

ESTUDO CLÍNICO E LABORATORIAL DA FASE PRODRÔMICA DA LAMINITE EQUINA INDUZIDA POR SOBRECARGA DE CARBOIDRATO

(CLINICAL AND LABORATORIAL EVALUATION IN PRODROMAL STAGE OF CARBOHYDRATE OVERLOAD-INDUCED EQUINE LAMINITIS)

(ESTUDIO CLINICO Y LABORATORIAL DE LA FASE PRODRÔMICA DE LA LAMINITIS EQUINA INDUCIDA POR SOBRECARGA DE CARBOHIDRATOS)

L. P. MARTINS FILHO¹, J. J. FAGLIARI², J. R. E. MORAES³, R. C. SAMPAIO¹,
J. A. OLIVEIRA⁴, J. C. LACERDA NETO^{2*}

RESUMO

Laminite é um complexo distúrbio metabólico de difícil diagnóstico antes do início da claudicação. Foram utilizados dez equinos adultos distribuídos em 2 grupos experimentais: GI, 5 animais hígidos (grupo controle) e GII, 5 animais submetidos à dieta com sobrecarga de carboidratos (grupo laminite). Posteriormente ao fornecimento de carboidratos, os animais foram submetidos a exames físicos e laboratorial durante o período de 48 horas. Ao final do experimento procedeu-se a avaliação histológica dos tecidos dos cascos. Notou-se que o pulso digital elevou-se a partir de 12 horas após o início da fase experimental, simultaneamente aos primeiros sinais de claudicação, que evoluíram para grau III 24 horas após. Alteração do pulso da artéria maxilar externa foi notada a partir de 24 horas, coincidindo com o aumento do tempo de preenchimento capilar. Elevações de frequência cardíaca e da temperatura retal ocorreram 36 a 48 horas após o fornecimento de carboidratos. Notou-se eosinopenia 12 horas após a administração de carboidratos. O volume globular alterou-se a partir de 36 horas, concomitantemente à neutrofilia. Constatou-se discreta leucocitose ao longo da fase experimental. As alterações dos teores plasmáticos de proteína total e de fibrinogênio e a atividade sérica de aspartato aminotransferase não foram significativas. A atividade sérica de creatina quinase foi maior em equinos do grupo controle, diferentemente do esperado. A atividade sérica de fosfatase alcalina foi maior nos animais com laminite. As alterações histológicas constatadas foram do tipo degenerativo, incluindo congestão vascular, trombose e degeneração da membrana basal.

PALAVRAS-CHAVE: Carboidrato. Equino. Laminite. Sintomas. Hematologia. Bioquímica sérica.

SUMMARY

Laminitis is a complex disorder that is difficult to diagnose before the onset of lameness. Ten horses were allocated into 2 experimental groups: The 5 animals of GI did not undergo carbohydrate overload (control group) whereas the remaining 5 in GII underwent carbohydrate overload (laminitis group). After carbohydrate was provided to the animals,

1 Doutorandos do Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária da FCAV – Unesp, Jaboticabal – SP.

2 Docente do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária da FCAV – Unesp, Jaboticabal – SP. Via de acesso Prof. Paulo Donato Castellane km 5, 14.884-900, Jaboticabal-SP. jlacerda@fcav.unesp.br

3 Docente do Departamento de Patologia Veterinária da FCAV – Unesp, Jaboticabal – SP.

4 Docente do Departamento de Ciências Exatas da FCAV – Unesp, Jaboticabal – SP.

clinical and laboratorial examination were performed over a 48-hour period. The hoof tissues underwent histological assessment at the end of study. The digital pulse increased from 12 hours on, simultaneous to initial signs of lameness, which increased to Obel grade 3 after 24 hours. Change of external maxilar artery pulse was noted to 24 hours; at the same time an increase of the capillary refill time was seen. It was verified that heart rate and internal temperature increased 36 hours after overfeeding. Eosinopenia occurred 12 hours after carbohydrate overload. The packet cell volume changed after 36 hours, concomitantly with neutrophilia. Mild leucocytosis occurred during the experiment. The changes of the plasma total protein and fibrinogen concentrations and serum aspartate aminotransferase activity were not significant. Although not expected, the serum creatine kynase activity was highest in control group. The serum alkaline phosphatase activity was highest in laminitis group. The major histological changes were degenerative, including vascular congestion, thrombosis, and basement membrane degeneration.

KEYWORDS: Carbohydrate. Equine. Laminitis. Signs. Hematology. Serum biochemistry.

RESUMEN

La laminitis es un complejo disturbio metabólico de difícil diagnóstico antes del inicio de la claudicación. Fueron usados diez equinos adultos distribuidos en dos grupos experimentales: GI, 5 animales saludables (grupo control) y GII, 5 animales sometidos a una dieta con sobrecarga de carbohidratos (grupo laminitis). Después de haber recibido los carbohidratos, los animales fueron sometidos a exámenes físicos y laboratoriales durante un periodo de 48 horas. Al final del experimento se procedió a la evaluación histológica de los tejidos de los cascos. Fue notado que el pulso digital se elevó a partir de las 12 horas después del inicio de la fase experimental, simultáneamente con los primeros signos de claudicación, que evolucionaron para grado III, 24 horas después. Fue notada alteración del pulso de la arteria maxilar externa a partir de las 24 horas, coincidiendo con el aumento del tiempo de llenado capilar. Ocurrieron elevaciones de la frecuencia cardiaca y de la temperatura rectal 36 a 48 horas después de la administración de los carbohidratos. Fue notada eosinopenia 12 horas después de la administración de los carbohidratos. El volumen globular se alteró a partir de las 36 horas, de forma concomitante con la neutrofilia. También se constató discreta leucocitosis a lo largo de la fase experimental. Las alteraciones de las concentraciones plasmáticas de proteína total y de fibrinógeno y la actividad sérica de la aspartato aminotransferasa no fueron significativas. La actividad sérica de la creatina quinasa fue mayor en equinos del grupo control, diferentemente de lo que se esperaba. La actividad sérica de la fosfatasa alcalina fue mayor en los animales con laminitis. Las alteraciones histológicas constatadas fueron de tipo degenerativo e incluían congestión vascular, trombosis y degeneración de la membrana basal.

PALABRAS-CLAVE: Carbohidrato. Equino. Laminitis. Síntomas. Hematología. Bioquímica sérica.

INTRODUÇÃO

Embora a laminite tenha sido definida inicialmente como uma inflamação das lâminas sensitivas do casco responsáveis pela união entre a muralha e a falange distal, o reconhecimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesse processo mostrou que o termo “Degeneração Laminar Aguda” é o mais apropriado (MOORE et al., 1989). A laminite é uma das causas mais importantes de claudicação em cavalos e, quando severa, resulta em rotação e deslocamento ventral da falange distal (BAXTER, 1994).

A laminite equina tem sido estudada extensivamente desde que Obel (1948) conseguiu reproduzir experimentalmente a doença, administrando uma solução de amido a cavalos, e classificando a claudicação causada pelo processo, de acordo com a sua severidade.

São muitos os fatores responsáveis pelo desenvolvimento da laminite, dentre estes se destacam as

disfunções gastrointestinais causadas tanto pela ingestão de quantidades excessivas de grãos como pelas alterações inflamatórias e morfofuncionais decorrentes de colite, duodeno-jejunitis proximal, obstrução intestinal simples e estrangulativa. Alterações biomecânicas provocadas por traumatismos ou devidas a apoio unilateral dos membros também são incriminadas (ALLEN et al., 1990). A relação de fatores causais é extensa e inclui, também, retenção de placenta, abortamento, metrite, uso de corticóides, hipotireoidismo e repetição de cios em éguas (BAXTER, 1994), assim como hipoperfusão periférica, endotoxemia e o aumento sistêmico e no tecido local das concentrações de citocinas pró-inflamatórias, capazes de aumentar a atividade das metaloproteinases no tecido conectivo (JOHNSON et al., 1998).

Notou-se que a absorção intestinal de endotoxinas e/ou ácido láctico é responsável pela ocorrência de lesões vasculares no casco; a elevação na concentração dessas substâncias ocorre três a quatro horas após a administração

de carboidratos (MOORE et al., 1989). Alterações ultra-estruturais foram documentadas no ceco 24 horas após a administração de carboidratos (KRUEGER et al., 1986). Lesões na mucosa intestinal podem aumentar sua permeabilidade, permitindo absorção de endotoxinas ou outros compostos tóxicos (GARNER et al., 1975, WEISS et al., 1997b) e, conseqüentemente, instalação de choque endotoxêmico e/ou séptico (KRUEGER et al., 1986). Aumento marcante, mas transitório, na permeabilidade intestinal foi detectado no início do estágio prodrômico da laminite de origem alimentar, porém a endotoxemia não pôde ser consistentemente detectada nessas fases (WEISS et al., 1994, WEISS et al., 1995).

As manifestações da laminite, principalmente na fase aguda de sua evolução, induzem alterações cardiovasculares como taquicardia, aumento do tempo de perfusão capilar (TPC), acidose metabólica, hipertensão e hemograma característico de estresse (HOOD, 1980). O sistema endócrino responde com elevação de catecolaminas, cortisol, testosterona (resposta adrenal), aumento da renina plasmática e redução de hormônios da tireóide. Os rins poderão manifestar insuficiência aguda ou glomerulonefrite, conseqüente à isquemia aguda e ou utilização de antiinflamatórios não esteróides para o tratamento da dor (HOOD, 1980).

A forma aguda da laminite caracteriza-se pelo aparecimento brusco dos sintomas, predominando os sinais de locomoção penosa e lenta devida à dor e, paralelamente a esse quadro, o animal pode apresentar-se apático, com conjuntivas congestas, taquipnéico e cascos quentes e sensíveis à percussão e compressão. O pulso das artérias digitais torna-se muito evidente, cheio e forte, desde os primeiros sinais de claudicação (YELLE, 1986). Alterações das lâminas epidérmicas foram detectadas por Pollitt (1996), 48 horas após administração de carboidratos. Esse trabalho orientou a classificação histopatológica das lesões de acordo com a sua severidade em normal (Grau N), leve (Grau 1), moderada (Grau 2) e grave (Grau 3) baseando-se, principalmente, nas alterações da membrana basal da lâmina, perfeitamente visível quando corou-se o tecido conectivo com ácido periódico de Schiff (PAS). Constituída de proteínas colagenosas como o colágeno tipo IV e não colagenosas como proteoglicanas e glicoproteínas, das quais a principal é a laminina, a membrana basal sofre degradação enzimática por ação de metaloproteinasas (JOHNSON et al., 2000). Pollitt (1999) considerou a possibilidade da ativação descontrolada de metaloproteinasas ser um evento importante e precoce na patogênese da laminite equina.

A reação inflamatória que ocorre durante o quadro de laminite provoca a elevação das concentrações sanguíneas de enzimas presentes nos tecidos ósseos e musculares, como fosfatase alcalina, creatina quinase e aspartato aminotransferase (KANECO, 1989), e provavelmente das proteínas de fase aguda, tais como

fibrinogênio, haptoglobina e proteína C-reativa (FAGLIARI et al., 1998).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar as alterações clínicas, laboratoriais e histológicas de equinos submetidos à indução experimental de laminite com sobrecarga de carboidratos, na fase prodrômica da enfermidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados dez equinos adultos, sem raça definida, machos e fêmeas clinicamente sadios, com 4 a 7 anos de idade, pesando entre 310 e 425kg, distribuídos em dois grupos:

Grupo I: cinco animais alimentados com feno e água à vontade (Grupo Controle).

Grupo II: cinco animais com laminite induzida pela administração de solução constituída de 17,6g de amido de milho (Maisena® – Refinações de Milho, Brasil Ltda, Mogi Guaçu, S.P.)/kg de peso corpóreo (PC), dissolvidos em água, na proporção 1kg:1L, mediante uso de sonda nasogástrica.

A partir da administração da solução de carboidratos foram realizados exames clínicos (SPEIRS, 1996) e laboratoriais em seis momentos: antes da administração de carboidratos e 8, 12, 24, 36 e 48 horas após. Os equinos do grupo I foram submetidos aos mesmos procedimentos. Foram avaliadas as frequências cardíaca (FC) e respiratória (FR), a temperatura retal (TR), o tempo de preenchimento capilar (TPC), a qualidade do pulso da artéria maxilar externa (PAME) e da artéria digital do membro torácico direito (PADMTD), o grau de claudicação segundo Obel (1948) e a motilidade intestinal (MI). A qualidade do pulso arterial foi graduada de acordo com a pressão exercida sob os dedos indicador, médio e anular. A detecção do pulso sob um único dígito, considerado fraco, recebeu grau 1; quando a pressão era percebida sob dois dedos, era considerada moderada e classificava-se como grau 2; a graduação 3 referia-se à sensibilidade sob os três dedos; e grau 0 quando o pulso era imperceptível. A motilidade intestinal foi classificada como grau 0 quando havia hipomotilidade; grau 1 para motilidade normal e quando se detectou hiperomotilidade estabeleceu-se o grau 2.

As amostras de sangue foram colhidas mediante punção flébrica jugular e acondicionadas em dois tubos, um sem anticoagulante e outro contendo ácido etilenodiamino tetracético dissódico (Na₂ EDTA) a 10% destinado ao hemograma (JAIN, 1986), dosagem de fibrinogênio (BLAIS-DELL e DOBDS, 1977) e de proteína total, por refratometria. As amostras de sangue obtidas sem anticoagulante propiciaram amostras de soro necessário à determinação das atividades de aspartato aminotransferase-AST (método de REITMANN e FRANKEL), creatinoquinase-CK (método IFCC) e fosfatase alcalina-ALP (método de BO-

WERS e MCCOMS modificado), mediante utilização de kits de uso comercial (Labtest). A leitura foi conduzida em espectrofotômetro semi-automático (Labquest), com luz de comprimento de onda específico para cada constituinte.

Quarenta e oito horas após a administração da solução de amido, os equinos foram eutanasiados com dose elevada de barbitúricos. Os cascos foram removidos e seccionados de acordo com a recomendação de Pollitt (1996). As secções de tecido foram submetidas ao exame histológico (WEISS, 1994).

Para análise estatística, utilizou-se o programa de computador Statistical Analysis System (1995). Quando se constatava significância entre grupos e momentos aplicou-se o teste Tukey para comparação das médias.

RESULTADOS

Os parâmetros clínicos e laboratoriais obtidos em equinos submetidos ou não à indução de laminite estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos parâmetros clínicos de equinos do grupo controle (G I) e de equinos submetidos à indução de laminite por sobrecarga de carboidratos (G II) ao longo do período experimental.

Parâmetros	Tempo após o fornecimento de carboidratos (h)					
	0	8	12	24	36	48
FC/minuto						
G 1	39,60±2,19Aa	46,80±7,56Aa	36,00±3,16Aa	37,20±5,40Aa	40,00±4,69Aa	32,80±3,03Aa
G 2	52,00±10,49Aa	49,20±5,02Aa	44,00±8,37Aa	43,60±6,99Aa	74,80±26,10Bb	82,40±7,27Bb
FR/minuto						
G 1	9,60±2,61	14,80±2,28	12,40±1,67	11,20±1,09	12,80±1,79	12,40±1,67
G 2	16,40±6,69	17,20±4,61	14,00±5,10	10,80±3,03	17,20±5,76	15,20±3,03
TR (°C)						
G 1	37,10±0,32Aa	38,10±0,20Aa	38,50±0,05Aa	37,40±0,08Aa	38,20±1,19Aa	37,10±0,18Aa
G 2	37,60±0,51ACa	38,00±0,44ACa	38,40±0,29ABCa	36,20±3,48Aa	40,70±0,87Bb	39,70±1,31BCb
TPC/segundo						
G 1	3,00±0,00Aa	2,60±0,55Aa	2,80±0,45Aa	2,40±0,55Aa	2,40±0,55Aa	2,40±0,55Aa
G 2	2,40±0,55Aa	2,80±0,45Aa	2,80±0,45Aa	3,00±0,71Aa	3,60±0,55Bb	3,60±0,55Bb
PAME						
G 1	0,20±0,45	0,40±0,55	0,80±0,45	0,40±0,55	0,60±0,55	0,60±0,55
G 2	0,00±0,00	0,20±0,45	0,20±0,45	0,80±1,09	1,00±0,71	1,00±0,71
PADMTD						
G 1	0,00±0,00Aa	0,40±0,55Aa	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,20±0,45Aa	0,00±0,00Aa
G 2	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,20±0,45ACa	0,40±0,55ACa	1,00±1,00BCa	1,60±0,55Bb
Obel						
G 1	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa
G 2	0,00±0,00Aa	0,00±0,00Aa	0,40±0,55ADa	0,80±0,45Db	2,80±0,45Cb	3,60±0,55Bb
MI						
G 1	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,20±0,45	1,00±0,00	1,00±0,00
G 2	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,71	1,40±0,55	1,20±0,84	0,60±0,89

FC = frequência cardíaca, FR = frequência respiratória, TR = temperatura retal, TPC = tempo de preenchimento capilar, PAME = pulso da artéria maxilar externa, PADMTD = pulso da artéria digital do membro torácico direito, Obel = grau de claudicação segundo Obel (1948), MI = motilidade intestinal. Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste Tukey (P<0,05) Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste Tukey (P<0,05).

Tabela 2 - Média e desvio padrão do hemograma de equinos do grupo controle (G I) e de equinos submetidos à indução de laminite por sobrecarga de carboidratos (G II) ao longo do período experimental.

Parâmetros	Tempo após o fornecimento de carboidratos (h)					
	0	8	12	24	36	48
He/μL (x10⁶)						
G 1	6,80±0,71	6,60±0,46	6,60±0,43	6,20±0,47	6,80±0,49	6,70±0,24
G 2	7,50±0,94	7,00±0,83	7,30±0,34	7,30±0,81	7,50±0,79	7,90±0,56
Hb (g/dL)						
G 1	11,80±0,49	11,90±0,80	10,80±0,50	10,80±1,47	10,90±1,04	11,10±0,92
G 2	10,30±2,56	10,00±2,54	11,20±2,92	10,10±1,85	10,60±2,73	11,00±2,30
VG (%)						
G 1	32,60±1,14BCa	32,20±1,10BCa	31,40±1,34ABa	30,60±1,67ABa	26,40±5,50Aa	29,00±1,00ACa
G 2	35,20±2,05Aa	34,60±4,39Aa	34,60±3,21Aa	35,80±3,56Aa	39,20±2,59Ab	39,80±2,49Ab
Le/μL (x10³)						
G 1	9,20±0,72	9,30±0,90	9,40±0,62	8,70±1,10	9,90±1,25	9,20±1,37
G 2	11,40±2,04	11,50±1,75	11,80±1,55	13,10±2,32	13,00±5,98	16,00±5,00
NS/μL (x10³)						
G 1	5,34±1,34Aa	5,34±0,72Aa	5,51±0,80Aa	5,17±1,19Aa	5,44±1,14Aa	5,14±0,96Aa
G 2	5,84±1,47Aa	6,89±1,74Aa	7,06±1,96Aa	8,31±3,70ABa	9,60±5,83ABa	11,83±5,67Bb
Linf/μL (x10³)						
G 1	3,38±0,68Aa	3,54±0,54Aa	3,43±0,37Aa	3,16±1,01Aa	3,95±0,73Aa	3,60±1,01Aa
G 2	4,81±2,21Ba	4,10±1,67BCa	4,36±2,08Ba	4,24±2,39BCa	2,56±1,22ACa	2,22±0,75Aa
Mon/μL (x10³)						
G 1	0,17±0,09Aa	0,16±0,09Aa	0,24±0,10Aa	0,12±0,03Aa	0,13±0,08Aa	0,11±0,06Aa
G 2	0,06±0,06Aa	0,11±0,10Aa	0,07±0,06Ab	0,12±0,10Aa	0,05±0,09Aa	0,16±0,05Aa
Pla/μL (x10³)						
G 1	226,00±20,35	214,00±20,73	227,20±13,61	225,20±35,00	238,00±27,46	201,60±21,28
G 2	223,80±79,80	247,72±109,13	279,38±38,35	267,16±74,85	189,42±60,46	165,12±81,28

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste Tukey (P<0,05)

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste Tukey (P<0,05).

He=hemácias, Hb=hemoglobina, VG=volume globular, NS=neutrófilo segmentado, Linf=linfócito, Mon=monócito, Pla=plaquetas.

Tabela 3 - Média e desvio padrão das atividades séricas das enzimas creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (ALP) e os teores plasmáticos de proteína total (PT) e fibrinogênio (FIB) de equinos do grupo controle (G I) e de equinos submetidos à indução de laminite por sobrecarga de carboidratos (G II) ao longo do período experimental.

Parâmetros	Tempo após o fornecimento de carboidratos (h)					
	0	8	12	24	36	48
CK (U/L)						
G 1	291,40±72,83Aa	257,40±63,32Aa	349,72±188,57Aa	262,28±71,63Aa	252,58±63,32Aa	301,14±109,40Aa
G 2	228,28±79,80Aa	247,72±109,13Aa	213,72±38,35Ab	267,16±74,85Aa	189,42±60,46Aa	165,15±81,28Ab
AST (U/L)						
G 1	318,50±65,26	317,40±58,14	305,50±114,49	309,00±56,43	308,20±69,48	291,2±54,76
G 2	269,76±53,18	287,06±24,13	279,38±38,35	261,88±44,60	267,14±44,69	301,2±19,42
ALP (U/L)						
G 1	273,10±48,20ABa	240,50±67,64ABa	280,30±48,86Ba	210,60±44,51ABa	223,90±40,63ABa	202,30±49,63Aa
G 2	311,8±41,30Ab	325,06±20,67Ab	313,44±31,28Aa	339,98±23,44Ab	344,96±31,89Ab	381,44±82,29Ab
PT (g/dL)						
G 1	7,88±0,41Aa	8,00±0,45Aa	7,68±0,46Aa	7,64±0,48Aa	7,44±0,59Aa	7,44±0,59Aa
G 2	7,52±1,07Aa	6,80±0,71Ab	7,00±0,88Aa	7,08±0,73Aa	7,28±1,03Aa	7,36±0,96Aa
FIB (g/dL)						
G 1	0,40±0,09	0,30±0,11	0,40±0,22	0,40±0,17	0,40±0,17	0,40±0,09
G 2	0,32±0,10	0,28±0,10	0,32±0,18	0,28±0,18	0,40±0,24	0,36±0,17

Letras maiúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre grupos pelo teste Tukey (P<0,05)

Letras minúsculas diferentes indicam diferenças significativas entre momentos pelo teste Tukey (P<0,05).

No exame histológico notou-se que as secções de tecido ungueal dos animais do grupo controle indicaram preservação da arquitetura morfológica. Nos cortes histológicos obtidos de equínos do grupo laminite foram observadas alterações morfológicas indicativas de processo degenerativo laminar, como as descritas por (MOORE et al., 1989).

DISCUSSÃO

Os parâmetros clínicos e laboratoriais sugerem graves alterações hemodinâmicas, supostamente devido à complexa patogenia da laminite, a qual muito se assemelha aos mecanismos intermediários da hipertensão sistêmica, da síndrome choque e da coagulação intravascular disseminada (GARNER et al., 1975). Os primeiros sinais de claudicação, apresentados pelos equínos do grupo II ocorreram 12 horas após a administração de carboidratos. Inicialmente, notou-se troca de apoio intermitente do membro e, posteriormente, sinais de sensibilidade ao caminhar, evoluindo para claudicação severa e relutância em mover-se. O tempo necessário para a manifestação de laminite grau III de Obel, foi de 36 horas, semelhante aos relatados por Garner et al. (1975) e Sprouse et al. (1987).

Os equínos com laminite apresentaram aumento de frequência cardíaca em momentos semelhantes ao relatado por Garner et al. (1975), porém elevações estatisticamente significativas foram observadas apenas 36 a 48 horas após a administração de carboidratos, possivelmente devidas à dor e/ou à insuficiência cardiovascular decorrente do aumento da viscosidade sanguínea e da disfunção circulatória periférica. Tais sinais clínicos foram também relatados por Yelle (1986). O tempo de preenchimento capilar aumentou após 24 horas, mas alterações significativas foram notadas somente a partir de 36 horas após o início do período experimental. De acordo com Hood (1980), além de alterações na flora cecal e conseqüente liberação de endotoxinas, a administração de grande volume de carboidratos aumenta a osmolalidade do líquido cecal, causando desvio de líquidos do compartimento extra e intravascular para o lúmen intestinal e este mecanismo pode contribuir na ocorrência de desequilíbrios hidroeletrólíticos e na diminuição do volume plasmático e, conseqüentemente, hemoconcentração. Esses eventos auxiliam na compreensão das alterações observadas na frequência cardíaca, coloração de mucosas e no tempo de preenchimento capilar.

Alterações não significativas na qualidade e frequência do pulso da artéria maxilar externa foram observadas a partir de 24 horas após a administração de carboidratos, nos equínos do grupo II. Estudos relatam que vasoconstrição (MOORE et al., 1989, ALLEN et al., 1990, BAXTER, 1994) e microtrombose (WEISS et al.,

1994) estão relacionadas à fisiopatogenia das degenerações laminares decorrentes da laminite. Em ambos os casos, os autores relatam aumento da pressão venosa e da pressão hidrostática, alterando o fluxo sanguíneo e tornando o pulso digital cheio e forte. O pulso arterial digital elevou-se significativamente a partir de 12 horas do início da fase experimental.

Elevações na temperatura retal foram observadas 36 e 48 horas após a administração de carboidratos, nos equínos do grupo II, possivelmente devido ao crescimento exponencial da microbiota cecal e à conseqüente liberação de substâncias pirogênicas, como citaram Garner et al. (1975) e Pollitt (2001). Não foram constatadas alterações na frequência respiratória. O volume globular dos animais com laminite aumentou significativamente a partir de 36 horas do início do experimento em decorrência das alterações hemodinâmicas já descritas.

Notou-se amolecimento das fezes dos animais do grupo II a partir de 18 horas após a administração de carboidratos, possivelmente pelo aumento da produção de ácido láctico e da osmolalidade, desviando líquidos intra e extravasculares para o lúmen intestinal (HOOD, 1980). Esses eventos também podem ter contribuído para as alterações da motilidade intestinal notada nos equínos do grupo II a partir de 12 horas após a indução da laminite, embora sem significância estatística.

Constatou-se discreto aumento do número de leucócitos nos animais do grupo II, com elevações progressivas não significativas ao longo da fase experimental. Como o aumento do número de leucócitos nos animais do grupo II, às 48 horas, foi acompanhado pelo aumento do número de hemácias, concentração de hemoglobina e volume globular pode-se sugerir que esse aumento ocorreu pela hemoconcentração ocasionada por desidratação. Em trabalho semelhante, Weiss et al. (1995 e 1997a) verificaram leucocitose significativa 28 a 32 horas após a indução da enfermidade, sendo no presente estudo tal fato verificado 48 horas após a indução. Os animais do grupo II apresentaram diminuição significativa do número de eosinófilos 12 horas após a administração de carboidratos, fato não observado no grupo controle. Esse achado pode estar relacionado a uma reação de stress (HOOD, 1980) e com a absorção de substâncias oriundas do lúmen intestinal, em decorrência de alterações ultra-estruturais que ocorrem na mucosa cecal (WEISS et al., 1998). Notaram-se elevações significativas nas contagens de neutrófilos bastonetes e de segmentados nos animais do grupo II, a partir de 36 horas após a indução da laminite, provavelmente por proliferação bacteriana no ceco e inflamação de estruturas do casco / podais.

Weiss et al. (1995) verificaram que houve ativação, seqüestro e agregação de plaquetas quando induziu laminite em pôneis, durante as primeiras 10 horas após o fornecimento de carboidratos. Estudo anterior Weiss et al. (1994) havia reportado diminuição do tempo

de sobrevida plaquetária e evidências cintilográficas do acúmulo de plaquetas no cório laminar de pôneis, no início da claudicação. No entanto, no presente trabalho não foram observadas alterações nas contagens de plaquetas.

Os teores plasmáticos de proteína total e de fibrinogênio e a atividade sérica de aspartato aminotransferase não apresentaram elevações significativas. A atividade sérica de creatina quinase foi maior nos eqüinos do grupo controle, diferentemente do que se imaginava encontrar. A atividade sérica de fosfatase alcalina foi maior nos animais do grupo II, possivelmente pela à sobrecarga hepática induzida pela acidose cecal (KRUEGER et al., 1986).

A estreita relação entre as alterações histológicas e os sinais clínicos de laminite aguda pode fornecer informações importantes no entendimento da fisiopatogenia da degeneração laminar. Algumas hipóteses foram aventadas para justificar a isquemia e a hipoperfusão, eventos que precedem a degeneração laminar. A redução do fluxo sanguíneo nas lâminas do casco ocorreria devida à venuloconstricção (BAXTER, 1994) ou em decorrência da formação de microtrombos na porção venosa da circulação (WEISS et al., 1994). Outros postulados que diferem dessas teorias foram desenvolvidos. Robinson et al. (1976) e Trout et al. (1990) defendem a ocorrência de desvio de sangue pelas anastomoses arteriovenosas como causa de diminuição da perfusão laminar, conquanto Pollitt et al. (1998) e Johnson et al. (1998) atribuem a degeneração da membrana basal e conseqüente destruição das lâminas dérmicas e epidérmicas à ação de metaloproteinases, cuja ativação é desencadeada por substâncias produzidas pelo *Streptococcus bovis*, durante a fase prodrômica da laminite. Os eqüinos com laminite apresentaram alterações degenerativas. A histologia do tecido lamelar do casco revelou a presença de grande variedade de lesões, incluindo adelgaçamento das lâminas epidérmicas primárias e secundárias, retração, achatamento e deslocamento das lâminas dérmicas, vacuolização epidérmica, picnose nuclear, congestão vascular e desorganização do tecido epidérmico, achados semelhantes aos descritos por Mostafa (1986) e Pollitt (1996).

Outros achados foram observados com maior clareza quando se utilizou coloração com ácido periódico de Schiff (PAS), como degeneração da membrana basal. Foi possível observar interrupções ou fragmentações nesta membrana semelhantes àquelas reportadas por Pollitt (1996). Aliás, Pollitt et al. (1998) aventaram a possibilidade da degeneração da membrana basal ocorrer em conseqüência da ação de metaloproteinases ativadas, fator desencadeador da laminite. A formação de edema, decorrente do aumento da pressão hidrostática capilar, reportadas nos trabalhos sobre a hemodinâmica do casco de eqüinos laminíticos, constituem as bases da teoria que atribui o desenvolvimento de laminite à venuloconstricção (ALLEN et al., 1990, BAXTER, 1994). Entretanto,

uma explicação alternativa é a de que as células basais da epiderme se separam da membrana basal e segundo Pollitt (1996) simplesmente deixam as lâminas dérmicas secundárias com pouca quantidade de tecido conectivo, visualizados histologicamente como espaços vazios; também, na presente pesquisa foram notados esses espaços vazios, descritos como retrações do tecido dérmico, e estavam, freqüentemente, associados a rupturas ou fragmentações da membrana basal, nitidamente sem a presença de líquidos. Segundo Pollitt (1996), esses espaços podem ser preenchidos por gases ou ar e ser responsáveis pelo aparecimento de uma linha radioluscente encontrada no aspecto palmar das lâminas do casco, em caso de laminite aguda, ao exame radiográfico. A falta de evidências de edema referida no presente trabalho estão em concordância com as conclusões de Robinson et al. (1976), citando que a formação de edemas não está envolvida na fisiopatogenia da laminite aguda.

Embora descrita na literatura, a presença de células inflamatórias nos ápices das lâminas dérmicas e ao redor dos vasos não foram constantemente observadas nas secções avaliadas, reforçando a afirmação de Moore et al. (1989), de que o termo mais apropriado para essa enfermidade seria “Degeneração Laminar Aguda”.

Ocasionalmente, foram identificados na derme sublamelar vasos sanguíneos, inclusive capilares, contendo material proteináceo amorfo corado em rosa, indicando trombose. A ocorrência desses achados não se assemelha, em quantidade e freqüência, aos resultados descritos por Weiss et al. (1994). Segundo Pollitt (1996), as lesões isquêmicas e as coagulopatias sistêmicas ocorreriam secundariamente e/ou simultaneamente às lesões da membrana basal.

Os resultados deste trabalho permitiram-nos concluir que a elevação do pulso digital e claudicação são as primeiras manifestações clínicas da fase prodrômica da laminite seguidas de alteração do pulso da artéria maxilar externa, aumento do tempo de preenchimento capilar, elevação de freqüência cardíaca e da temperatura retal. Adicionalmente, notou-se aumento da atividade sérica de fosfatase alcalina, provavelmente em razão da sobrecarga hepática.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro (Processo 00/10308-2).

ARTIGO RECEBIDO: Janeiro/2005
APROVADO: Outubro/2005

REFERÊNCIAS

- ALLEN, D., CLARK, E. S., MOORE, J. N. Evaluation of equine digital starling forces and hemodynamics during early laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.51, p.1930-4, 1990.
- BAXTER, G. M. Acute laminitis. **Veterinary Clinics of North America**, v.3, p.627-42, 1994.
- BLAISDELL, F. S., DOBDS, W. J. Evaluation of two microhematocrit methods for quantitating plasma fibrinogen. **Journal the American Veterinary Medical Association**, v. 171, n. 4, p. 340-342, 1977.
- FAGLIARI, J. J., McCLENAHAN, D., EVANSON, B. S., WEISS, D. J. Changes in plasma protein concentrations in ponies with experimentally induced alimentary laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.59, n.10, p.1234-7, 1998.
- GARNER, H. E., COFFMAN, J. R., HAHN, A. W. Arterial pressure, cardiac output, plasma volume and L-lactate changes in equine laminitis. **Physiology**, v.18, p.224-9, 1975.
- HOOD, D. M., AMOSS, M. S., GREMMEL, S. M.; HIGHTOWER, D. Heparin as a preventative for equine laminitis. 1, 1980, Lexington. In: **Equine endotoxemia laminitis symposium**, p.146-9.
- JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 4thed. Philadelphia: Lea. Febiger, 1986. 1221p.
- JOHNSON, P. J., TYAGI, S. C., KATWA, L. C., GANJAM, V. K., MOORE, L. A., KREEGER, J. M., MESSER, N. T. Activation of extracellular matrix metalloproteinases in equine laminitis. **Veterinary Research Communications**, v.142, n.15, p.392-396, 1998.
- JOHNSON, P. J., KREEGER, J. M., KEELER, M., GANJAM, V. K., MESSER, N. T. Serum markers of lamellar basement membrane degradation and lamellar histopathological changes in horses affected with laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v.32, n.6, p.462-468, 2000.
- KANEKO, J. J. **Clinical and biochemistry of domestic animals**. 4thed. New York: Academic Press, 1989. 932p.
- KRUEGER, A. S., KINDEN, D. A., GARNER, H. E. Ultrastructural study of the equine cecum during onset of laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.47, p.1802-12, 1986.
- MOORE, J. N., ALLEN, D., CLARK, S. Pathophysiology of acute laminitis. **Veterinary Clinics of North America**, v.5, p.67-72, 1989.
- MOSTAFA, M. B. **Studies on experimental laminitis in horse**. 1986. Thesis (PhD) – Cairo: College of Veterinary Medicine, University of Cairo, 1986.
- OBEL, N. **Studies on the histopathology of acute laminitis**. Stockholm: Veterinary Stockholm, 1948. p.1-50.
- POLLITT, C. C. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v.28, n.1, p.38-46, 1996.
- POLLITT, C. C., PASS, M. A; POLLIT, S. Batimast (BB-94) inhibits matrix metalloproteinases of equine laminitis. **Equine Veterinary Journal**, Suppl.27., p.119-124, 1998.
- POLLITT, C. C. Equine laminitis: a revised pathophysiology. In: ANNUAL ASSOCIATION, 10., 2001, Kansas City. **Proceeding...** p.99-101.
- ROBINSON, N. E., JONES, G. A., SCOTT, J. B., DABNEY, J. M. Digital vascular responses and permeability in equine alimentary laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.37, p.1171-1174, 1976.
- SPROUSE, R. F., GARNER, H. E., GREEN, M. E. Plasma endotoxin levels in horses subjected to carbohydrate induced laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v.19(1), p.25-8, 1987.
- TROUT, D. R., HORNOF, W. I., LINFORD, R. L., O'BRIEN, T. R. Scintigraphic evaluation of digital circulation during the developmental and acute phases of equine laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v.22, n.6, p.416-21, 1990.
- WEISS, D. J. Equine laminitis: a review of recent research. **Equine Practice**, v.19, n.1, p.16-20, 1997a.
- WEISS, D. J., GEOR, R. J., JOHNSTON, G., TRENT, A. M. Microvascular thrombosis associated with the onset of acute laminitis in ponies. **American Journal of Veterinary Research**, v.55, p.606-12, 1994.
- WEISS, D. J., TRENT, A. M., JOHNSTON, G. Prothrombotic events in the prodromal stages of acute laminitis in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v.56, p.986-91, 1995.
- WEISS, D. J., EVANSON, O. A., FAGLIARI, J. J., VALBERG, S. Evaluation of platelet activation and platelet-neutrophil aggregates in ponies with alimentary laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v.58, n.12, p.1431-4., 1997b.
- YELLE M. Clinicians guide to equine laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v.18, n.2, p.156-8, 1986.