frac{D.O.p}{D.O.c} \times Cc \text{ en g/dl}$$

Siendo: D.O.p, la densidad óptica del plasma
D.O.c ,la densidad óptica del control
Cc la concentración del control

3.2. Proteínas totales lagrimales.

a. Material

* Reactivos:

- Albúmina Sérica Bovina
- Reactivo A: 4gr de Na_2CO_3 + 100 ml de H_2O destilada
- Reactivo B: 3,13 g CuSO_4 + 100 ml de H_2O destilada
- Reactivo C: 5,37 g de tartrato sódico + 100 ml de H_2O destilada
- Reactivo de Proteína: (preparado inmediatamente antes de su uso)

100ml del Reactivo A
1ml del Reactivo B
1ml del Reactivo C

- Reactivo Folin-Fenol: Dilución 1:3 con agua destilada (preparado inmediatamente antes de su utilización y protegido de la luz)

- * Espectrofotómetro "Shimadzu", U-V visible, modelo "120-02"
- * Baño termostático "Selecta", modelo "Tectron Biomedic 60"
- * Tubos de ensayo
- * Pipetas de diferentes volúmenes

b. Método

Para medir las **proteínas totales lagrimales** utilizamos el **método de Lowry** y col.(1957), método de alta sensibilidad que permite detectar proteínas en fluidos donde estas se encuentran en pequeña concentración como ocurre en la lágrima.

En primer lugar se elabora una recta patrón utilizando seis diluciones diferentes de albúmina sérica bovina, realizadas a partir de una concentración base de 10 mg/ml de la misma. A partir de este patrón, se realiza una primera dilución al 1:10 de tal forma que obtengamos una concentración de 1mg/ml y esta última se vuelve a diluir al 1:5 obteniendo una concentración de albúmina de 200µg/ml:

ASB 10mg/ml ----- 1:10 ----- ASB 1mg/ml ----- 1:5 ----- ASB 200 µgr/ml

Utilizamos cinco tubos donde vamos a colocar, a partir de la concentración de 200µg/ml de ASB, las siguientes cantidades:

Tubo 1: 0,05 ml ABS + 0,45 ml H₂O destilada + 5ml de Reactivo de Proteína

Tubo 2: 0,10 ml ABS + 0,40 ml H₂O destilada + 5ml de Reactivo de

Proteína

Tubo 3: 0,20 ml ABS + 0,30 ml H₂O destilada + 5 ml de Reactivo de Proteína

Tubo 4: 0,25 ml ABS + 0,25 ml H₂O destilada + 5 ml de Reactivo de Proteína

Tubo 5: 0,35 ml ABS + 0,15 ml H₂O destilada + 5 ml de Reactivo de Proteína

Tubo B: 0,50 ml de H₂O destilada

Tubo P: 0,05 ml de la muestra* + 0,45 ml de H₂O destilada + 5ml de Reactivo de Proteína

* La muestra utilizada será diluída al 1/10 para lo que cogeremos 0,05 ml de muestra y se completará hasta 0,5 ml con agua destilada.

Es aconsejable procesar todas las muestras en el mismo día con el fin de utilizar la misma recta patrón y reducir al máximo la variabilidad del ensayo.

Se agitan los tubos y se dejan en reposo 45 minutos a temperatura ambiente ó 10 minutos a 45°C.

Transcurrido este tiempo se añade a cada uno de los tubos 0,50 ml del reactivo de Folin-Fenol, se vuelven a agitar todos los tubos y se dejan reposar a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Después se mide la absorbancia frente al blanco a 700 nm en el espectrofotómetro. Con los valores obtenidos de las distintas densidades ópticas y las concentraciones conocidas de cada uno de ellos se elabora una recta de regresión por el método de los mínimos cuadrados a partir de la cual se calculan los valores individuales de cada una de las muestras.

3.3. Cuantificación de inmunoglobulinas en plasma y lágrima.

a. Material

* Placas de Inmunodifusión Radial, comercializadas por los laboratorios "VMRD,Inc" (Veterinary Medical Research & Development) para la cuantificación de:

- . IgA equina tanto en plasma como lágrima
- . IgM equina tanto en plasma como en lágrima
- . IgG equina tanto en plasma como en lágrima.
- . IgG(T) equina tanto en plasma como en lágrima.

Cada una de las placas poseen un antisuero específico en un buffer de agarosa. Poseen menos de un 5 p.ciento de error entre placas para cada inmunoglobulina.

* Inmunoglobulinas referencia (en Acida sódica al 2 %)

Cuatro concentraciones diferentes de las cuatro clases de inmunoglobulinas, elaboradas por los laboratorios "VMRD,Inc" para cada una de las inmunoglobulinas de referencia en plasma y lágrima:

IgA plasmática...38-75-150-300...mg/dl

IgM plasmática...14-28-55-110....mg/dl

IgG plasmática...200-400-800-1600 mg/dl

IgGT plasmática...119-238-475-950 mg/dl

IgA lagrimal...38-75-150-300...mg/dl

IgM lagrimal...2-4-7-14...mg/dl

IgG lagrimal...1,5-3-6-12...mg/dl

IgGT lagrimal...1-2-4-7...mg/dl

b. Método

El método utilizado para cuantificar inmunoglobulinas es la ***Inmunodifusión Radial***. Esta es una técnica clásica de referencia muy específica y cuantitativa que nos permite realizar estudios cinéticos para determinar la concentración del antígeno. Se realiza incorporando a una placa de agar el anticuerpo a una concentración constante e introduciendo en los pocillo realizados en este agar el antígeno. De esta forma se produce una difusión del antígeno alrededor del pocillo, y cuando se alcanza la zona de equivalencia, se crea la precipitación en forma de anillo. A mayor concentración de antígeno, mayor es el halo. Midiendo el diámetro del anillo se puede cuantificar la cantidad de antígeno, a partir de una curva estandar construida con cuatro puntos, obtenidos de la medición de cuatro pocillos con cantidades conocidas de antígeno según la técnica de Fahey y Mckelvie (1965).

Una vez colocada la placa sobre una superficie plana, se procede al sembrado de los estándares de referencia en cuatro de los pocillos, con el fin de construir una recta patrón. La cantidad a depositar en cada uno de los pocillos es de 3 µl, tanto de los estándares como de las muestras problema, teniendo cuidado de no deformarlo y de que el volumen administrado no rebose los bordes y se extienda por el resto del agar.

Una vez sembrados los pocillos se cierra la placa con la tapa y se deja incubar durante 24 horas a temperatura ambiente.

Pasado este tiempo se procede a la lectura de los anillos, para lo que requerimos un visor graduado de 7 aumentos. Con los datos obtenidos vamos a elaborar la recta patrón utilizando el logaritmo de la concentración de los estandares conocidos, según el método de los mínimos cuadrados, para cada una de las placas. A partir de la ecuación de esta recta se calculan las concentraciones de las distintas inmunoglobulinas en mg/dl.

4. ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS

El análisis estadístico de los datos ha sido realizado en el Centro de Cálculos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba utilizando el programa Statgraphics Statical Graphics System (versión 5.0).

En primer lugar se han calculado los siguientes parámetros descriptivos para cada variable teniendo en cuenta los diferentes grupos considerados: media, error estándar de la media (EEM), desviación estándar (DE), valor mínimo (Min), valor máximo (Máx), rango (R) y coeficiente de variación (CV).

Acto seguido y mediante un análisis de varianza con interacción a dos vías, estudiamos las posibles diferencias existentes para cada variable, según el sexo y la edad.

Por último, se obtienen los coeficientes de correlación lineal de Pearson, para determinar las posibles relaciones entre dichas variables separadamente por sexos y edades.

Resultados

1. PROTEÍNAS TOTALES

A. PROTEINAS TOTALES PLASMATICAS

Los parámetros descriptivos para las proteínas totales plasmáticas están recogidos en la Tabla XVI.

El valor medio **Global** de proteínas totales plasmáticas en g/dl obtenidos para el caballo de Pura Raza Española es de $6,72 \pm 0,13$ g/dl con una desviación estándar de 0,85 g/dl lo que indica un grado de dispersión moderado. Los valores están distribuidos dentro de un intervalo de 3,40 g/dl con un valor mínimo de 5,40 g/dl y un valor máximo de 8,80 g/dl.

En los **Machos** el valor medio de proteínas totales encontrado es de $6,82 \pm 0,18$ g/dl con una desviación estándar de 0,76 g/dl, valores que se hallan englobados dentro de un rango de 3,40 g/dl delimitado por un mínimo de 5,40 g/dl y un máximo de 8,80 g/dl. En el caso de los **Hembras** el valor medio es ligeramente inferior al de los machos, con $6,63 \pm 0,20$ g/dl y una desviación estándar de 0,93 g/dl, lo que nos indica que los datos están distribuidos con igual uniformidad. El rango en el que se encuentran englobados dichos datos es de 3,00 g/dl con un valor mínimo de 5,40 g/dl y un máximo de 8,40 g/dl.

Al realizar el estudio de las proteínas totales plasmáticas en los dos

grupos de edad podemos observar como los **Jóvenes** poseen un valor medio similar al de los **Adultos** con $6,74 \pm 0,21$ g/dl y $6,71 \pm 0,16$ g/dl respectivamente y una menor uniformidad en la distribución de los datos como reflejan sus correspondientes desviaciones estándares, 0,98 g/dl para los primeros y 0,71 g/dl para los segundos. En este sentido podemos observar como el rango en el que son distribuidos los datos es mayor en los jóvenes 3,40 g/dl que en los adultos donde solamente es de 3,00 g/dl.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	38	18	20	20	18
Media	6,72	6,82	6,63	6,74	6,71
Error	0,13	0,18	0,20	0,21	0,16
DE	0,85	0,76	0,93	0,98	0,71
Min	5,40	5,40	5,40	5,40	5,40
Máx	8,80	8,80	8,40	8,80	8,40
Rango	3,40	3,40	3,00	3,40	6,40
CV	12,69	11,18	14,14	14,54	10,67

Tabla XVI. Parámetros descriptivos de las proteínas totales plasmáticas (g/dl) en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar un análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad podemos comprobar que no existen diferencias significativas para ninguno de los factores considerados (Tabla XVII).

	Sexo	Edad	Interacción
F	0,39	0,04	2,50
p	0,54	0,83	0,12

Tabla XVII. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

En el análisis de correlación lineal, no hemos encontrado ninguna correlación entre las proteínas totales plasmáticas y las demás variables consideradas.

B. PROTEINAS TOTALES LAGRIMALES

Los parámetros descriptivos para las proteínas totales lagrimales están recogidos en la Tabla XVIII.

El valor medio **Global** de proteínas totales lagrimales en el caballo de Pura Raza Española es de $0,67 \pm 0,04$ g/dl con una desviación estándar de 0,27 g/dl lo que nos indica que los datos no presentan una gran dispersión. El rango en el que varían dichos valores es de 0,94 g/dl, con un mínimo de 0,25 g/dl y un máximo de 1,20 g/dl. En el estudio realizado dividiendo los resultados en grupos podemos observar como, los **Machos**, presentan un valor medio de proteínas totales plasmáticas de $0,57 \pm 0,05$ g/dl, con una desviación estándar de 0,23 g/dl. El valor mínimo de 0,33 g/dl y el máximo de 1,20 g/dl delimitan un rango de 0,86 g/dl. En el grupo de las **Hembras** encontramos un valor medio de proteínas totales superior al de los machos con $0,76 \pm 0,06$ g/dl y con una desviación estándar de 0,29 g/dl. Los valores mínimo y máximo en este grupo son los más alejados, de 0,25 g/dl a 1,20 g/dl, lo que hace que presenten el rango más amplio de 0,94 g/dl.

Los caballos **Jóvenes** presentan un valor medio de proteínas totales en lágrima de $0,55 \pm 0,04$ g/dl, con una desviación estándar de 0,21 g/dl, mientras que los **Adultos** presentan un valor medio superior con $0,80 \pm 0,06$ g/dl y una desviación estándar de 0,28 g/dl. En el caso de los jóvenes los valores se distribuyen entre un mínimo de 0,32 g/dl y un máximo de 1,00 g/dl. Los adultos presentan un rango inferior, entre un mínimo de 0,25 g/dl y un máximo de 1,20 g/dl.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	37	19	18	20	17
Media	0,67	0,57	0,76	0,55	0,80
EEM	0,04	0,05	0,06	0,04	0,06
DE	0,27	0,23	0,29	0,21	0,28
Min	0,25	0,33	0,25	0,32	0,25
Máx	1,20	1,20	1,2	1,00	1,20
R	0,94	0,86	0,94	0,68	0,94
CV	41,04	39,78	31,81	38,89	35,23

Tabla XVIII. Parámetros descriptivos para las proteínas totales lagrimales (g/dl) en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar un análisis de varianza con interacción a dos vías, para cada uno de los grupos considerados, podemos observar que existen diferencias significativas entre machos y hembras ($p= 0,01$) y entre jóvenes y adultos ($p= 0,002$). En cambio la interacción de ambos factores no presenta tales diferencias ($p= 0,62$) lo que nos indica que ambos grupos se comportan de igual forma en esta variación (Tabla XIX).

	Sexo	Edad	Interacción
F	6,46	10,50	0,263
p	0,01	0,002	0,61

Tabla XIX. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

En el análisis de correlación simple realizado entre las proteínas totales plasmáticas y lagrimales, no se observa correlación entre ellas. El estudio de correlación con las demás variables será considerado dentro del estudio

realizado para cada una de estas por separado (Tabla XXXVI).

2. INMUNOGLOBULINAS

A. INMUNOGLOBULINAS PLASMATICAS

▸ IgG

Los parámetros descriptivos para la IgG están recogidos en la Tabla XX.

La concentración media de IgG en el plasma equino es de $1293,55 \pm 77,39$ mg/dl, con una desviación estándar muy elevada, $394,65$ mg/dl lo que nos indica que este parámetro presenta grandes variaciones de un animal a otro.

Al realizar el estudio por sexos, podemos observar que el valor medio de IgG en los **Machos** es superior al de las **Hembras** siendo de $1524,00 \pm 127,18$ mg/dl y de $1124,55 \pm 72,43$ mg/dl respectivamente y que en los primeros los datos se distribuyen de una manera mucho menos homogénea al presentar una desviación estándar de $421,81$ mg/dl frente a los $280,55$ mg/dl que presentan las hembras. Los valores medios en el caso de los machos se hallan registrados dentro de un rango de $1254,25$ mg/dl y de $1158,48$ mg/dl para las hembras.

En el estudio realizado según la edad, se observan diferencias, al igual que en el caso anterior, en los dos grupos considerados. Los **Jóvenes** tienen un valor medio de IgG inferior al de los **Adultos** con $1070,32 \pm 73,33$ mg/dl y $1516,78 \pm 106,19$ mg/dl respectivamente. De igual forma, la dispersión a que se ven sometidos los datos es inferior en los jóvenes con una desviación estándar de $264,42$ mg/dl frente a los $382,88$ mg/dl que presentan los adultos.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	26	11	15	13	13
Media	1293,55	1524,00	1124,55	1070,23	1516,78
Error	77,39	127,18	72,43	73,33	106,19
DE	394,65	421,81	280,55	264,42	382,88
Min	643,40	1076,72	643,40	643,40	1022,68
Máx	2330,97	2330,97	1801,88	1801,88	2330,97
Rango	1687,57	1254,25	1158,48	1158,48	1308,29
CV	30,51	27,67	24,94	24,70	25,24

Tabla XX. Parámetros descriptivos para la IgG plasmática en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar un análisis de varianza con interacción a dos vías para el sexo y la edad, encontramos diferencias significativas para ambos factores, con un valor de $p= 0,003$ para el sexo, y $p=0,0008$ para la edad. Al estudiar conjuntamente ambos factores, se observa como la interacción no es significativa ($p= 0,47$) ya que los dos se ven modificados de igual forma (Tabla XXI) y son los animales adultos, tanto machos como hembras, los que presentan una media más elevada.

	Sexo	Edad	Interacción
F	10,78	15,07	0,53
p	0,003	0,0008	0,47

Tabla XXI. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

El estudio de correlación se realiza separando ambos factores. Para el factor edad, los caballos jóvenes presentan una correlación negativa ($p=0,03$) entre la IgG y la IgGT plasmáticas, con un coeficiente de correlación de Pearson de $-0,59$. Para el factor sexo, observamos como, en los machos, los niveles de IgG plasmática presentan una correlación positiva ($p=0,01$) con un coeficiente de correlación de Pearson de $0,71$ respecto a los niveles de IgA plasmática, en cambio las hembras no presentan ninguna correlación entre la IgG y las demás variables (Tabla XXXVI).

En ninguno de los grupos se ha encontrado correlación entre los niveles de IgG plasmática y los de proteínas totales plasmáticas.

► IgGT_____

Los parámetros descriptivos para la IgGT están recogidos en la Tabla XXII.

La IgGT junto con la IgG representa una de las inmunoglobulinas de mayor concentración en el caballo. El valor medio **Global** encontrado en el caballo de Pura Raza Española es de $1057,17 \pm 145,03$ mg/dl con una desviación estándar de $739,52$ mg/dl, muy elevada, lo que nos indica la gran dispersión a que se ven sometidos los datos. El rango en el que se distribuyen es muy amplio ya que existen unos valores extremos muy dispares $168,25$ mg/dl de mínimo y $2683,05$ mg/dl de máximo.

Considerando cada uno de los grupos podemos observar que el valor

medio de IgGT que presentan los **Machos**, $565,83 \pm 160,13$ mg/dl, es muy inferior al que presentan las **Hembras** con $1417,48 \pm 172,50$ mg/dl. Las desviaciones estándares son igualmente elevadas, con un valor de 531,09 mg/dl para los machos y 668,09 mg/dl para las hembras.

Cuando se comparan los estadísticos obtenidos en animales **Jóvenes** y **Adultos**, la concentración media de IgGT es mayor en los primeros que en los segundos con $1136,77 \pm 188,10$ mg/dl y $977,57 \pm 226,28$ mg/dl respectivamente. La desviación estándar muestra, cómo los datos están más agrupados en torno a la media en los animales jóvenes que en los adultos, y lo mismo se puede deducir si comparamos los valores de la amplitud y del coeficiente de variación (CV) inferiores, ambos, en los animales jóvenes.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	26	11	15	13	13
Media	1057,17	565,83	1417,48	1136,77	977,57
Error	145,03	160,13	172,5	188,10	226,28
DE	739,52	531,09	668,09	678,20	815,89
Min	168,25	168,25	237,85	237,85	168,25
Máx	2683,05	1771,05	2683,05	1898,00	2683,05
Rango	2514,80	1602,79	2445,2	1660,15	2514,80
CV	69,95	93,86	47,13	59,66	83,46

Tabla XXII. Parámetros descriptivos para la IgGT plasmática en los distintos grupos considerados.

En el análisis de varianza con interacción a dos vías realizado por sexos y edades (Tabla XXIII) observamos diferencias significativas entre sexos

(p=0,002) pero no entre edades ni en la interacción.

	Sexo	Edad	Interacción
F	12,42	0,48	3,58
p	0,002	0,50	0,07

Tabla XXIII. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

Para los caballos machos no existe ninguna correlación entre la IgGT y las proteínas totales plasmáticas así como tampoco las presenta con las demás variables. En las hembras es de destacar la fuerte correlación positiva existente entre los niveles de IgGT plasmáticos y los de proteínas totales plasmáticas con un coeficiente de correlación de 0,69 y un nivel de significación de p=0,005 (Tabla XXXVI).

► **IgM**

Los parámetros descriptivos para la IgM están recogidos en la Tabla XXIV.

La IgM en el plasma del Caballo de Pura Raza Española, tiene un valor medio de $56,39 \pm 5,38$ mg/dl y una desviación estándar de 27,45 mg/dl. Los valores registrados oscilan entre un un mínimo de 27,85 mg/dl y un máximo de 125,94 mg/dl.

Los **Machos** presentan una concentración plasmática media de IgM de $44,31 \pm 3,99$ mg/dl, con una desviación estándar de 13,24 mg/dl y un rango de 50,07 mg/dl. El valor medio de IgM encontrado en las **Hembras** es de $65,25 \pm$

8,25 mg/dl, ligeramente superior al mostrado en los machos. La desviación estándar también es superior 31,97 mg/dl y los valores se encuentran comprendidos entre una minusvariante de 27,85 mg/dl y una plusvariante de 125,94 mg/dl.

Los **Jóvenes** poseen un valor medio de IgM de $60,87 \pm 7,95$ mg/dl ligeramente superior a los $51,90 \pm 7,36$ mg/dl encontrados en los **Adultos**. En ambos casos encontramos unos valores de desviación estándar muy similares y con una homogeneidad en la distribución, superior a la encontrada para el factor sexo de 28,66 mg/dl para los jóvenes y 26,56 mg/dl para los adultos.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	26	11	15	13	13
Media	56,39	44,31	65,25	60,87	51,91
Error	5,38	3,99	8,25	7,95	7,36
DE	27,45	13,24	31,97	28,66	26,56
Min	27,84	27,84	27,85	39,24	27,84
Máx	125,94	77,92	125,94	109,8	125,94
Rango	98,09	50,07	98,09	70,56	98,09
CV	48,69	29,89	48,99	47,09	51,17

Tabla XXIV. Parámetros descriptivos para la IgM plasmática en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar un análisis de varianza con interacción a dos vías (Tabla XXV) no hemos encontrado diferencias significativas ni para el factor sexo ($p=0,06$) ni para el factor edad ($p= 0,60$). Completando dicho estudio con la interacción tampoco se encuentran diferencias significativas en ella ($p= 0,40$).

	Sexo	Edad	Interacción
F	3,87	0,32	0,80
p	0,06	0,60	0,40

Tabla XXV. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

En el análisis de correlación lineal no hemos encontrado ninguna correlación entre los niveles de IgM plasmática y los de las demás variables consideradas en el estudio.

► IgA _____

Los parámetros descriptivos para la IgA plasmática están recogidos en la Tabla XXVI.

Al igual que ocurre en las demás especies, la IgA es la que se halla en menor concentración en el plasma. El valor medio **Global** de IgA en los 26 caballos de Pura Raza Española utilizados para el estudio es de $44,92 \pm 3,25$ mg/dl. La desviación estándar es de 16,59 mg/dl valor que nos indica que los valores encontrados individualmente se hallan ligeramente alejados de la media. Los valores oscilan entre un mínimo de 23,59 mg/dl y un máximo de 77,46 mg/dl, es decir con un rango de 53,86 mg/dl.

Los índices descriptivos hallados separadamente para los **Machos** y las **Hembras** muestran una media de $51,22 \pm 5,28$ mg/dl para los machos, siendo

inferior en las hembras con $40,30 \pm 3,81$ mg/dl. Igual ocurre con la desviación estándar que es mayor en los machos con 17,51 mg/dl que en las hembras donde presenta un valor de 14,79 mg/dl. De igual forma podemos observar en el grupo de los machos un rango de 52,45 mg/dl que es ligeramente inferior al de las hembras, donde podemos observar un rango de 53,86 mg/dl.

Por otro lado, los individuos **Jóvenes** presentan una media de concentración de IgA plasmática de $38,07 \pm 3,08$ mg/dl con una desviación estándar de 11,10 mg/dl. Los valores se hallan distribuidos en un rango de 31,84 mg/dl, con un mínimo de 23,59 mg/dl y un máximo de 55,44 mg/dl. En los animales **Adultos** la media es de $51,77 \pm 5,18$ mg/dl superior al resto de las medias anteriormente recogidas, con una desviación estándar de 18,68 mg/dl que es la más elevada, lo que nos indica que la distribución no es muy uniforme y que existen grandes diferencias entre unos individuos y otros. Los valores se encuentran entre un mínimo de 23,59 mg/dl y un valor máximo de 77,46 mg/dl.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	26	11	15	13	13
Media	44,92	51,22	40,30	38,07	51,77
EEM	3,25	5,28	3,81	3,08	5,18
DE	16,59	17,51	14,79	11,10	18,68
Min	23,59	25,00	23,59	23,59	23,59
Máx	77,46	77,46	77,46	55,44	77,46
R	53,86	52,45	53,86	31,84	53,86
CV	36,94	34,19	36,69	29,16	36,09

Tabla XXVI. Parámetros descriptivos para la IgA plasmática en cada uno de los grupos considerados.

En la tabla XXVII podemos observar el análisis de varianza con interacción a dos vías realizado para los valores de IgA plasmática, según el sexo, la edad y su interacción. Existen diferencias significativas entre edades ($p= 0,01$) pero no entre sexos ($p= 0,08$). En el grupo de los machos es donde se presentan las diferencias más acusadas entre jóvenes y adultos mientras que las hembras, jóvenes y adultas presentan valores medios muy similares.

	Sexo	Edad	Interacción
F	3,22	7,90	6,17
p	0,08	0,01	0,02

Tabla XXVII. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

Al existir diferencias significativas entre jóvenes y adultos el análisis de correlación simple se ha realizado separadamente. Ni en los caballos jóvenes, ni en los adultos, existe correlación entre los niveles de IgA plasmática y los de las demás variables consideradas en los dos grupos.

B. INMUNOGLOBULINAS LAGRIMALES

En la lágrima del caballo de Pura Raza Española están presentes, en cantidades variables, todas las inmunoglobulinas estudiadas, si bien algunas no han podido ser detectadas en todos los individuos estudiados.

▸ IgA

Los parámetros descriptivos para la IgA están recogidos en la Tabla XXVIII.

La IgA es la inmunoglobulina que se halla en mayor concentración en la lágrima, con valores que superan los niveles sanguíneos de ésta. El valor medio **Global** en el caballo es de $309,411 \pm 33,70$ mg/dl, con una desviación estándar de 171,86 mg/dl. Este valor se encuentra comprendido entre un mínimo de 82,81 mg/dl y un máximo de 575,77 mg/dl.

En el caso de los **Machos**, el valor medio de IgA es algo inferior al global con $236,70 \pm 31,44$ mg/dl y una desviación estándar de 104,28 mg/dl, en cambio en las **Hembras**, este valor es ligeramente superior con $362,72 \pm 50,18$ mg/dl y con una desviación estándar superior a las observadas anteriormente, 194,36 mg/dl.

Al considerar el factor edad, observamos que los caballos **Jóvenes** presentan una media de $244,83 \pm 45,23$ mg/dl y una desviación estándar de 163,07 mg/dl. El rango es de 492,95 mg/dl con unos valores extremos de

82,81mg/dl y de 575,77 mg/dl. Para los caballos **Adultos**, la media es de 373,98 \pm 44,64 mg/dl, superior a la global lo que indica que en este grupo, al igual que en el de las hembras es donde se dan los valores más elevados. La distribución de los datos presenta una uniformidad similar a las demás con una desviación estándar de 160,96 mg/dl , el rango es de 424,59 mg/dl limitado por un valor mínimo de 151,17 mg/dl y un máximo de 575,77 mg/dl.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	26	11	15	13	13
Media	309,41	236,70	362,72	244,83	373,98
EEM	33,70	31,44	50,18	45,23	44,64
DE	171,86	104,28	194,36	163,07	160,96
Min	82,81	82,81	108,21	82,81	151,17
Máx	575,77	412,14	575,77	575,77	575,77
R	492,95	329,33	467,55	492,95	424,59
CV	55,54	44,05	53,58	66,60	43,03

Tabla XXVIII. Parámetros descriptivos para la IgA lagrimal en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar el análisis de varianza con interacción a dos vías para el sexo y la edad de cada animal (Tabla XXIX), encontramos diferencias ligeramente significativas para el sexo ($p= 0,03$) y la edad ($p= 0,03$) si bien en la interacción no se hacen patentes estas diferencias ($p= 0,93$) con lo que podemos decir que los valores medios de IgA lagrimal se ven modificados de igual forma por ambos factores.

	Sexo	Edad	Interacción
F	5,08	5,22	0,008
p	0,03	0,03	0,93

Tabla XXIX. Análisis de varianza a dos vías con interacción para los factores sexo y edad.

Al realizar el análisis de correlación simple hemos considerado por separado los factores, sexo y edad. Para los caballos machos y hembras existe una correlación positiva, con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,68 y 0,61 respectivamente, entre la IgA y las proteínas totales lagrimales, con un grado de significación de $p=0,02$ para los machos y de $p=0,01$ para las hembras. Al estudiar el factor edad nos encontramos con unos resultados muy similares, los caballos adultos presentan una correlación positiva entre la IgA lagrimal y las proteínas totales lagrimales con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,73 y con un grado de significación de $p=0,004$. En los caballos jóvenes no existe tal correlación, al presentar un coeficiente de correlación de Pearson de 0,49 y el grado de significación de $p=0,08$, en cambio, si está presente en éstos una correlación positiva entre los niveles de IgA e IgG en la lágrima con un coeficiente de correlación de Pearson de 0,60 y un grado de significación de $p=0,04$ (Tabla XXXVI).

► IgM _____

Los parámetros descriptivos para la IgM están recogidos en la Tabla XXX. La segunda inmunoglobulina que se halla en mayor concentración en la

lágrima es la IgM, con un valor medio **Global** de $13,40 \pm 1,17$ mg/dl y una desviación estándar de 5,50 mg/dl lo que nos indica que el grado de dispersión de los datos es moderado. El rango en que se distribuyen es de 18,90 mg/dl con un valor mínimo de 7,28 mg/dl y un valor máximo de 26,19 mg/dl.

En los caballos **Machos**, el valor medio de IgM lagrimal es equivalente al de las **Hembras**, siendo para los primeros de $13,48 \pm 1,88$ mg/dl y para las segundas de $13,33 \pm 1,54$ mg/dl. Igual ocurre con las desviaciones estándares, siendo de 5,94 mg/dl y de 5,36 mg/dl respectivamente, es decir, los grados de dispersión son igualmente moderados.

En los caballos **Jóvenes**, el valor medio de IgM es de $11,50 \pm 0,88$ mg/dl, ligeramente inferior a los $15,29 \pm 2,06$ mg/dl alcanzados en los **Adultos**. La desviación estándar también es menor en los jóvenes 2,94 mg/dl, por lo que observamos que los valores están distribuidos más en torno a la media que los de los adultos, cuyo valor es 6,85 mg/dl.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	22	10	12	11	11
Media	13,40	13,48	13,33	11,50	15,29
EEM	1,17	1,88	1,54	0,88	2,06
DE	5,50	5,94	5,36	2,94	6,85
Min	7,28	7,28	7,28	7,28	7,28
Máx	26,19	26,19	26,19	15,69	26,19
R	18,90	18,90	18,90	8,41	18,90
CV	41,03	44,12	40,22	25,55	44,79

Tabla XXX. Parámetros descriptivos para la IgM lagrimal en cada uno de los grupos considerados.

Cuando valoramos simultáneamente el sexo y la edad (Tabla XXXI), podemos observar cómo, tanto en los machos como en las hembras, son los animales adultos los que presentan valores de IgM superiores, a la vez que presentan índices de dispersión más elevados. Realizando un análisis de varianza con interacción a dos vías de la distribución de IgM en lágrima, por sexo y edad, comprobamos que no existen diferencias significativas en ninguno de los dos grupos, con un valor de $p= 0,95$ para el sexo y de $p= 0,12$ para la edad.

	Sexo	Edad	Interacción
F	0,004	2,65	0,12
p	0,95	0,12	0,73

Tabla XXXI. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

En el análisis de correlación simple, la IgM, no presenta ninguna correlación con las demás variables consideradas en la prueba.

► IgG _____

Los parámetros descriptivos para la IgG están recogidos en la Tabla XXXII.

La IgG ocupa el tercer lugar en cuanto a concentración en la lágrima del caballo de Pura Raza Española. La media **Global** se sitúa en $11,27 \pm 1,49$ mg/dl. El rango es de 20,11 mg/dl, con un mínimo de 1,39 mg/dl y un máximo de 21,51 mg/dl.

Los **Machos** presentan una concentración media de $10,29 \pm 2,47$ mg/dl inferior a la encontrada en el grupo de las **Hembras**, donde el valor medio de IgG es de $12,09 \pm 1,86$ mg/dl. Por otro lado podemos observar, según el valor de sus desviaciones estándares, que los datos en el caso de los machos están distribuidos menos homogéneamente, ya que las desviaciones estándares son de 7,81 mg/dl para los machos y de 6,47 mg/dl para las hembras.

En cuanto a la edad, la diferencia es menos notoria. Los caballos **Jóvenes** tienen unos niveles de IgG de $10,49 \pm 2,10$ mg/dl equiparables a los $12,21 \pm 2,18$ mg/dl encontrados en los **Adultos**. En cambio, los índices de dispersión muestran que los valores de los adultos se distribuyen más en torno a la media que lo hacen los de los jóvenes con unas desviaciones estándares de 6,89 mg/dl y de 7,29 mg/dl respectivamente.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	22	10	12	12	10
Media	11,27	10,29	12,09	10,49	12,21
EEM	1,49	2,47	1,86	2,10	2,18
DE	6,99	7,81	6,47	7,29	6,89
Min	1,39	1,39	3,16	1,39	3,16
Máx	21,51	21,51	21,51	21,50	21,51
R	20,11	20,11	18,34	20,11	18,34
CV	62,06	75,89	53,55	69,47	56,43

Tabla XXXII. Parámetros descriptivos para la IgG lagrimal en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar el análisis de varianza a dos vías con interacción para el sexo y la edad, observamos como ni el sexo ($p=0,56$), ni la edad ($p=0,56$), ni la interacción ($p= 0,90$), ejercen algún tipo de influencia en los valores medio de IgG lagrimal en el caballo de Pura Raza Española (Tabla XXXIII).

	Sexo	Edad	Interacción
F	0,36	0,35	0,01
p	0,56	0,56	0,90

Tabla XXXIII. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

El análisis de correlación simple no muestra ninguna correlación entre la IgG y las distintas variables consideradas.

► IgGT

Los parámetros descriptivos para la IgGT están recogidos en la Tabla XXXIV.

La inmunoglobulina hallada en menor concentración en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es la IgGT con una concentración media **Global**

de $5,76 \pm 0,54$ mg/dl y una desviación estándar de 1,95 mg/dl. Estos valores se encuentran distribuidos entre un mínimo de 2,19 mg/dl y un máximo de 8,60 mg/dl.

Los **Machos** presentan un valor medio de $5,73 \pm 1,17$ mg/dl muy aproximado a los $5,77 \pm 0,64$ mg/dl encontrados en las **Hembras**. Las desviaciones estándares son prácticamente iguales con un valor de 2,03 mg/dl para los machos y de 2,04 mg/dl para las hembras.

Por otro lado los caballos **Jóvenes** presentan un valor medio de IgGT de $5,71 \pm 0,61$ mg/dl con una desviación estándar de 1,83 mg/dl y un rango de 5,20 mg/dl. Los caballos **Adultos** presentan una concentración similar con $5,87 \pm 1,25$ mg/dl, en cambio la desviación estándar es más elevada 2,51 mg/dl lo que nos indica que los datos están menos agrupados en torno a la media.

	Global	Machos	Hembras	Jóvenes	Adultos
N	13	3	10	9	4
Media	5,76	5,73	5,77	5,71	5,87
EEM	0,54	1,17	0,64	0,61	1,25
DE	1,95	2,03	2,04	1,83	2,51
Min	2,19	3,45	2,19	2,19	3,45
Máx	8,60	7,39	8,60	7,39	8,60
R	6,41	3,93	6,41	5,20	5,15
CV	33,97	35,56	35,45	32,09	42,91

Tabla XXXIV. Parámetros descriptivos para la IgGT lagrimal en cada uno de los grupos considerados.

Al realizar un análisis de varianza con interacción a dos vías para el sexo

y la edad, no hemos encontrado diferencias significativas en ninguno de los grupos estudiados con valores de $p= 0,98$ para el factor sexo y de $p= 0,90$ para el factor edad (Tabla XXXV). No ha sido detectada en la lágrima de los caballos machos jóvenes por lo que el estudio de la interacción no ha podido ser realizado.

	Sexo	Edad	Interacción
F	0,00	0,01	–
p	0,98	0,90	–

Tabla XXXV. Análisis de varianza con interacción a dos vías para los factores sexo y edad.

En el análisis de correlación simple realizado para esta inmunoglobulina no se muestra ninguna correlación entre esta variable y las demás consideradas en el estudio.

	MACHOS	HEMBRAS	JÓVENES	ADULTOS	
PT.L	C=0,68 p=0,02	C=0,61 p=0,01	C=0,49 p=0,08	C=0,73 p=0,004	IgA.L
IgG.P			C= -0,59 p=0,03		IgGT.P
IgG.P	C=0,71 p=0,01				IgA.P
IgGT.P		C=0,69 p=0,005			PT.P
IgA.L			C=0,60 p=0,04		IgG.L

Tabla XXXVI. Correlaciones presentadas entre las distintas variables estudiadas para cada uno de los grupos. C: Coeficiente de correlación de Pearson, p = grado de significación, P= plasma, L= lágrima.

1. PROTEINAS TOTALES

1.1. PROTEINAS TOTALES PLASMATICAS

En el caballo de Pura Raza Española hemos encontrado una concentración media de proteínas totales plasmáticas de $6,72 \pm 0,13$ g/dl. Este valor coincide con los 6,72 g/dl citados por Coles (1986), y es muy similar a los 6,6 g/dl hallados por Kristensen y Firth (1977), y Mussman y Rubiano (1970). Es ligeramente inferior a los 7,1 g/dl citados por Jennings y Mulligan (1953), a los 7,3 citados por Hort (1968), Osbaldiston (1972), y Rumbaugh y col. (1982) y a los 7,53 por Kirk (1975). El valor medio superior lo aporta Baetz y Pearson (1972) con 7,7 g/dl. Por otro lado, nuestro nivel medio es algo mayor al citado por Mattheews y col. (1966) con 6,47 g/dl y por Littlejohn (1968) con 6,1 g/dl. Con estos valores podemos observar cómo, el nivel medio de las proteínas totales plasmáticas, es un parámetro bastante constante en el caballo (Tabla I).

El rango en el que varían los valores de proteínas plasmáticas encontrados por nosotros en el caballo de Pura Raza Española, está

determinado por un valor mínimo de 5,4 g/dl y un máximo de 8,8 g/dl (Tabla XVI). Cifras similares han sido aportadas por otros autores así Ricketts (1987), aporta un valor mínimo de 4,7 g/dl, y Kirk (1975) aporta un valor máximo de 8,5 g/dl. La amplitud de los rangos aportados por los diversos autores ronda los 2 g/dl, aunque los valores extremos de estos varíen. Mussman y Rubiano en 1970, aportan un rango que varía entre 5,4 g/dl y 7,2 g/dl, menos de 2 g/dl. Esto puede ser debido al reducido número de animales utilizados en el trabajo, siete, y a que todos ellos estaban sometidos a iguales condiciones medioambientales, de manejo y alimentación.

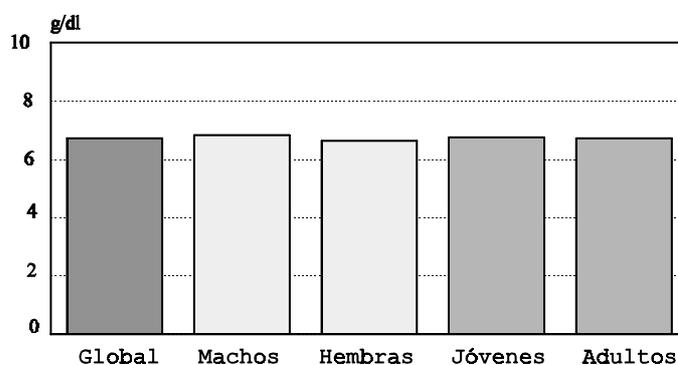
Por otro lado, Makimura y col (1975), encuentran que el rango, de 1 g/dl, es similar en caballos jóvenes y adultos, aunque sus valores extremos varíen. Si consideramos la unión de ambos grupos, el rango obtenido para el Pura Sangre, varía entre 5,8 g/dl y 7,7 g/dl. Este rango es ligeramente más estrecho que el nuestro, y al igual que en el caso anterior, la raza y las condiciones de manejo y alimentación, ya que son animales controlados y estabulados, pueden explicar esta diferencia.

En cambio, el rango aportado por Kristensen y Firth (1977) es muy similar al nuestro, con casi 3 g/dl, y unos valores extremos de 5,4 g/dl y 8,20 g/dl. Esto puede ser debido a las características de la muestra utilizada: 50 caballos sanos, de diferente raza, sexo, edad y lugar de origen, lo que amplía la variabilidad de la muestra.

Muchos factores pueden influir en el valor de proteínas totales plasmáticas, como el sexo, la edad, el estado fisiológico, la alimentación y el método analítico empleado (Dimopoulos 1970). Las técnicas laboratoriales utilizadas para la determinación de las proteínas totales plasmáticas son

múltiples. De todas ellas, nosotros hemos utilizado el método de Biuret que es el más empleado para la medición de este parámetro en cualquier especie, y está minimamente influenciado por cambios en otros componentes plasmáticos.

No hemos encontrado diferencias significativas en cuanto al sexo ($p=0,54$) (Tabla XVII, Gráfica 2). La mayoría de los autores aportan el valor medio de proteínas totales plasmáticas del caballo, sin hacer referencia al sexo, aunque las hembras han sido mayor objeto de estudio debido a los problemas inmunitarios del potro. Si comparamos nuestro valor obtenido en hembras, de $6,63 \pm 0,20$ g/dl con los de los demás autores, podemos observar cómo es prácticamente igual a los 6,87 g/dl citados por Makimura y col. (1975) y ligeramente inferior a los 7,3 g/dl aportados por Rumbaugh y col. (1982).



Gráfica 2. Valores medios de proteínas totales plasmáticas en cada uno de los grupos estudiados.

Tampoco la edad modifica los valores de proteínas totales plasmáticas en el caballo de Pura Raza Española (Tabla XVII, Gráfica 2). La mayoría de los autores consultados observan un incremento de los niveles medios de

proteínas plasmáticas del potro durante los primeros meses de vida hasta que alcanza los niveles adultos (Decazes 1984, Genin y Clement 1989). Una vez que el potro adquiere unos niveles estables, ninguno de los autores consultados señalan una elevación de las proteínas plasmáticas con la edad. Así, al igual que nosotros, Makimura y col. (1975) no observan diferencias significativas al comparar su grupo de animales jóvenes con el de los adultos, aunque el valor medio de estos últimos fuera ligeramente mayor.

La mayoría de los autores utilizan caballos adultos para obtener sus medias de proteínas totales plasmáticas. Si comparamos estos valores con el obtenido en nuestros caballos adultos 6,71 g/dl (Tabla XVI), podemos observar cómo, al igual que con el valor Global, son muy similares. Igual ocurre con los caballos jóvenes, donde el valor medio obtenido, de 6,74 g/dl es parecido al encontrado por Makimura y col (1975) con 6,30 g/dl.

1.2. PROTEINAS TOTALES LAGRIMALES

En la lágrima del caballo de Pura Raza Española existe una concentración de proteínas totales de $0,67 \pm 0,04$ mg/dl. No hemos encontrado, en la bibliografía consultada, ningún autor que aporte valores medios de proteínas totales lagrimales en el caballo y pocos autores estudian este parámetro en las otras especies. En medicina humana, por el contrario, los estudios acerca de este parámetro son más amplios.

Nuestros resultados son similares a los encontrados en el vacuno por Pedersen y Nansen (1972), con 0,64 g/dl y en el perro por Barrera (1989) y Ginel (1991) con 0,63 g/dl y 0,64 g/dl respectivamente. Valores superiores han sido reseñados por Butler y col. (1972) y Maidment y col. (1985) en el vacuno, con 0,89 g/dl y 0,77 g/dl respectivamente, e inferiores por Davidson y col. (1992) en el gato con 0,58 g/dl. En el hombre los resultados son más dispares pudiendo variar entre 0,2 g/dl aportados por Mii y col. (1992) y los 0,9 g/dl por Sack y col. en el mismo año (Tabla XIII).

Al estudiar los rangos establecidos, por algunos de los autores, para las diferentes especies observamos como estos son más amplios que los obtenidos por nosotros, que oscilan entre 0,25 g/dl y 1,20 g/dl. Así, en el gato, el contenido proteico lagrimal varía entre 0,17 g/dl y 1,36 g/dl (Davidson y col. 1992) y en el perro, entre 0,10 g/dl y 2,32 g/dl (Ginel 1991). Sólo Maidment y col (1985), en los bovinos, señalan un rango similar al nuestro, con un valor mínimo de 0,41

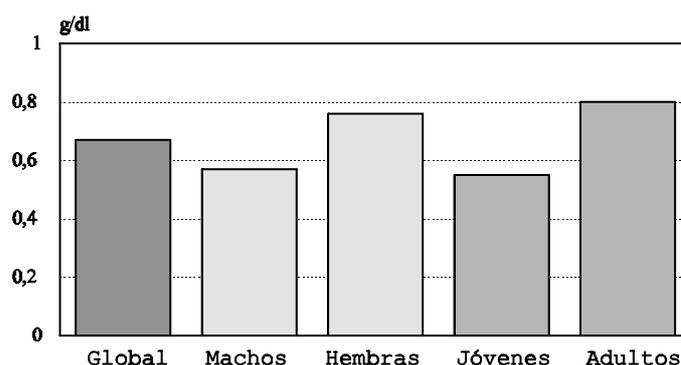
g/dl y un valor máximo de 1,48 g/dl.

Las pequeñas diferencias encontradas en la concentración media de proteínas en la lágrima, según la especie y autor considerado dentro de cada una de ellas, pueden ser atribuidas, en cierto grado, al método utilizado para la recolección de la lágrima así como a la técnica analítica empleada. Los métodos de recolección empleados, generalmente, suelen producir un aumento reflejo de la cantidad de lágrima secretada, con lo cual se produciría una dilución de las proteínas existentes. Otros métodos pueden producir un variable grado de inflamación lo que podría llevar consigo un diferente paso de proteínas a la lágrima que en condiciones normales no se produce, con lo que los resultados obtenidos a partir de ellas, tampoco serían los reales. Debido a ello, hemos utilizado el método del capilar, que evita ambas posibilidades cuando se utiliza correctamente y nos garantiza la obtención de unos valores de proteínas totales en lágrima acordes con los fisiológicos.

Otro de los factores que influyen en la concentración de proteínas totales lagrimales del caballo de Pura Raza Española es el sexo (Tabla XIX y Gráfica 3). Nuestros resultados indican una concentración significativamente superior en las hembras que en los machos ($p= 0,01$). Estos resultados podrían ser consecuencia, como ya señalaran Sullivan y col. (1990) en ratas, de la mayor densidad acinar que posee la glándula lagrimal de las hembras, lo que supondría una mayor participación en la concentración proteica de ésta, aunque estudios similares no han sido descritos en el caballo. Por otro lado, estos mismos autores señalan una menor producción de lágrima en las hembras, lo que supondría una concentración relativa de proteínas en la lágrima de éstas. Mii y col. (1992) encuentran que, en las mujeres, los niveles medios de

determinadas proteínas lagrimales son significativamente superiores que en los hombres, concluyendo que existe una regulación hormonal en la formación de proteínas en la lágrima y que, particularmente los estrógenos, inducen un aumento significativo de los niveles medios de proteínas lagrimales en las hembras, por tanto, para este autor, existiría una diferencia sexual en la capacidad defensiva del segmento anterior del ojo frente a los procesos infecciosos (Mii y col. 1992). Sullivan y Hann (1989) observan en ratas, que la testosterona controla la formación y concentración de IgA en la lágrima, sin que afecte a ninguna otra proteína, y así en los machos, encuentra niveles superiores de esta inmunoglobulina en la lágrima que en las hembras. En cambio ni Barrera (1989), ni Ginel (1991), trabajando con perros observan diferencias para este factor.

Estas diferencias inducen a pensar en que el factor sexo, puede actuar de forma diferente en los niveles medios de proteínas lagrimales, en las distintas especies.



Gráfica 3. Comparación de los niveles medios de proteínas totales lagrimales en los distintos grupos considerados.

La edad es otro de los factores que influye en la concentración media

proteica lagrimal del caballo de Pura Raza Española (Tabla XIX y Gráfica 3). Nuestros resultados indican la presencia de una concentración de proteínas significativamente mayor, en la lágrima de los animales adultos, que en la de los animales jóvenes ($p=0,002$) coincidiendo con lo observado por Sullivan y col.(1990) en humanos, aunque otros autores como Barrera (1989) y Ginel (1991), ambos en perros, no encuentran diferencias para este factor.

La ausencia de correlación entre las proteínas totales plasmáticas y lagrimales corrobora que el contenido proteico de la lágrima equina no es de exclusivo origen plasmático.

2. INMUNOGLOBULINAS

2.1. INMUNOGLOBULINAS PLASMATICAS

► IgG

La concentración media de IgG obtenida en el plasma del caballo de Pura Raza Española es de $1293,55 \pm 77,39$ mg/dl. Este valor coincide con los indicados por la mayoría de los autores, así Rouse (1971) aporta para el caballo Pura Sangre un valor medio de IgG de 1227 mg/dl, McGuire y col. (1973) y Olsen y Krakowka (1983) aportan un valor de 1334 mg/dl, Kent y Blackmore (1985b) de 1200 mg/dl, y O'Rielly (1993) cita un valor medio de 1352,9 mg/dl. Cercanos a estos, están los 1500 mg/dl observados por McGuire y Crawford (1973) y Wilkie (1982), y los 1640 mg/dl detectados por Makimura y col. (1975). Los valores más alejados están recogidos por Pahud y Mach (1972) con 1800 mg/dl, Rumbaugh y col. (1982) con 2069 mg/dl y Andrews y col. (1990) con 2222 mg/dl. Tan sólo Rouse (1971) encuentra un valor inferior al nuestro con 1065 mg/dl en el Pony de Shetland (Tabla III).

Al comparar los rangos aportados por diversos autores (Tabla III), con el nuestro 1687,57 mg/dl, podemos observar cómo son igualmente amplios. Rouse (1971) aporta un rango de 1430 mg/dl para el caballo Pura Sangre y de 1190 mg/dl para el Pony de Shetland, Nansen y Riising (1971) encuentran un intervalo más reducido con 910 mg/dl, McGuire y col. (1973) lo establecen en

1200 mg/dl, para Makimura y col. (1975), el rango es de 1350 mg/dl, para Rumbaugh y col. (1982) de 1550 mg/dl. Los rangos más extremos son los señalados por Andrews y col. (1990) con 3075 mg/dl y Pahud y Mach (1972) con 300 mg/dl.

Esta variabilidad entre los valores normales de IgG dentro de una misma especie, y dentro de una misma experiencia, nos ratifica que existen grandes variaciones individuales, como ya señalara LeBlanc y col. (1986), y que realmente deben de ser muchos factores los que intervengan en los niveles medios de inmunoglobulinas plasmáticas.

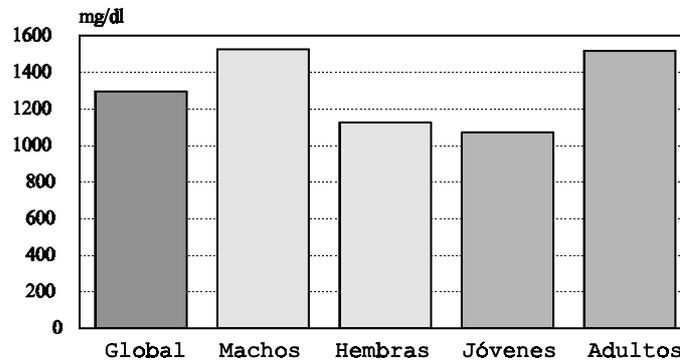
Al igual que se ha demostrado en otras especies (Penhale y Christie 1969, Ginel 1991), los valores medios de inmunoglobulinas plasmáticas en el caballo pueden variar según la raza estudiada como ya expusimos en la revisión bibliográfica. Muy pocos autores realizan estudios comparativos de los niveles de inmunoglobulinas en caballos de distintas razas, tan sólo Rouse en 1971 entre Pura Sangre y Pony de Shetland, Ek en 1974 entre caballos de raza Døle y Fjord, y Genin y Clement (1989) entre caballos Pura Sangre y de Tiro Francés, llegan a similares conclusiones al no encontrar diferencias significativas entre sus niveles medios de IgG. A pesar de ello, muchos factores contribuyen en el valor medio definitivo de una inmunoglobulina, entre ellos el factor racial. Al estar genéticamente controlado, no nos es posible extrapolar los resultados obtenidos por estos autores ya que ninguno de ellos utiliza el caballo de Pura Raza Española en sus estudios.

Ripatti y col. (1990) observan variaciones significativas de los niveles plasmáticos de IgG con los factores medioambientales, encontrando niveles

superiores en los animales estabulados, donde la ventilación es menor y la carga antigénica se incrementa, que los que se mantienen no estabulados. Le Blanc y col. (1992), por su parte, indican que en aquellos caballos expuestos a la acción de las radiaciones solares, poseen niveles plasmáticos superiores de IgG.

Los diferentes factores que modifican los niveles medios plasmáticos de IgG en el caballo, pueden explicar las variaciones existentes entre los distintos autores.

Hemos encontrado diferencias significativas entre machos y hembras ($p=0,003$) con 1524 ± 127 mg/dl y $1124 \pm 72,43$ mg/dl respectivamente (Tablas XX, XXI y Gráfica 4). Ninguno de los autores consultados hacen referencia al sexo como un factor que modifique los valores medios de inmunoglobulinas plasmáticas y utilizan, indistintamente, machos y hembras como grupo control con el que contrastar sus resultados. Penhale y Christie (1969) encuentran estas mismas diferencias en los bovinos, particularmente para la IgG, con valores más elevados para los machos indicando una posible influencia hormonal para la aparición de estas diferencias lo que podría explicar también las diferencias halladas en nuestro caso. En cambio en el perro no se han observado diferencias entre machos y hembras para la IgG, lo que nuevamente nos induce a pensar que el sexo, es un factor que actúa de forma diferente entre las distintas especies en la regulación del sistema inmunitario.



Gráfica 4. Comparación de los valores medios de IgG plasmática en los distintos grupos considerados.

También hemos observado que la edad es un factor que modifica, significativamente, los niveles de IgG en el caballo de Pura Raza Española ($p=0,0008$) ya que los caballos adultos, poseen una concentración media de 1516,78 mg/dl frente a los 1070,32 mg/dl hallados en los jóvenes (Tabla XX, XXI y Gráfica 4). Este hecho ha sido también constatado por otros autores como Ek (1974), al encontrar diferencias significativas en los valores medios para ambos grupos de edad, con 1470 mg/dl para los adultos, y 1070 mg/dl para los jóvenes (Tabla XI). Nansen y Riising (1971), Makimura y col. (1975) y Genin y Clement (1989), coinciden también al observar cómo, la concentración media de IgG se eleva progresivamente con la edad del animal.

Considerando las diferencias significativas entre jóvenes y adultos, podemos observar cómo nuestra concentración media de IgG en los adultos, coincide en mayor grado con los valores citados por los demás autores ya que estos utilizan animales adultos en sus estudios, así podemos observar cómo los

1516,78 mg/dl del caballo de Pura Raza Española son similares a los 1500 mg/dl aportados por Nansen y Riising (1971), McGuire y Crawford (1973), y Wilkie (1982); algo inferiores a los 1640 mg /dl aportados por Makimura y col. (1975) aunque aún se hallen alejados de los 1800 mg/dl, 2069 mg/dl y 2222 mg/dl encontrados por Kohn y col. (1989), Rumbaugh y col. (1982) y Andrews y col. (1990) respectivamente. De igual forma podemos observar cómo, los 1070 mg/dl encontrados en nuestro grupo de animales jóvenes, coinciden con los 1070 mg/dl encontrados por Ek (1974) en sus caballos jóvenes y los 1090 mg/dl encontrados por Nansen y Riising (1971) y son algo inferiores a los 1197 mg/dl encontrados, de igual forma, en el grupo de los jóvenes, por Makimura y col. (1975).

► IgGT

En el caballo de Pura Raza Española la concentración media plasmática de IgGT es de $1057,17 \pm 145,03$ mg/dl. Este valor es similar a los 948 mg/dl encontrados por Ek (1974) para el Pony de Shetland y ligeramente superior a las medias citadas por los demás autores, de 705 mg/dl por Rouse (1971), 821 mg/dl por McGuire y col. (1973), 619 mg/dl por Makimura y col. (1975), 700 mg/dl por Wilkie (1982), a los 710 mg/dl por Kent y Blackmore (1985a) y a los 820 mg/dl citados por Olsen y Krakowka (1988). Los valores más bajos son los señalados por McGuire y Crawford (1973) con 283,6 mg/dl y Rosue (1971) con 162 mg/dl en Pura Sangre (Tabla IV).

Ante estos resultados, podemos observar cómo, el valor medio plasmático de IgGT en el caballo de Pura Raza Española, aunque algo superior, está en consonancia con los aportados por la mayoría de los autores.

Los valores medios de inmunoglobulinas en general, y de IgGT en particular, están influenciados por la raza, edad y medio ambiente (Rouse 1971, McGuire y col. 1973, Ek 1974, Makimura y col. 1975, Kent y Blackmore 1985a).

Rouse (1971) encuentra diferencias raciales significativas entre los niveles de IgGT del Pura Sangre y del Pony de Shetland, aunque señala que los dos grupos de caballos no estaban sometidos a idénticas condiciones medioambientales y de manejo. Por el contrario, Ek (1974) al comparar otras dos razas diferentes de caballos, manteniendo iguales las condiciones medioambientales y de manejo, no obtienen diferencias significativas, por lo que señala que las diferencias raciales obtenidas por Rouse (1971) pudieran ser condicionadas por esos factores. Al considerar pues, que los niveles medios de

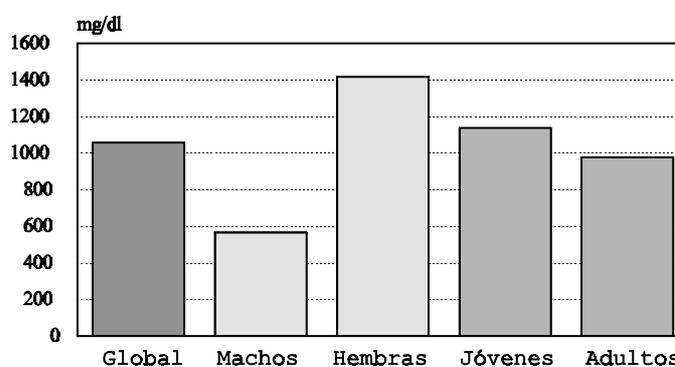
IgGT pudieran estar influenciados por la raza de caballo estudiada, no podemos comparar nuestros resultados con propiedad ya que son los primeros que se publican en el caballo de Pura Raza Española. De esta forma, enfrentaremos nuestros resultados con los obtenidos para otras razas por los diferentes autores consultados, siempre con la salvedad de las variaciones intrínsecas para este factor.

Las modificaciones que se producen en los niveles medios de IgGT según las condiciones de manejo y alimentación también han sido resaltadas por otros autores. Así, Kent y Blackmore (1985a), observan cómo la concentración de IgGT en el plasma de los caballos sometidos a régimen abierto, es superior a la de los estabulados (Tabla XII). Este hecho parece estar relacionado con la mayor susceptibilidad de los caballos en régimen abierto a padecer parasitaciones, lo que, como ya ha sido señalado por Patton y col. (1978), induce un aumento significativo de los niveles de IgGT. Quizá habría que considerar que las muestras procedían de hembras, posiblemente gestantes, ya que habían sido remitidas para realizar un diagnóstico de gestación. Si tenemos en cuenta que los niveles medios de IgGT aumentan, sobre todo, en el primer tercio de la gestación como señalan Makimura y col. (1975), sería difícil atribuir, exclusivamente, al medioambiente estas diferencias.

Por otro lado los niveles medios de esta inmunoglobulina se elevan marcadamente en los caballos que han sido vacunados con el toxoide tetánico (Tizard 1992), como ocurre en nuestra población.

En cuanto al sexo, la variación existente entre nuestro valor medio global y los citados por los distintos autores consultados, podría asociarse a las

diferencias significativas entre los niveles medios de IgGT de los machos y los de las hembras ($p=0,002$) como podemos observar en la Tabla XXIII y en la Gráfica 5. Para los machos encontramos una media de 565,83 mg/dl, frente a los 1417,48 mg/dl registrados en las hembras. No tenemos datos con los que comparar nuestros resultados ya que, en la revisión bibliográfica efectuada, no aparece considerado este factor. Pero, el hecho de que el número de machos utilizados en nuestro estudio sea inferior al de las hembras, once y quince respectivamente, pueden explicar el hecho de que nuestro valor medio Global de IgGT sea superior a los señalados por la mayoría de los autores. Esta mayor concentración de IgGT en las hembras, podría asociarse, como ya señalara Makimura y col. en 1975, a la presencia de varias hembras gestantes en nuestro estudio, las cuales sabemos presentan niveles medios de IgGT superiores.



Gráfica 5. Comparación de los valores medios de IgGT plasmática entre los distintos grupos considerados

La edad no es un factor que modifique los valores medios de IgGT en el caballo de Pura Raza Española (Tabla XXIII y Gráfica 5). Coincidimos en este

sentido, con Makimura y col. (1975), aunque sus resultados no sean totalmente valorables, ya que su grupo de caballos adultos, estaba constituido exclusivamente por hembras, mientras que en los jóvenes no realiza esta separación, y como hemos visto, el sexo modifica, significativamente los niveles medios de IgGT. Ek (1974) observa cómo los caballos jóvenes, poseen un nivel significativamente superior de IgGT que los adultos y la considera una inmunoglobulina fundamental en los jóvenes. Este autor elimina los factores raza, mediambiente y manejo en sus resultados, por lo que es razonable pensar que estas diferencias se deban exclusivamente a la edad. En el caballo de Pura Raza Española, los valores medios de IgGT también son superiores en los animales jóvenes, aunque no significativamente, que en los adultos, por lo que podríamos decir que las concentraciones medias de IgGT evolucionan de forma diferente con la edad en las distintas razas estudiadas, como ya indicara Rouse (1971) para el Pony de Shetland y el Pura Sangre.

No existe ninguna correlación entre esta inmunoglobulina y las demás inmunoglobulinas plasmáticas en el caballo, tan sólo las hembras, presentan una correlación positiva con los niveles de proteínas totales plasmáticas lo cual puede estar relacionado con ser la inmunoglobulina de mayor concentración en este grupo.

► IgM _____

La concentración media de IgM plasmática que hemos obtenido para el caballo de Pura Raza Española es de $56,39 \pm 5,38$ mg/dl. Este valor es inferior a los valores aportados por Pahud y Mach (1972) de 180 mg/dl, McGuire y col. (1973) con 120 mg/dl, McGuire y Crawford (1973) de 128,3 mg/dl, Makimura y col. (1975) con 206 mg/dl, Rumbaugh y col. (1982) con 85,2 mg/dl, Olsen y Krakowka (1983) con 120 mg/dl y Kohn y col. (1989) con 136,4 mg/dl. (Tabla V).

Si comparamos los resultados obtenidos por los distintos autores, podemos observar una similitud entre los 120 mg/dl aportados por McGuire y col. (1973) y Olsen y Krakowka (1983), los 128,3 mg/dl por McGuire y Crawford (1973) y los 136,4 mg/dl por Kohn y col. en 1989, a pesar de que fueron obtenidos en experiencias diferentes, con razas diferentes y en grupos de diferente sexo. En cambio, los datos aportados por Rumbaugh y col. (1982) y Makimura y col. (1975) son realmente diferentes, con 85,2 mg/dl y 206 mg/dl respectivamente, ambos en hembras adultas de distinta raza. Es difícil que el factor raza origine estas diferencias puesto que otros autores han obtenido cifras muy parecidas entre sí con razas diferentes. Pensamos que pueda tratarse de un parámetro con amplias variaciones, incluso individuales, como ya señalara Kohn y col. (1989) en su trabajo al obtener, para esta inmunoglobulina un rango delimitado por un mínimo de 24,4 mg/dl y un máximo de 1341 mg/dl.

Comprobamos pues, que el valor medio de IgM encontrado por nosotros es menor que el aportado por el resto de los autores (Tabla V). En los caballos

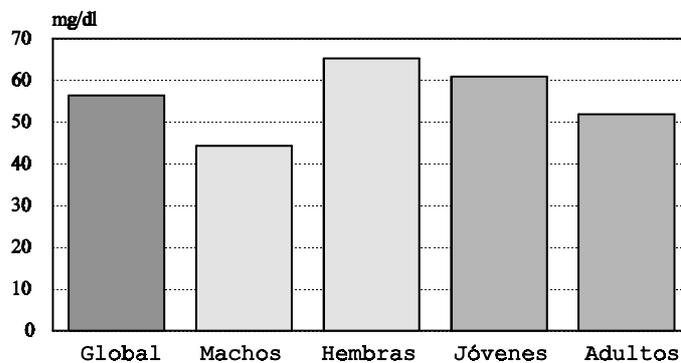
son frecuentes los problemas de inmunodeficiencias y entre ellos es posible encontrar una deficiencia selectiva de IgM. Esta alteración afecta, indistintamente, a machos y hembras de razas Arabe y Cuarto de Milla y se caracteriza por presentar niveles medios de IgM no detectables mientras que el resto de parámetros inmunológicos están normales. Generalmente se presenta, bien en caballos jóvenes, que inician una sintomatología respiratoria y en los que suele aparecer de forma secundaria a un linfosarcoma, o bien en potros afectados con infecciones recurrentes que no remiten y que retrasan el crecimiento del animal terminando con la muerte (Buening y col. 1971, Perryman y col. 1977, 1984, Perryman 1991, Boy 1992)

Todos los caballos de nuestro trabajo, independientemente de la edad, presentaban menores niveles de IgM que los aportados por el resto de los autores y en ninguno de los casos se presentó ningún signo de enfermedad, permaneciendo en excelentes condiciones de salud durante el periodo transcurrido desde la toma de las muestras.

Las diferencias raciales existentes en los niveles medios de inmunoglobulinas plasmáticas en el caballo, nos impide comparar nuestro valor con otros autores, ya que ninguno de los consultados estudia y aporta datos sobre el caballo de Pura Raza Española. Ante este hecho podemos indicar, que esta raza posee un nivel medio de IgM menor que las razas contempladas por los demás autores consultados en nuestro trabajo y que posteriores estudios sobre este hallazgo serían necesarios para atribuir que papel juega el factor genético en estas diferencias.

El sexo y la edad no modifican, significativamente, los niveles medios de

IgM en el caballo de Pura Raza Española (Tabla XXV y Gráfica 6). En la revisión bibliográfica efectuada, no hemos encontrado ningun autor que estudie la influencia del sexo sobre los niveles plasmáticos de inmunoglobulinas en el caballo, tan sólo Makimura y col. (1975) observan, con respecto a la edad, cómo los niveles medios de IgM tienen una tendencia a subir progresivamente con ésta aunque no llegan a alcanzar valores significativamente diferentes.



Gráfica 6. Comparación de los valores medios de IgM plasmática entre los distintos grupos considerados.

► IgA

La concentración media de IgA en el caballo de Pura Raza Española es de $44,92 \pm 3,25$ mg/dl. Este valor es inferior a los encontrados por los demás autores (Tabla VI), los cuales establecen un valor medio que varía entre los 200 mg/dl señalados por Pahud y Mach (1972), los 153 mg/dl por McGuire y col. (1973), los 150 mg/dl aportados por Olsen y Krakowka (1983), los 305,2 mg/dl por Kohn y col. (1989) y es muy similar a los 43,88 mg/dl indicados por Johnson y col. (1994).

El motivo por el que los valores medios de IgA plasmática varían tanto, entre los distintos autores y aún dentro de la misma experiencia (Kohn y col. 1989, Perryman y McGuire 1980) es incierto. Cualquiera de los factores que, como hemos señalado anteriormente, modifican los valores medios de las demás inmunoglobulinas, pueden modificar el de la IgA, aunque esta inmunoglobulina queda relegada a un segundo término en los estudios realizados por la mayoría de los autores, enfocando su atención hacia la IgG e IgGT primordialmente.

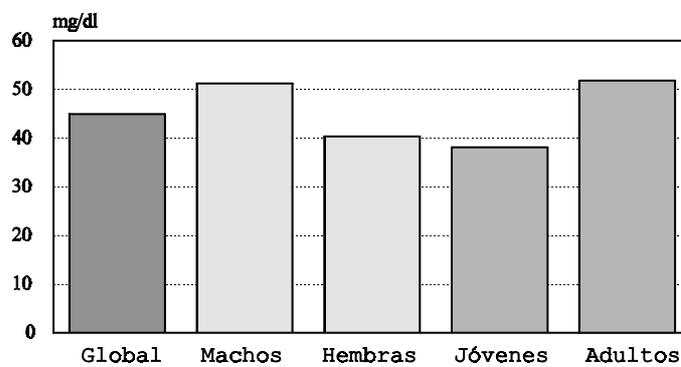
Los problemas de inmunodeficiencias son muy frecuentes en el caballo pero la deficiencia selectiva de IgA no se suele presentar con tanta frecuencia como las demás. Sólo Targowski (1976) describe una inmunodeficiencia selectiva de IgA en el caballo que cursaba con problemas gastrointestinales y observa cómo esta deficiencia de IgA se acompañaba con unos elevados niveles de IgG y niveles normales del resto de las inmunoglobulinas.

Al igual que hemos señalado para la IgM, ninguno de los animales utilizados en la experiencia presentaba ningún signo de enfermedad por lo que no hemos establecido ninguna relación entre los niveles plasmáticos de IgA obtenidos en el caballo de Pura Raza Española y una inmunodeficiencia selectiva de IgA.

No hemos encontrado diferencias significativas entre sexos para nuestra raza en estudio (Tabla XXVII y Gráfica 7), y ninguno de los autores consultados considera las variaciones que pudiera sufrir este parámetro entre machos y hembras. Tan sólo Johnson y col. (1994) contribuyen en este sentido al aportar que los estrógenos y la progesterona no modifican los niveles medios plasmáticos de IgA.

En cambio nuestros niveles medios de IgA varían significativamente con la edad (Tabla XXVII). Los valores superiores se presentan en los animales adultos como ya se había descrito en perros (Glickman y col. 1988).

Al igual que hemos observado con las demás inmunoglobulinas ninguno de los parámetros estudiados presentaban correlación con la IgA.



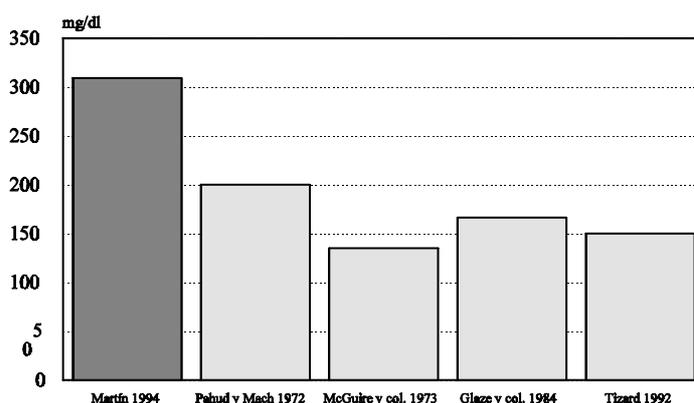
Gráfica 7. Comparación de los niveles medios de IgA plasmática entre los distintos grupos considerados.

2.2. INMUNOGLOBULINAS LAGRIMALES

Las escasas referencias halladas en la revisión bibliográfica sobre inmunoglobulinas en la lágrima del caballo, junto con el bajo número de muestras empleadas por la mayoría de los autores para realizar las determinaciones, hacen que los niveles aportados necesiten de un estudio más profundo.

►IgA

La IgA es la inmunoglobulina que se halla en mayor proporción en la lágrima del caballo de Pura Raza Española con un valor medio global es de $309,41 \pm 30,70$ mg/dl. Este valor es superior al encontrado por Pahud y Mach (1972) con 200 mg/dl, a los 135 mg/dl encontrados por McGuire y col. (1973), a los 166,40 mg/dl citados por Glaze y col. (1984) y a los 150 mg/dl citados por Tizard (1992) (Tabla XIV y Gráfica 8).



Gráfica 8. Comparación de los niveles medios de IgA en la lágrima del caballo entre los distintos autores.

Pahud y Mach (1972) han sido los primeros autores en identificar la presencia de IgA secretora en la lágrima del caballo estableciendo un nivel medio de 200 mg/dl a partir de las muestras obtenidas de sólo 6 caballos. McGuire y col. (1973) aportan un nuevo valor medio de IgA en la lágrima de 135 mg/dl basándose en los resultados obtenidos de 4 muestras. La diferencia encontrada entre nuestros niveles de IgA y los aportados por estos autores, pueden residir en el bajo número de animales usados por ellos, sin especificar el sexo, la edad y otros factores. Sólo Glaze y col. (1984) estudian los niveles medios de inmunoglobulinas a partir de un número considerable de caballos, con muestras de lágrima recolectadas mediante la utilización de una esponja de celulosa. Esta esponja, introducida en el fornix conjuntival, absorbe la lágrima durante un corto periodo de tiempo transcurrido el cual, será extraída y tratada para la obtención de la lágrima. Este método de recolección puede inducir, por un lado, una secreción refleja lagrimal, al actuar como cuerpo extraño dentro del ojo, lo que conduciría a una disminución de la concentración de los valores medios proteicos de la lágrima, particularmente de la IgA (Bluestone y col. 1975, Sack y col. 1992). Por otro lado, la obtención de la lágrima con este método, supone una nueva pérdida de proteínas al quedar adheridas a la esponja (Lefrançoise y Brisson 1987).

Otro de los factores que podría contribuir a las diferencias halladas es la utilización de razas diferentes, lo que puede provocar la aparición de resultados desiguales como ya había sido postulado, para la IgG, por Ginel (1991) en el perro. Todos estos factores juntos pueden contribuir a la menor concentración de IgA, con respecto a la nuestra, encontrada por estos autores.

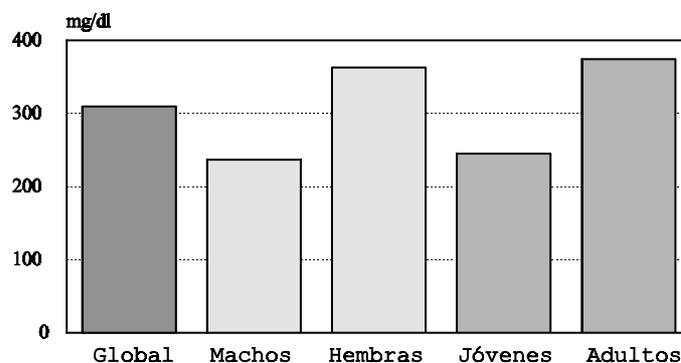
La IgA varía con un amplio margen entre las distintas especies, desde los

10,70 mg/dl hallados en el hombre (Bluestone y col. 1975), hasta los 388 mg/dl encontrados en los bovinos (Butler y col. 1972), e incluso dentro de la misma especie, los valores que obtienen los diferentes autores son muy dispares. En este sentido se ha considerado que la lágrima humana posee una concentración media de IgA que varía entre 10,70 mg/dl (Bluestone y col. 1975) y 193 mg/dl (Sack y col. 1992), y en los bovinos desde 78,60 mg/dl (Arora y col. 1977) hasta 388 mg/dl (Butler y col. 1972). Estas diferencias, dentro de la misma especie, pueden estar ocasionadas por el método de recolección de la lágrima, así como por el tipo de técnica analítica utilizada para determinar su concentración. Los niveles medios permanecen más estables si la recolección y tratamiento de las muestras son similares. A esta conclusión llega Ginel (1991) al contrastar sus resultados en perros de raza Galgo Español, con los de Barrera (1989), en perros cruzados, en los que se obtienen medias de 25,28 mg/dl y 24,26 mg/dl respectivamente. En el hombre, los niveles medios de IgA lagrimales aportados por los distintos autores, han ido aumentando progresivamente con los años al utilizar técnicas analíticas mucho más sensibles y precisas y unos métodos de recolección más fiables.

Otro de los motivos que puede influir en la presencia de estas diferencias es el medioambiente, ya que la carga antigénica a que se ven sometidos los animales varía con el entorno y en consecuencia la respuesta inmunitaria ocular también varía.

Si separamos nuestros caballos por sexo y edad, podemos observar cómo en hembras y animales adultos, los valores medios son más elevados que en machos y animales jóvenes. No podemos contrastar estos resultados puesto que, en las experiencias aportadas, ninguno de los autores establece grupos por sexo o edad.

En nuestro trabajo hemos observado que la concentración de IgA lagrimal, en el caballo de Pura Raza Española, es significativamente superior ($p= 0,03$) en las hembras que en los machos (Tabla XXIX y Gráfica 9). Estos resultados difieren de lo señalado en el hombre por Allansmith (1985) y en el perro por Barrera (1989) y Ginel (1991) ya que estos autores no consideran que el sexo sea un factor que influya sobre los niveles medios de IgA lagrimal. Uno de los motivos que pueden explicar la mayor concentración de IgA en la lágrima de las hembras, es el señalado por Sullivan y col. (1990) al observar, que en las ratas, las hembras producen menor cantidad de lágrima que los machos, lo que supondría una mayor concentración relativa de proteínas en ésta. Se conoce que existen diferentes características morfológicas y estructurales de la glándula lagrimal entre machos y hembras y que las hormonas influyen sobre el contenido proteico lagrimal, pues en las ratas los andrógenos actúan promoviendo una mayor concentración de IgA en la lágrima de los machos (Sullivan y Hann, 1989; Sullivan y col., 1990). El hecho de que hallamos obtenidos niveles significativamente superiores en las hembras, al igual que señalaran Sen y col. (1978) en el hombre, nos induce a pensar que, en distintas especies, el nivel de IgA lagrimal puede estar regulado por los estrógenos, aunque esta hipótesis necesita estudios más profundos. A este respecto, Johnson y col. (1994) citan que en las ratas, los estrógenos inducen un aumento de los niveles medios de IgA y de SC en las secreciones uterinas lo que podría tomarse como base para estudios similares en el caballo de Pura Raza Española.



Gráfica 9. Comparación de los valores medios de IgA lagrimal entre los distintos grupos considerados.

También hemos encontrado valores significativamente superiores en los adultos (Tabla XXIX y Gráfica 9) aunque el grado de significación, como ocurre en el caso anterior, no sea muy elevado ($p= 0,03$). De igual forma, en el hombre, (Sen y col. 1978, Allansmith 1985), en bovinos (Arora y col. 1977) y en el perro (Ginel 1991) se ha observado cómo los niveles medios de IgA en la lágrima aumentaban con la edad. Esto, pensamos que puede ser debido a la reducción de la cantidad de lágrima producida como consecuencia de la atrofia acinar de la glándula lagrimal del adulto (Sullivan y Hann 1989), lo que no afecta a la producción lagrimal de IgA (Wehnmeyer 1991) así, la concentración media de IgA podría sufrir un aumento relativo en la lágrima de estos individuos. De igual forma, en el hombre, Sack y col. (1992) observan cómo en aquellos estados en los que existe una reducción significativa del volumen lagrimal, como ocurre durante la noche, la concentración de IgA se eleva considerablemente.

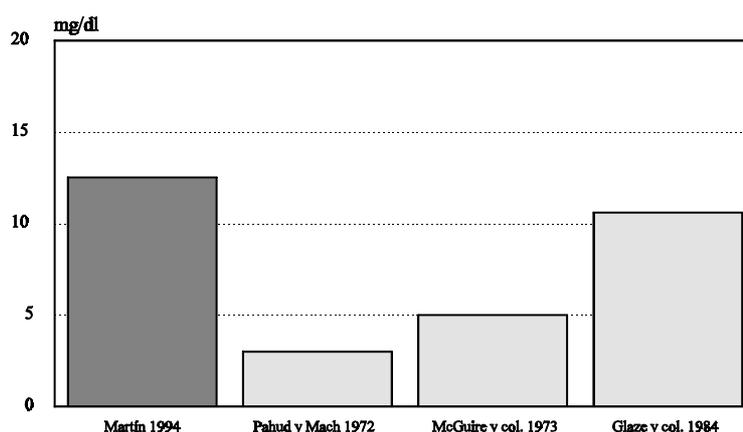
Al existir diferencias significativas entre machos y hembras, y jóvenes y adultos, los estudios de correlación se han realizado separando dichos grupos.

En todos ellos se presenta una correlación positiva entre la IgA y las proteínas totales lagrimales, al igual que señalaran Barrera (1989) y Ginel (1991) ambos en perros. Estos autores relacionan la correlación positiva con la mayor concentración lagrimal de la IgA llegando a suponer en nuestro caso el 91 p.ciento de las inmunoglobulinas detectadas en la lágrima.

En los caballos jóvenes, existe una correlación positiva entre los niveles de IgG e IgA en la lágrima. Este hecho podría sugerir la existencia de un transporte selectivo conjunto para ambas inmunoglobulinas, como ya indicara Ginel (1991) en perros de raza Galgo Español, aunque para ello,tendría que presentarse dicha correlación en los demás grupos.

► IgM

El caballo de Pura Raza Española posee en la lágrima una concentración media de IgM de $13,40 \pm 1,17$ mg/dl. Este valor es similar al encontrado por Glaze y col. (1984) de 10,66 mg/dl y algo superior a los encontrados por Pahud y Mach (1972) y McGuire y col. (1973) de 3 mg/dl y 5 mg/dl respectivamente (Tabla XIV y Gráfica 10). Las marcadas diferencias que los valores aportados por estos dos últimos autores, presentan con los de Glaze y col. (1984) y los nuestros podrían estar ocasionadas, como ya hemos señalado anteriormente, por el reducido tamaño de muestra utilizado. Este hecho es aún más marcado en el trabajo de McGuire y col. (1973) ya que sólo detectan IgM en una de las 4 muestras estudiadas, por lo que no es posible considerarlo como un valor medio. En cambio nuestro valor medio se acerca más al obtenido por Glaze y col. (1984) a partir de un número considerable de caballos. La similitud existente entre nuestro valor y el de estos autores nos induce a pensar que la raza no es un factor que modifique los valores medios de IgM en la lágrima del caballo.

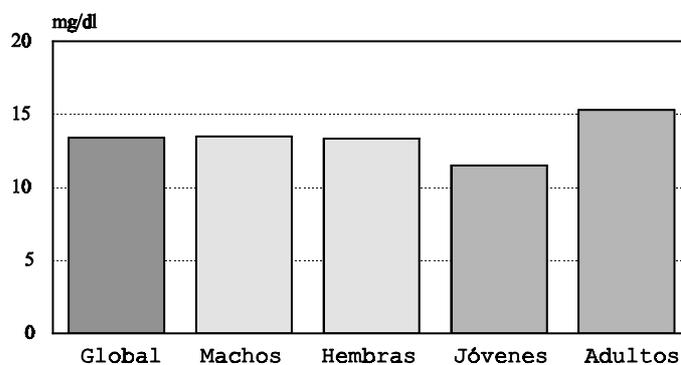


Gráfica 10. Comparación de los niveles medios de IgM en la lagrima del caballo entre los distintos autores.

La IgM se presenta de forma irregular en la lágrima del hombre y algunas especies, y en la mayoría de ellas, la concentración es tan baja que dificulta su determinación como ocurre en el perro y en los bovinos (Robert y Erickson 1962, Bluestone 1975, Arora y col. 1977, Sen y col. 1978, Selinger y col. 1979, Barrera 1989, Gorman y Halliwell 1989, Fullard y Tucker 1991, Ginel 1991), aunque en esta última especie se han llegado a detectar concentraciones que varían entre 0,60 mg/dl (Mach y Pahud, 1971) y 38,70 mg/dl (Pedersen y Nansen, 1972). En el gato, se encuentra una concentración de 4 mg/dl (Yamada y col., 1987) y es, al igual que en nuestro caso, la segunda inmunoglobulina de mayor concentración en la lágrima.

Ante estos resultados parece razonable considerar que la IgM se presenta normalmente en la lágrima de las distintas especies, a excepción del perro, en cantidades variables. El hecho de que, en el perro no se halla detectado esta inmunoglobulina, podría ser debido a la técnica de recolección utilizada por los dos autores considerados, ya que ambos, producen al estimular mediante vapores de cebolla, una secreción refleja lagrimal con la consiguiente dilución de las proteínas lagrimales. Esto podría dificultar su cuantificación si los valores normales son reducidos.

Ninguno de los autores consultados consideran la influencia del sexo o la edad sobre los niveles medios de IgM en la lágrima. Nosotros no hemos observado que ninguno de estos factores modifique la concentración media de IgM en el caballo de Pura Raza Española (Tabla XXXI y Gráfica 11)

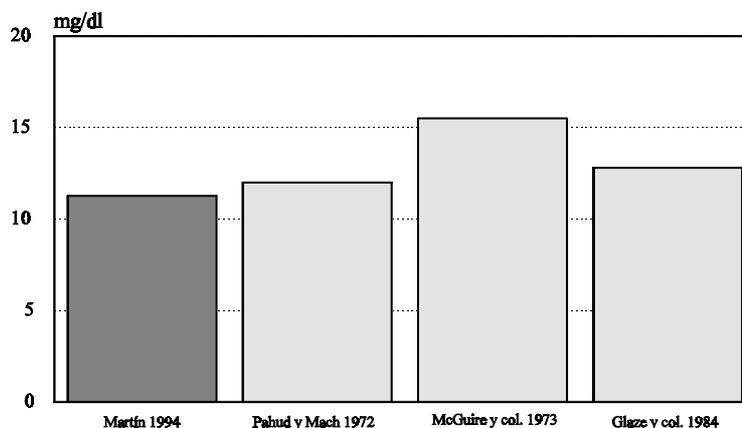


Gráfica 11. Comparación de los valores medio de IgM lagrimal entre los distintos grupos considerados.

No presenta correlación con la IgM plasmática por lo que su presencia en la lágrima parece estar ligada a la existencia de un transporte activo (Franklin y col. 1973, Liotet y Morin 1983), en parte posiblemente explicado por su capacidad de unirse al componente secretor lo que le permite atravesar las superficies epiteliales y compensar el déficit de IgA en la lágrima (Kuizenga y col. 1990).

► IgG

La tercera inmunoglobulina en concentración en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es la IgG cuyo valor medio es de $11,27 \pm 1,49$ mg/dl. Este valor es similar a los 12 mg/dl obtenidos por Pahud y Mach (1972) y ligeramente inferior a los 12,80 mg/dl citados por Glaze y col. (1984) y a los 15,50 mg/dl obtenidos por McGuire y col. (1973). Si observamos la similitud entre los resultados obtenidos para la IgG en la especie equina, podemos pensar que la raza, el medioambiente, las condiciones de manejo y demás factores que difieren entre las distintas experiencias, no modifican significativamente los valores lagrimales de este parámetro (Tabla XIV y Gráfica 12).



Gráfica 12. Comparación de los niveles medios de IgG en la lágrima del caballo entre los distintos autores.

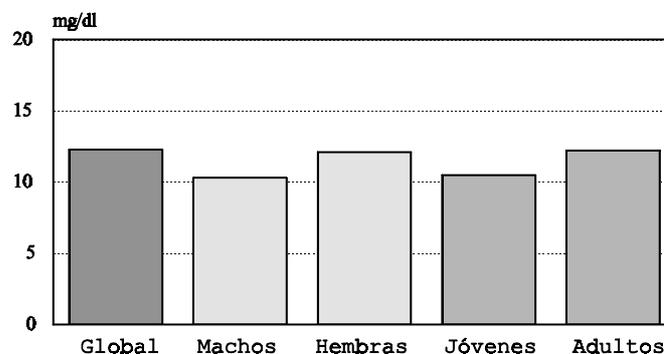
La IgG también está presente en la lágrima de las demás especies. En los bovinos y en el perro, la cantidad de IgG en la lágrima es superior a la del caballo, pudiendo encontrarse valores medios de hasta 75 mg/dl (Arora y col. 1977) en los bovinos, y de hasta 23,10 mg/dl en el perro. En el gato, por el

contrario, la concentración media de IgG es menor que en el caballo, con tan sólo 2 mg/dl (Yamada y col. 1984). En el hombre la presencia de IgG en la lágrima normal, difiere entre los distintos autores considerados. Mii y col (1992) consideran que la IgG, en condiciones normales, no se halla en la lágrima humana, en cambio la mayoría de los autores coinciden al observar que está presente, aunque en concentraciones muy reducidas, alrededor de 1 mg/dl, lo que muchas veces dificulta su detección. Esta idea es apoyada por Fullard y Tucker (1991) al determinar que la ausencia de IgG es consecuencia de la dilución producida por la estimulación lagrimal.

Si consideramos todo lo expuesto anteriormente podríamos concluir que la IgG realiza su función defensiva también en la lágrima, llegando a ser cuantitativamente tan importante como la IgA en algunas especies, como el perro y los bovinos, y de menor importancia en el hombre y en otras como el gato y el caballo (Tablas XIV y XV).

Ginel (1991) hace referencia a la diferente concentración que puede presentar la IgG en la lágrima según la raza en estudio, al comprobar que el Galgo Español, posee un valor medio significativamente superior al de los perros cruzados. La similitud existente en los valores aportados por diversos autores, parece indicarnos que la raza, no es un factor que modifique la concentración media de IgG en la lágrima del caballo.

El sexo y la edad no modifican los valores de IgG en la lágrima del caballo de Pura Raza Española (Tabla XXXIII y Gráfica 13). Ninguno de los autores consultados hacen referencia al efecto que pudieran tener estos factores sobre las inmunoglobulinas lagrimales equinas y utilizan indistintamente caballos de diferente sexo y edad.



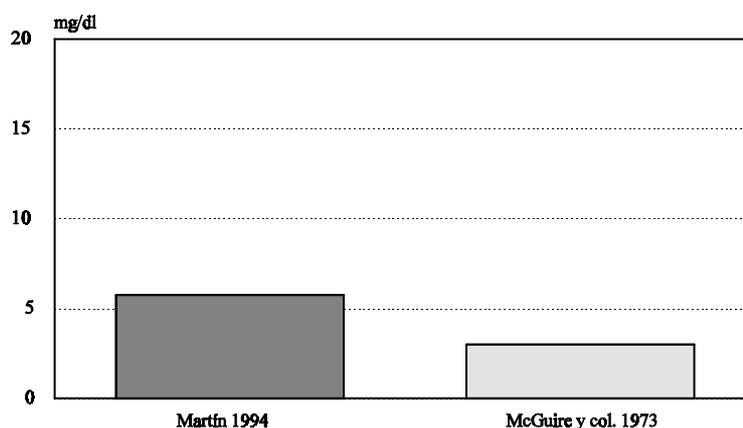
Gráfica 13. Comparación de los valores medios de IgG lagrimal entre los distintos grupos considerados.

Coincidimos con Barrera (1989) y Ginel (1991), ambos en el perro, al no observar variaciones significativas con el sexo o la edad en la concentración media de IgG lagrimal. Tan sólo Arora y col. (1978) contemplan que esta inmunoglobulina se eleva progresivamente desde el nacimiento hasta las 8 semanas de edad.

Los niveles lagrimales y plasmáticos de IgG en el caballo de Pura Raza Española, no están correlacionados, por ello parece probable que su origen no sea, exclusivamente, por filtración del plasma si no que incluimos la posibilidad de un transporte selectivo o secreción activa, como ya indicaran Glaze y col. (1984) y Ginel (1991). Además la ausencia de correlación con las demás inmunoglobulinas lagrimales parece indicar que estos mecanismos de transporte sean independientes para cada una de ellas.

► IgGT

La IgGT la hemos detectado sólo en el 50 p.ciento de las muestras analizadas. Es la inmunoglobulina de menor concentración en la lágrima del caballo de Pura Raza Española, con un valor medio de $5,76 \pm 0,54$ mg/dl. Este valor es similar a los 3 mg/dl encontrados por McGuire y col. (1973) en cuatro caballos, en cambio Glaze y col. (1984) no encuentran IgGT en condiciones normales en la lágrima de esta especie (Tabla XIV y Gráfica 14).

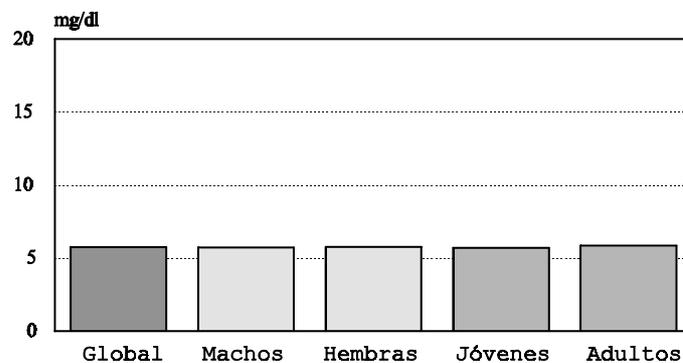


Gráfica 14. Comparación de los niveles medios de IgGT en la lágrima del caballo entre los distintos autores considerados.

La similitud existente con el valor medio hallado por McGuire y col. (1973) en el Pony de Shetland, y el encontrado por nosotros en el caballo de Pura Raza Española, podría hacernos pensar que la raza no es un factor que influya en los valores medios lagrimales de IgGT. Sin embargo, es difícil llegar a esta conclusión debido al tamaño de la muestra considerada por estos autores y a que, al ser experiencias diferentes, factores como las condiciones

de manejo y medioambientales, así como el método de recolección y la técnica analítica empleada pueden modificar los resultados finales obtenidos. Estos y otros factores pueden contribuir a que difiramos con Glaze y col. (1984), en cuanto a la presencia de IgGT en la lágrima del caballo. Para estos autores, la detección de IgGT en la lágrima, obedece a la presencia de fenómenos inflamatorios, como puede suceder tras una parasitación con *Oncocerca cervicalis*. En cambio, nuestros resultados apoyan la teoría de que la IgGT puede estar presente en las secreciones (Tizard 1992).

No hemos observado que el sexo o la edad (Tabla XXXV y Gráfica 15), modifiquen los valores de IgGT lagrimales en el caballo. No podemos comparar nuestros resultados al respecto debido, por un lado, a la especificidad de la IgGT para la especie equina, y por otro, a que ninguno de los autores estudian la relación de estos factores con los niveles de IgGT.



Gráfica 15. Comparación de los niveles medios de IgGT entre los distintos grupos considerados.

En el estudio de correlación simple no encontramos correlación significativa entre la IgGT en lágrima y plasma, lo que nos permite pensar, al igual que para la IgG, en la existencia de un transporte selectivo para esta

inmunoglobulina.

Resumen

Se ha realizado el estudio de las proteínas totales plasmáticas y lagrimales en cuarenta caballos de Pura Raza Española de diferente sexo y edad, y en veintiseis de ellos se han cuantificado los niveles medios de IgG, IgGT, IgM e IgA tanto en el plasma como en la lágrima. Hemos obtenido la lágrima por capilaridad y sin ninguna estimulación previa, de forma que los resultados obtenidos estuvieran lo más acorde posible con los fisiológicos.

Para la determinación de las proteínas totales plasmáticas hemos utilizado el método de Biuret y para las proteínas totales lagrimales el método de Lowry. La cuantificación de inmunoglobulinas se ha realizado por Inmunodifusión Radial, utilizando placas comercializadas por los Laboratorios VMRD, Inc., según la técnica de Fahey y McKelvey.

Los niveles medios de inmunoglobulinas plasmáticas en el caballo de Pura Raza Española son de $1293,55 \pm 77,39$ mg/dl para la IgG, $1057,17 \pm 145,03$ mg/dl para la IgGT, $56,39 \pm 5,38$ mg/dl para la IgM y de $44,92 \pm 3,25$ mg/dl para la IgA, con un valor de proteínas totales de $6,72 \pm 0,13$ g/dl. Los niveles medios de proteínas totales, IgG e IgGT son similares a los señalados en otras razas; en cambio, los niveles medios de IgM e IgA son más bajos. Ninguno de los factores controlados parece contribuir a esta diferencia y, por ser los primeros estudios inmunológicos que aparecen en esta raza, sería interesante considerar más específicamente la posible influencia genética en la aparición de dichos niveles.

En el caballo de Pura Raza Española, el sexo y la edad modifican significativamente los niveles medios de inmunoglobulinas plasmáticas. Las hembras presentan niveles superiores de IgGT, mientras que en los machos la IgG alcanza valores superiores. Por otro lado, los animales adultos presentan valores significativamente superiores de IgG e IgA que los animales jóvenes.

En la lágrima del caballo de Pura Raza Española podemos encontrar IgA, IgM, IgG e IgGT en concentraciones medias de $309,41 \pm 33,70$ mg/dl, de $13,40 \pm 1,17$ mg/dl, de $11,27 \pm 1,49$ mg/dl y de $5,76 \pm 0,54$ mg/dl, con un valor de proteínas totales de $0,67 \pm 0,04$ g/dl. Frente a los escasos datos existentes en la especie equina, podemos destacar en el caballo de Pura Raza Española la presencia de IgGT en la lágrima, así como una mayor concentración de IgA lagrimal que en el resto de las razas estudiadas.

El sexo y la edad modifican significativamente los niveles medios de proteínas totales lagrimales y de IgA lagrimal y en ambos casos, son las hembras y los animales adultos los que presentan valores medios superiores.

La ausencia de correlación entre los niveles de inmunoglobulinas plasmáticas y lagrimales, nos indican que éstas no pasan sólo por filtración, sino que, como ya se postulara en otras especies, es probable que exista algún mecanismo de transporte específico y selectivo de inmunoglobulinas hacia la lágrima.

Este trabajo acomete por primera vez el estudio de las proteínas totales e inmunoglobulinas en plasma y lágrima del caballo de Pura Raza Española. Asimismo aporta los primeros resultados sobre la concentración media de proteínas totales en la lágrima de la especie equina.

Conclusiones

1. El valor medio de proteínas totales plasmáticas en el caballo de Pura Raza Española es de $6,72 \pm 0,13$ g/dl similar a la estipulada para la especie equina. Este valor no se ve modificado por el sexo o por la edad.
2. El valor medio de proteínas totales lagrimales en el caballo de Pura Raza Española es de $0,67 \pm 0,04$ g/dl. Este valor es significativamente superior en las hembras y en los animales adultos.
3. Los valores medios de inmunoglobulinas plasmáticas en el caballo de Pura Raza Española son: $1293,55 \pm 77,39$ mg /dl para la IgG; $1057,17 \pm 145,03$ mg/dl para la IgG₁; $56,39 \pm 5,38$ mg/dl para la IgM y $44,92 \pm 3,25$ mg/dl para la IgA. Los valores medios de IgM e IgA son inferiores a los señalados como normales para la población equina.
4. El sexo y la edad afectan, de forma desigual, a las inmunoglobulinas plasmáticas. Las hembras presentan un valor de IgG₁ significativamente superior que los machos y éstos poseen un nivel de IgG significativamente superior que las hembras. Por otro lado, los caballos adultos poseen unos valores medios de IgG e IgA significativamente superiores que los animales jóvenes.

5. El valor medio de IgA en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es de $309,41 \pm 33,70$ mg/dl. Este valor es superior al estipulado como normal en la especie equina y es significativamente superior en las hembras y en los animales adultos.

6. El valor medio de IgM en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es de $13,40 \pm 1,17$ mg/dl. A diferencia de otras especies, esta inmunoglobulina se halla presente frecuentemente en la lágrima equina.

7. El valor medio de IgG en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es de $11,27 \pm 1,49$ mg/dl.

8. El valor medio de IgGT en la lágrima del caballo de Pura Raza Española es de $5,76 \pm 0,54$ mg/dl pudiendo ser cuantificada en sólo el 50 p.ciento de las muestras analizadas.

9. No existe correlación entre los parámetros estudiados en plasma y lágrima. En la lágrima existe correlación, muy significativa, entre las proteínas totales y la IgA en todos los grupos estudiados.

Bibliografía

- * AHAMED SA, FURR M, CHICKERING WR, SRIRANGANATHAN N, SPONENBERG DP. Immunologic studies of a horse with lymphosarcoma. *Vet Immunol Immunopathol* 1993; 38: 229-239.

- * ALEXANDER RL. Comparison of radial immunodifusion and laser nephelometry for quantitating some serum proteins. *Clin Chem* 1980; 26: 314-317.

- * ALLANSMITH MR, O'CONNOR GR. Immunoglobulins: structure, function and relation to the eye. *Surv Ophthalmol* 1970; 14: 367-402.

- * ALLANSMITH MR, RADL J, HAAIMAN JJ, MESTECKY J. Molecular forms of tear immunoglobulin A and distribution of IgA subclasses in human lacrimal glands. *J Allergy Clin Immunol* 1985; 76:569-576.

- * ANDREWS FM, MADDUX JM, FAULK D. Total protein, albumin quotient, IgA and IgG index determination for horse cerebrospinal fluid. *Prac Vet Neurol* 1990; 1: 197-204.

- * ARORA AK, TRIPATHI DN, KILLINGER AH, MYERS WL. Quantitation and development of immunoglobulins in bovine tears. *Microbiol Immunol* 1977; 21: 539-544.

- * AURELI G, TANZII AM. La ghiandola della terza palpebra negli equidi e loro ibridi. *Archivio Veterinario Italiano* 1959; 10:213-217.

- * BAETZ AL, PEARSON JE. Blood constituent changes in fasted ponies. *Am J Vet Res* 1972; 33: 1941-1946.

- * BARRERA R. Estudio de las proteínas totales e inmunoglobulinas G, M y A en plasma y lágrima del perro. Cáceres: Universidad de Extremadura, 1989. 334 pp. Tesis Doctoral.

- * BAZIN H. Immunité locale. En: Pastoret PP, Goavaerts A, Bazin H, eds. *Immunologie animale. Medicine Series: Paris*, 1990; 216-239.

- * BELLINGHAUSEN W. Measurement of immunoglobulins in pony foals. *Der Praktische Tierarzt* 1989; 6:22-25.

- * BLUESTONE R, EASTY DL, GOLDBERG LS, JONES BR, PETTIT TH. Lacrimal immunoglobulins and complement quantified by counter immunoelectrophoresis. *Brit J Ophthal* 1975; 59: 279-281.

- * BOY MG, ZHANG C, ANTCZAK DF, HAMIR AN, WHITLOCK RH. Unusual selective immunoglobulin deficiency in an Arabian Foal. *J Vet Int Med*

1992; 6: 201-205.

* BRIGHTMAN AH, MANNIG JP, BENSON GJ, MUSSELMAN EE. Decreased tear production associated with general anesthesia in the horse. J Am Vet Med Assoc 1983; 182: 243-244.

* BUBLITZ U. Transfer of calostr al immunoglobulins in neonatal foals -a field study. Hannover School of Veterinary Medicine 1990; 73 pp. Tesis Doctoral.

* BUENING CM, PERRYMAN LE, McGUIRE TC. Practical methods of determining serum Immunoglobulin M and Immunoglobulin G concentration in foals. J Am Vet Med Assoc 1971; 171: 455-458.

* BUNTAIN B. IgG immunodeficiency in a half-Arabian foal with salmonellosis. Vet Med (Equine Practice) 1981; 76: 231-234.

* BUTLER JE, MAXWELL CF, PIERCE CS, HYLTON MB, ASOFSKY R, KIDDY CA. Studies on the relative synthesis and distribution of IgA and IgG in various tissues and body fluids of the cow. J Immunol 1972; 109:38-46.

* BUTTERWORTH M, McCLELLAN M, ALLANSMITH M. Influence of sex on immunoglobulin levels. Nature 1967; 214: 1124-1125.

* CHANDLER JW, LEDER R, KAUFMAN E, CALDWELL JR. Quantitative

determinations of complement and immunoglobulins in tears and aqueous humor. Invest Ophthalmol Vis Sci 1974; 13: 151-153.

* CHANDLER JW, GILLETTE TE. Immunologic defense mechanisms of the ocular surface. Ophthalmology 1983; 90: 585-591.

* CLARK PG, TURNER AS, BOYSEN BG, ROUSE BT. Listeriosis in an Arabian foal with Combined immunodeficiency. J Am Vet Med Assoc 1978; 172: 363-366.

* COLES EH. Diagnóstico y Patología Veterinaria, 4ª ed., Interamericana McGraw-Hill: México, 1986; 145.

* COOLEY PL. Normal equine ocular anatomy and eye examination. Vet Clin North Am, Equine Practice 1992; 8: 427-450.

* DAVIDSON HJ, GERLACH JA, BULL RW. Determination of protein concentration and their molecular weight in tears from cats with normal corneas and cats with corneal sequestrum. Am J Vet Res 1992; 53: 1756-1759.

* DAVIDSON HJ, GERDS S. Differences in normal tear film protein patterns from bovine, canine, equine and humans. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994; 35:154-159.

* DECAZES F. Contribution a l'étude de l'immunité chez le poulain nouveau-né. Applications a la prophylaxie des affections neonatales dans

l'especie equine. Paris: École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 1984. 78pp. Tesis Doctoral.

* DEEM DA, TRAVER DS, THACKER HL, PERRYMAN LE. Agammaglobulinemia in a horse. J Am Vet Med Assoc 1979; 175:468-472.

* DIESEM C. Equine sense organs and common integument: the organ of vision. En: Getty, Sisson, Grossman's eds. Anatomy of the domestics animals. 5^a ed. WB Saunders: Philadelphia, 1975; 703-719.

* DIMOPOULLOS GT. Plasma proteins. En: Kaneko JJ, Cornelius CE, eds. Clinical biochemistry of domestic animals. 2nd ed. Academic Press: New York, 1970; 97-129.

* DUDAN F, GERBER F, LAZARY S. Immunologie du cheval. En: Pastoret PP, Govaerts A, Bazin H, eds. Immunologie animale. Medicine Series: Paris, 1990; 549-563.

* DZIEZYC J. Nasolacrimal system. En: Auer JA, ed. Equine Surgery. WB Saunders: Philadelphia , 1992; 630-636.

* EICHENBAUM JD, LAVACH JD, SEVERIN GA, PAULSEN ME. Immunology of the ocular surfaces. Compend Cont Educ Pract Vet 1987; 9:1101-1109.

- * EISENHAUER P, LAMBRECHT G, PET ZOLDT K, HENKEL E. Comparison of nephelometry and single radial immunodifusion for the determination of IgG and IgM concentrations in newborn foals and their dams. J Vet Med B 1984; 31:481-486.

- * EK N. Studies of electrophoresis on cellulose acetate membrane of serum proteins from normal horses sheep and pigs. Act a Vet Scand 1970; 11: 295-304.

- * EK N. Serum levels of the immunoglobulins IgG and IgGT in horses. Acta Vet Scand 1974; 15: 609-619.

- * FAHEY JL, McKELVEY EM. Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agar plates. J Immunol 1965; 94: 84-90

- * FERNANDES I, TAKEHARA HA, MOTA I. Isolation of IgGT form hyperimmune horse anti-snake venom serum: its protective ability. Toxicon 1991; 29:1373-1379.

- * FIGUEREDO MA, MEDINA MT, BOIMORTO R, GOMEZ de la CONCHA E. Antígenos y anticuerpos. Medicine 1991; 97: 3832-3842.

- * FRANKLIN RM, KENYON K, TOMASI TB. Immunohistologic studies of human lacrimal gland: localization of immunoglobulins, secretory component and lactoferrin. J Immunol 1973; 110: 984-992.

- * FULLARD RJ, TUCKER DL. Changes in human tear protein levels with progressively increasing stimulus. *Inves Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32: 2290-2301.

- * GALLART T. Inmunoglobulinas. En: Farreras P, Rozman C, eds. *Medicina Interna*. 12ª ed. Doyman: Barcelona, 1992; 2615-2631.
- * GALLART T, VIVES J. Organos y células del sistema inmune. En: Farreras P, Rozman C, eds. *Medicina Interna*. 12ª ed. Doyman: Barcelona, 1992; 2593-2615.

- * GENCO RJ, YECIES L, KARUSH F. The immunoglobulins of equine colostrum and parotid fluid. *J Immunol* 1969; 103: 437-441.

- * GENIN C, CLEMENT F. Transfer de l'immunité passive chez le poulain. 15^{ème} Journée d'Etude 1989; 62-73.

- * GINEL PJ. Contribución al estudio de las proteínas totales e inmunoglobulinas en plasma y lágrima de perros de raza Galgo Español. Universidad de Córdoba, 1991; 355pp. Tesis Doctoral.

- * GLAZE MB, McGUIRE TC, SCHMIDT GM, LEID RW. Immunoglobulin level in tears and aqueous humor of horses before and after diethylcarbazine (DEC) therapy. *Vet Immunol Immunopathol* 1984; 7: 185-198.

- * GLICKMAN LT, SHOFRER FS, PAYTON AJ, LASTER LL, FELSBURG PJ. Survey of serum IgA, IgG and IgM concentrations in a large Beagle

population in wich IgA defidency had been identified. Am J Vet Res 1988; 49:1240-1245.

* GOMEZ de la CONCHA E, BOIMORTO R, FERNANDEZ L. Introducción a la inmunología clínica. Medicine 1991a; 97:3805-3813

* GOMEZ de la CONCHA E, BUSTOS A, CATURLA A . Organos y células del sistema inmune. Medicine 1991b; 97:3814-3822.

* GORMAN NT, HALLIWELL RE, ed. Veterinary clinical Immunology. WB Saunders Co: Philadelphia, 1989; 19.

* GOTO I, KAMADA M, INABA M, MAEDE Y. Detection of equine immunoglobulin-secreting cells by a plaque assay. Jpn J Vet Res 1992; 40: 13-18.

* GOTOH I. Immunoglobulin productivity of horse lymphocytes and isolation of its promoting factor from horse serum. Jpn J Vet Res 1990; 38: 51.

* GUM GG. Physiology of the eye. En: Gelatt KN, ed. Veterinary Ophthalmology. 2nd ed. Lea & Febiger: Philadelphia, 1991; 124-156.

* HELMS CH, ALLEN PZ. Studies on equine immunoglobulins. II: Antigenic interrelationships among IgG, IgG(T) and antipneumococcal gamma1-component. J Immunol 1970; 105: 1253-1263.

- * HENSON JB. Immuno-electrophoretic pattern of normal horse serum with the demonstration of β 1 globulin types. *Am J Vet Res* 1964; 25: 1706-1711.

- * HERBERT WJ. Anticuerpos. Las reacciones antígeno-anticuerpo. En: *Inmunología Veterinaria*. Editorial Acribia: Zaragoza, 1971; 34-59.

- * HOLMES MA.. An important milestone in equine immunology: equine interleukine 2. *Equine Vet J* 1992; 25: 180.

- * HORT I. Paper electrophoretic fractionation and chemical determination of horse serum proteins and lipoproteins. *Am J Vet Res* 1968; 29:813-815.

- JEFFCOTT LB. Some practical aspects of the transfer of passive immunity to newborn foals. *Equine Vet J* 1974; 6:109-115.

- * JENNINGS FW, MULLIGAN W. Levels of some chemical constituents in normal horse sera. *J Comp Path* 1953; 63:286-293.

- * JOHNSON JU, OXENDER WD, BERKHOFF HA. Influence of estrogen on antibacterial and immunoglobulin secretory activities of uterine fluids from ovariectomized mares. *Am J Vet Res* 1994; 55: 643-649.

- * JOSEPHSON AS, WEINER RS. Studies of the proteins of lacrimal secretions. *J Immunol* 1968; 100:1080-1092.

- * KANEKO JJ, ed. Serum proteins and the dysproteinemias. En: *Clinical*

biochemistry of domestic animals. Academic Press Inc : London, 1980; 97-117.

* KENT JE, BLACKMORE DJ. Turbidimetric measurement of IgG(T) in the serum of healthy thoroughbreds and ponies. Equine Vet J 1985a; 17: 119-124.

* KENT JE, BLACKMORE DJ. Measurement of IgG in equine blood by immunoturbidimetry and latex agglutination. Equine Vet J 1985b; 17: 125-129

* KHALEEL SA, KENNEY RM, ALLEN PZ. Distribution of immunoglobulins in equine tissues by indirect immunofluorescence. J Comp Pathol 1975; 85: 611-622.

* KIRK GR, HUTCHESON DP, NEATE S. Electrophoretic pattern of serum protein in clinically normal horses and ponies with laminitis. Vet Med Small Anim Clin 1975; 70:337-339.

* KLINMAN NR, ROCKEY JH, FRAUENBERGER G, KARUSH F. Equine antihaptene antibody. III. The comparative properties of gamma-G and gamma-A antibodies. J Immunol 1966; 96:537-595.

* KNIGHT DA, TYZNIK WJ. The effect of dietary selenium on humoral immunocompetence of ponies. J Anim Sci 1990; 68: 1311-1317.

* KOHN CW, KNIGHT D, HUESTON W, JACOBS R, REED SH. Colostral and serum IgG, IgA and IgM concentrations in standardbred mares and their foals at parturition. J Am Vet Med Assoc 1989; 195 : 64-68.

- * KRISTENSEN F, FIRTH EC. Analysis of serum proteins and cerebrospinal fluid in clinically normal horses using agarosa electrophoresis. Am J Vet Res 1977; 38: 1089-1092.

- * KUIZENGA AB, STOLWIJK TR, van AGTMAAL EJ, van HAERINGER NJ, KIJLSTRA A. Detection of secretory IgM in tears of IgA deficient individuals. Curr Eye Res 1990; 9 :997-1005.

- * KURIMOTO T, IKEDA A, TANAKA K. Purification and identification of horse serum IgA. Jpn J Vet Sci 1982; 44: 661-668.

- * LATIMER CA. Radiographic and gross anatomy of the nasolacrimal duct of the horse. Am J Vet Res 1984; 45:451-458.

- * LATIMER CA. Diseases of hemolymphatic system. En: Colaham PT ed. Equine Medicine and Surgery. 4^a ed. American Veterinary Publications Inc: California, 1991; 1785-1857.

- * LAVACH JD, ed. Large animal Ophthalmology. CV Mosby Company: Philadelphia , 1990; 42.

- * LAVOIE JP, URINS A, LAVERRY S. Deficiencie de l'immunité passive chez le poulain nouveau-né: prevention, diagnostic et traitement. PEV 1990; 22 : 51-54.

- * LeBLANC MM, McLAURIN BI, BOSWELL R. Relationship among serum

immunoglobulin concentration in foals, colostral specific gravity and colostrum immunoglobulins concentration. J Am Vet Med Assoc 1986; 189: 57-60.

* LeBLANC MM, TRAN T, BALDWIN JL, PRITCHARD EL. Factors that influence passive transfer of immunoglobulins in foals. J Am Vet Med Assoc 1992; 200: 179-183.

* LEFRANÇOISE M, BRISSON GJ. Teneurs en IgG et IgA du sérum des larmes et de la salive de jeunes veaus. Can J Anim Sci 1987; 67:599.

* LEY WB, CRISMAN MV, BONEN-CLARK G. Evaluation of a new field test for detection of passive transfer in the foal. J Eq Vet Sci 1990; 10: 262-266.

* LIOTET S, MORIN Y. Guide pratique des examens de laboratoire en ophtalmologie. Masson: Paris, 1988.

* LITTLEJOHN A. PCV, Hb and plasma electrolytes studies in horses. I: Mean values in clinically normal horses. Br Vet J 1968; 124:529-539.

* MACH JP, PAHUD JJ. Secretory IgA a major immunoglobulin in most bovine external secretions. J Immunol 1971; 106:552-563.

* MAIDMENT DCJ, KIDDERS DE, TAYLOR MN. Electrolyte and proteins levels in bovine tears. Br Vet J 1985; 141: 169-172.

- * MAIR TS, TAYLOR FGR, HARBOUR DA, PEARSON GR. Concurrent cryptosporidium and coronavirus infections in an Arabian foal with combined immunodeficiency syndrome. *Vet Rec* 1990; 126: 127-130.
- * MAKIMURA S, TOMODA J, USUI K. Quantitative studies on immunoglobulins and transferrin in equine serum. *Jpn J Vet Sci* 1975; 37: 187-198.
- * MARTS BS, BRYAN GM, PRIEVO DJ. Schirmer tear test measurements and lysozyme concentration of equine tears. *J Equin Med* 1977; 1:427-430.
- * MATTHEEWS DRG, KANEKO JJ, LOY RG. Compartmentalization and turnover of ¹³¹I-labeled albumin and gamma globulin in horse. *Am J Vet Res* 1966; 27:269-705.
- * MATTHEWS AG. Serum protein electrophoresis in horses and ponies. *Equine Vet J* 1982; 14: 322-324.
- * McGUIRE TC, CRAWFORD TB. Identification and quantification of equine serum and secretory immunoglobulin A. *Infect Immun* 1972; 6: 610-615.
- * McGUIRE TC, CRAWFORD TB. Passive immunity in the foal: measurement of immunoglobulin classes and specific antibody. *Am J Vet Res* 1973; 34: 1299-1303.

- * McGUIRE TC, CRAWFORD TB, HENSON JB. The Isolation, characterization and functional properties of equine immunoglobulin classes and subclasses. En: Proceedings, 3rd Internal Conference Equine Infectious Diseases. Paris Karger Basel, 1973; 364-381.

- * McGUIRE TC, POPPIE MJ, BANKS KL. Combined (B- and T-lymphocyte) immunodeficiency: A fatal genetic disease in Arabian foals. J Am Vet Med Assoc 1974; 164: 70-76.

- * McGUIRE TC, POPPIE MJ, BANKS KL. Hypogammaglobulinemia predisposing to infection in foals. J Am Vet Med Assoc 1975; 166: 71-75.

- * McGUIRE TC, CRAWFORD TB, HALLOWELL AL. Failure of colostral immunoglobulin transfer as an explanation for most infections and deaths of neonatal foals. J Am Vet Med Assoc 1977; 170:1302-1304.

- * MERCIER PCG. Les immunoglobulines dans l'espèce équine. Universidad Paul-Sabatier de Toulouse, 1977; 59pp. Tesis Doctoral.

- * MII S, NAKAMURA K, TAKEO K, KURIMOTO S. Analysis of human tear protein by two-dimensional electrophoresis. Electrophoresis 1992; 13: 379-382.

- * MILLICHAM NJ. Third eyelid. En: Auer JA, ed. Equine Surgery. WB Saunders: Philadelphia, 1992; 626-630.

- * MISHIMA S. Some physiological aspects of the precorneal tear film. Arch Ophthalmol 1965; 73:233-241.

- * MOORE CP. Eyelid and nasolacrimal disease. Vet Clin North Am (Equine Practice) 1992; 8 : 499-520.

- * MUSSMAN HC, RUBIANO A. Serum proteins electrophoregram in the Thoroughbred in Bogotá, Colombia. Br Vet J 1970; 126: 574-580.

- * NANSEN P, RIISING HJ. Metabolism of immunoglobulin-G in the horse. Acta Vet Scand 1971; 12:445-447.

- * NOSSAL GJV. Sistema inmunitario: entre la vida y la muerte. Investigación y Ciencia 1993; 206:8-17.

- * OKAWA M, YOSHIHARA T, WADA R, KANEKO M, KUGE T, NAKAJIMA S, OHISHI H. Latex agglutination test for handy, rapid measurement of foal serum and colostral IgG. Bull Equine Res Inst 1986; 23:62-66.

- * OLSEN RG, KRAKOWKA S, eds. Anticuerpos: productos de los linfocitos B activados. En: Inmunología e inmunopatología de los animales domésticos. El manual Moderno: México DF, 1983; 26-33.

- * O'RIELLY J. A comparison of the reduction in immunoglobulin (IgG) concentration of frozen equine plasma treated by three thawing techniques. Austr Vet J 1993; 7 :442-444.

- * OSBALDISTON GW. Serum protein fraction in domestic animals. Br Vet J 1972; 128: 386-393.

- * OUTERIDGE PM. *Inmunología Veterinaria*. Acribia: Zaragoza, 1989; 67.

- * PAHUD JJ, MACH JP. Equine secretory IgA and secretory component. Int Arch Allergy 1972; 42: 175-186.

- * PATTON S, MOCK RE, DRUDGE JH, MORGAN D. Increase of immunoglobulin T concentration in ponies as a response to experimental infection with nematode *strongylus vulgaris*. Am J Vet Res 1978; 39:19-23.

- * PEDERSEN KB, NANSEN P. Immunoglobulins in bovine lachrimal fluids. Acta Pathol Microbiol Scand, Section B 1972; 80:231-240.

- * PELLERIN JL, TAINTURIER D, BODIN G, FIENI F, RAI EL, BALHAA G. Détection du transfert de l'immunité passive de la mère au polain: comparaison de l'agglutination rapide sur lame avec l'immunodiffusion en gelose. 3ème Journée d'étude, CEREOPA 1986; 163-183.

- * PENHALE WJ, CHRISTIE G. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. I. Adult plasma and colostrum levels. Res Vet Sci 1969; 10: 493-501.

- * PENHALE WJ, CHRISTIE G, McEWAN AD, FISHER EW, SELMAN IE. Quantitative studies on bovine immunoglobulins. *Br Vet J* 1970; 126 : 30-37.

- * PEÑA J. *Inmunología*. 2ª ed. Ediciones Pirámide: Madrid, 1988; 136.

- * PERRYMAN LE, McGUIRE TC, HILBERT BJ. Selective IgM deficiency in foals . *J Am Vet Med Assoc* 1977; 170: 212-215.

- * PERRYMAN LE, McGUIRE TC. Evaluation for immune system failures in horses and ponies. *J Am Vet Med Assoc* 1980; 176: 1374-1377.

- * PERRYMAN LE. Mechanisms of immune deficiency diseases of animals. *J Am Vet Med Assoc* 1982; 181 : 1097-1101.

- * PERRYMAN LE, WYATT CR, MAGNUSON NS. Biochemical and functional characterization of lymphocytes from a horse with lymphosarcoma and IgM deficiency. *Comp Immun Microbiol Infect Dis* 1984; 7: 53-62.

- * PERRYMAN LE. The immune response in foals. En: Colaham PT, ed. *Equine Medicine and Surgery*. 4th ed. American Veterinary Publications Inc.: California, 1991; 1789.

- * RICKETTS SW. The laboratory as aid to diagnosis. *Vet Clin North Am (Equine Practice)*, 1987; 3:445.

- * RIPATT T, KOSKELA P, KOTIMAA M, KOSKICEN E, MÄENPÄÄ PH.

Serum IgG antibody concentrations against environmental microbes in mares and foals during different seasons and effect of stabling practices. *Am J Vet Res* 1990; 51 : 550-555.

* ROBERT SR, ERICKSON OF. Dog tear secretion and tear protein. *J Small Anim Pract* 1962; 3:1-5.

* ROCKEY JH, MONTGOMERY PC, DORRINGTON KJ. Equine antihapten antibody. Studies on the primary structure and confirmation of equine immunoglobulins. *Biochemistry* 1970; 9: 4310-4321.

* ROUSE BT. The Immunoglobulins of adult equine and foal sera: A quantitative study. *Br Vet J* 1971; 127: 45-52.

* RUMBAUGH GE, ARDANS AA, GINNO D, TROMMERHAUSN-SMITH A. Measurement of neonatal equine immunoglobulins for assessment of colostral immunoglobulins transfer comparison of single radial immunodiffusion with zinc sulfate turbidity test, serum electrophoresis refractometry for total serum proteins and the sodium sulfate precipitation test. *J Am Vet Med Assoc* 1978; 172 :321-325.

* RUMBAUGH GE, BRUMBAUGH G, ARDANS AA. The immunoglobulins of synovias from normal and arthritic horses and foals. *Vet Med (Equine Practice)* 1982; 77: 1640-1642.

- * SACK RA, TAN KO, TAN A. Diurnal tear cycle: Evidence for a nocturnal inflammatory constitutive tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1992; 33: 626-640.

- * SANDOR G, AUDIBERT F. Deux fonctions physiologiques de l'immunité humorale et les deux protéines qui l'assument dans le sérum de cheval. *Comp Rend Acad Sci* 1970; 270:1538-1540.

- * SAPSE AT, BONAVIDA B, STONE W, SERCARZ EE. Proteins in human tears. I. Immuno-electrophoretic patterns. *Arch Ophthalmol* 1969; 81:815-819.

- * SCHMIDT GM, COULTER DB. Physiology of the eye. En: Gelatt KN, ed. *Textbook of Veterinary Ophthalmology*. Lea & Febiger: Philadelphia, 1981; 129-159.

- * SCHWARZE E. Organo de los sentidos. En: *Compendio de Anatomía Veterinaria*. Tomo IV. Acribia: Zaragoza, 1979; 1345.

- * SELINGER DS, SELINGER RC, REED WP. Resistance to infection of the external eye: The role of tears. *Surv Ophthalmol* 1979; 24 : 33-38.

- * SEN DK, SARIN GS, MATHUOR GP, SAHA K. Biological variation of immunoglobulin concentrations in normal human tears related to age and sex. *Acta Ophthalmol* 1978; 56: 439-444.

- * SILIM A, REKIK MR, ROY RS, SALMON H, PASTORET PP. En:

Pastoret PP, Goavaerts A, Bazin H, eds. Immunologie animale. Medicine Series: Paris, 1990; 197-204.

* SULLIVAN DA, HANN LE. Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: endocrine impact on the lacrimal gland accumulation and secretion of IgA and IgG. J Steroid Biochem 1989; 34 : 253-262.

* SULLIVAN DA, HANN LE, YEE L, ALLANSMITH MR. Age and gender related influence on the lacrimal gland and tears. Acta Ophthalmol 1990; 68: 188-194.

* TARGOWSKI SP. Treatment of horses with chronic diarrhea: Immune status. Am J Vet Res 1976; 37:29-33.

* THEODORE FH, BLOORRIFIELD SE, MONDIRIO BJ. Mecanismos inmunológicos básicos. En: Alergia Clínica e Inmunología del Ojo. Grass: Barcelona, 1985; 8-24.

* TIZARD I. Serologic assays. J Am Vet Med Assoc 1982; 181: 1162-1164.

* TIZARD I. Veterinary Immunology. 4^aEd. WB Saunders Company: Philadelphia, 1992.

* TORO H, LAVAUD P, VALLEJOS P, FERREIRA A. Transfer of IgG from

serum to lachrymal fluid in chickens. *Avian Diseases* 1993; 37: 60-66.

* VAERMAN JP, QUERINJEAN P, HEREMANS JF. Studies on the IgA system of the horse. *J Immunol* 1971; 21: 443-454.

* VAN DER SCHEER J, WYCLOFF WG, CLARK FH. The electrophoretic analysis of tetanal antitoxic horse sera. *J Immunol* 1941; 40:73-77.

* WEHMEYER A, DAS PK, SWAAK T, GEBHART W, KIJLSTRA A. Sjögren syndrome: comparative studies in local ocular and serum immunoglobulin concentrations with special reference to secretory IgA. *Int Ophthalmol* 1991; 15: 147-151.

* WEIR RC, PORTER RR. Comparison of the structure of immunoglobulins from horse serum. *Biochem J* 1966; 100: 63-68.

* WELDON AD, ZHANG CH, ANTCZAK DF, REBHUN WC. Selective IgM deficiency and abnormal B-cell response in a foal. *J Am Vet Med Assoc* 1992; 201 :1396-1398.

* WELLS PW, McBEATH DG, EYRE P, HANNA CJ. Equine immunology: an introduction review. *Equine Vet J* 1981; 13 : 218-222.

* WIDDERS PR, STOCKES CR, BOURNE FJ. Investigation of the antigenic relationship between equine IgG and IgGT. *Vet Immunol Immunophatol*

1986; 13 : 255-259.

* WILKIE BN. Resistance mechanisms and immune response. Proc of the 28 Annual Convention of the Am Assoc of Equine Pract, Atlanta, Georgia, 1982; 301-307.

* WYATT CR, DAVIS WC, McGUIRE TC, PERRYMAN LE. T lymphocyte development in horses. I. Characterization of monoclonal antibodies identifying three stages of T lymphocyte differentiation. Vet Immunol Immunopathol 1988; 18: 3-18.

* WYMAN M. Manual de Oftalmología de los Pequeños Animales. Salvat: Barcelona, 1988.

* YAMADA T, TOMADA J, USUI K. Immunoglobulin composition of the feline body fluids. Jpn J Vet Sci 1984; 46:791-796.