

## Histopatologia das lâminas do casco de equinos com laminite aguda induzida e tratados com ketoprofeno, fenilbutazona e flunixin meglumine

[Histopathology of the digital laminae from horses with acute induced laminitis treated with ketoprofen, phenylbutazone, and flunixin meglumine]

F.O. Paes Leme<sup>1</sup>, F.A.B. Bonna<sup>2</sup>, C.A. De Marval<sup>3</sup>, S.H.N. Xavier<sup>2</sup>, R.L. Santos<sup>1</sup>,  
R.R. Faleiros<sup>1</sup>, G.E.S. Alves<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola de Veterinária - UFMG – Belo Horizonte, MG

<sup>2</sup>Médico veterinário autônomo

<sup>3</sup>PUC - Betim – Betim, MG

### RESUMO

Avaliaram-se as alterações histológicas do tecido laminar, obtido por biópsia, em 20 equinos portadores de laminite induzida por sobrecarga de carboidratos e tratados com ketoprofeno, fenilbutazona ou flunixin meglumine. A biópsia foi colhida dos dígitos torácicos 72 horas após a indução. Os achados histológicos foram comparados com os achados de amostras de equinos isentos de laminite. Infiltrado inflamatório neutrofílico foi observado em 80%, congestão em 50%, hemorragia em 35% e hiperplasia na túnica íntima das arteríolas das lâminas dérmicas primárias em 15% das amostras. As taxas de microtrombos e coágulos foram 15% e 20%, respectivamente. Estes achados parecem decorrer dos distúrbios circulatórios que ocasionaram edema, congestão e hiperemia, seguidos de degeneração. Em 70% das análises realizadas nos animais tratados, as lesões histológicas foram inferiores aos graus de claudicação observados. Conclui-se que a biópsia de tecido laminar digital de equinos é viável, os artefatos decorrentes da técnica de biópsia não prejudicam a análise histológica das amostras e os anti-inflamatórios não esteroidais não são capazes de evitar as lesões laminares quando administrados após o início da sintomatologia clínica de laminite.

Palavras-chave: equino, laminite, histologia digital, anti-inflamatórios não esteroidais

### ABSTRACT

*Experimental laminitis caused by carbohydrate overload was induced in 20 healthy horses. Seventy two hours after induction, samples of the laminar tissue were obtained by biopsy from the thoracic limbs digits for histopathology. The histological findings were compared to samples from horses without laminitis. Neutrophilic infiltrate was observed in 80% of the samples, congestion in 50%, hemorrhage in 35%, and hyperplasia of the arteriolar intima layer of the primary dermal lamina in 15%. Thrombi and intravascular blood clots were observed in 15% and 20% of the samples, respectively. Apparently, these findings were due to circulatory changes that resulted in edema, congestion, and hyperemia, followed by degeneration. In 70% of analyses performed on treated horses, the histological lesions were less severe than the clinical signs of lameness. It is concluded that: (i) the biopsy technique of laminar digital tissue from horses is viable; (ii) the artifacts generated by the biopsy technique do not compromise the histological analyses; and (iii) non-steroidal anti-inflammatory drugs do not avoid laminar lesions when administered after the beginning of clinical signs of laminitis.*

Keywords: equine, laminitis, digital histology, non-steroidal anti-inflammatory drugs

---

Recebido em 23 de outubro de 2009

Aceito em 31 de março de 2010

E-mail: fabiola@vet.ufmg.br

## INTRODUÇÃO

A fisiopatologia da laminite tem sido pesquisada continuamente, contudo permanece ainda inconclusiva (Howarth, 1992; Baxter, 1994; Ingle Fehr e Baxter, 1998; Hood, 1999a, b; Moore, 2005). Pesquisas contínuas sobre laminite produzem massa crítica de conhecimento, com quantidade elevada de aspectos polêmicos, ora aceitos ora contestados. Como exemplo de controvérsia, pode ser citado que, no passado não muito distante, a inflamação laminar foi desacreditada como causa primária de laminite (Moore et al., 1989; Eustace, 1990). Contudo, recentemente a técnica de imunoperoxidase, utilizando anticorpos monoclonais antiequina CD13 específicos para reconhecer polimorfo e mononucleares, foi eficiente para evidenciar o infiltrado de neutrófilos na região perivascular nas lâminas dérmicas, tanto na fase de desenvolvimento quanto na fase clínica de equinos portadores de laminite induzida (Black et al., 2006).

Segundo Stokes (2005), os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na laminite são frequentemente numerosos e interligados, e podem ser agrupados em distúrbio do metabolismo local das células e da integridade ultraestrutural interna do pé e distúrbio vascular predisponente à quebra da integridade celular e inflamação, resultando em uma cascata de eventos que culminam na perda da integridade laminar.

Alterações vasculares primárias, como a ativação das anastomoses arteriovenosas (AAVs), foram sugeridas como hipóteses (Moore et al., 1989; Eustace, 1990; Hood, 1999a). Quando as AAVs são ativadas, há constrição venosa e espessamento das paredes das arteríolas, o que contribui para o aumento da pressão do fluxo e manutenção da circulação de retorno (Junqueira et al., 2002). Stokes (2005) mencionou que, em laboratório, em condições normais, as AAVs digitais estão normalmente abertas. Entretanto, durante a laminite induzida, essas AAVs fecham-se, possivelmente pela potente ação vasoconstritora da endotelina-1 (ET-1), cuja síntese está elevada em resposta a vários mediadores durante os processos inflamatórios relacionados à laminite. Adicionalmente, também foi observada a ativação de ET-1 em tecido laminar de equinos portadores de laminite

adquirida naturalmente ou induzida experimentalmente.

Devido à vasoconstrição com envolvimento das AAVs, apesar do aumento do fluxo de sangue local (Howarth, 1992), ocorre hipertensão capilar e aumento do gradiente hidrostático, resultando em edema que acarreta colapso capilar nas lâminas (Allen et al., 1990; Hood, 1999a; Stokes, 2005). Isso implica isquemia tissular, seguida de inflamação (Moore et al., 1989; Eustace, 1990), degeneração celular (Pollitt e Davies, 1998) com perda da arquitetura das lâminas dérmicas (Grosenbaugh et al., 1991), caracterizada por aumento do volume celular, vacúolos citoplasmáticos e núcleo oval deslocado para próximo da membrana basal (Pollitt, 1996), que pode estar danificada ou ausente (Pollitt e Daradka, 1998).

Durante a transição entre as fases de desenvolvimento e aguda, a isquemia atinge uma intensidade tal que os fatores locais determinantes da vasoconstrição desaparecem, originando hiperemia reflexa (Hood, 1999a). Inicia-se a lesão de reperfusão com magnitude diretamente proporcional à prévia isquemia, podendo ocorrer hemorragia de intensidade variável (Roberts et al., 1980; Galey et al., 1991; Baxter, 1994). Outra ocorrência comum no tecido laminar é a presença de microtrombos resultantes de eventos trombogênicos na fase prodrômica da laminite (Baxter, 1994; Weiss et al., 1995), relacionados à pré-ativação e ao consumo de plaquetas (Weiss et al., 1996).

Em muitos equinos com laminite, ocorre a separação das lâminas dérmicas e epidérmicas secundárias. Segundo Pollitt (1994, 1996) e Pollitt e Daradka (1998), esta pode ser resultado da destruição da membrana pelas metaloproteinases das células basais, ativadas por exotoxinas ou termolisinas produzidas por bactérias (Mungall et al., 2001). Todos os distúrbios acima descritos colaboram para a separação das lâminas com conseqüente rotação ou afundamento da terceira falange, importantes para o prognóstico da laminite (Hunt, 1993; Kuwano et al., 1997).

A hiperemia favorece o aumento da queratogênese nas lâminas epidérmicas mediada por fatores de crescimento epidérmicos, cujos receptores encontram-se aumentados em casos

de laminite (Grosenbaugh et al., 1991), o que pode explicar a ocorrência de hiperplasia epitelial na fase crônica.

Nos trabalhos da literatura consultada, foram utilizadas amostras de tecido laminar de equinos previamente sacrificados (Baxter, 1994; Pollitt, 1996; Weiss et al., 1995, 1996; Hood, 1999a) ou que foram a óbito devido a complicações da laminite (Ekfalck et al., 1992; Kuwano et al., 1997). Segundo Pollitt (1996), as alterações no tecido laminar digital examinadas em cortes histológicos de equinos com laminite podem ser classificadas em escores de 1 a 4.

Alguns animais com laminite não respondem satisfatoriamente ao tratamento, sendo por isso difícil prever a evolução clínica dos animais tratados (Hunt, 1993). Considerando-se que o tecido laminar reflete as alterações presentes na fase de desenvolvimento da laminite, que evoluem com o passar do tempo (Singh et al., 1993) e que podem estar correlacionadas com o grau de claudicação, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações histológicas do tecido laminar, obtido por biópsia de equinos portadores de laminite induzida por sobrecarga de carboidratos e tratados com ketoprofeno, fenilbutazona e flunixin meglumine.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 equinos, provenientes do Município de Canaã-MG, hípidos, sem raça definida, machos, castrados, com idades entre 3 e 15 anos, escore corporal entre 2 (moderado) e 3 (bom), segundo Speirs (1997), e pesos entre 264 e 344kg. Previamente ao experimento, os animais passaram por um período de quarentena, seguida de avaliação clínica, pesagem e enumeração (1 a 20). Os animais permaneceram em piquete até sete dias antes da indução da laminite, quando foram transferidos para baias individuais onde receberam água à vontade, feno (Coast Cross - *Cynodon dactylon*) e ração comercial com 15% de proteína (Nutriage-Guabi, Campinas, Brasil), fornecidos duas vezes ao dia, em quantidade equivalente a 2,5% e 1% do peso corporal animal, respectivamente. À ração foram adicionados 50g de sal mineral para equinos (Centauro 80, Guabi). Sete dias antes da indução experimental os animais foram privados da ração. Após a indução, além de feno e ração, os

animais receberam suplemento eletrolítico (Plusvital-Marcolab, Rio de Janeiro, Brasil) (25g/10L de água), adicionado diariamente à água de beber.

A laminite foi induzida com a administração de amido de milho (Milhena-Nutril, São Paulo, Brasil) (20g/kg de peso corporal), após jejum alimentar e hídrico de 12 horas, segundo modificação do modelo experimental citado por Weiss et al. (1998). Os animais foram aleatoriamente distribuídos em quatro grupos (G), de cinco animais cada, e 36 horas após a indução da laminite receberam, a cada 12 horas, por via intravenosa, 10mL de solução salina 0,9% (Sanobiol, São Paulo, Brasil) (GC) ou 2,2mg/kg de peso corporal de ketoprofeno (GK - Ketofen-Merial, Campinas, Brasil) ou 4,4mg/kg de peso corporal de fenilbutazona (GF - Equipalazone-Marcolab) ou 1,1mg/kg de peso corporal de flunixin meglumine (GFM - Flumegan-Marcolab) por cinco dias. As avaliações clínicas foram realizadas antes da indução da laminite e a cada 12h, até 72h, em horários fixos.

Após 72 horas da administração da sobrecarga de carboidratos, os animais foram submetidos a 12 horas de jejum alimentar e sedados por uma associação de acepromazina 1% (Acepran-Univet S.A., Campinas, Brasil) e romifidina 1% (Sedivet-Boehringer Ingelheim Vetmedica, EUA) nas doses de 0,05mg/kg e 100mcg/kg, respectivamente. A biópsia, realizada segundo Alves et al. (2004), consistiu na penetração do *punch* de biópsia pelo terço médio da face dorsal da muralha do casco, previamente adelgada, utilizando-se grossa e rineta, até ser evidenciada a camada interna branca, macia à palpação, mas preservando-se a área sensível e irrigada. Contidos os animais em tronco, realizou-se antissepsia com iodopovidona - PVPI - degermante e solução de álcool-iodo-álcool, seguida de bloqueios anestésicos perineurais nos nervos palmares, lateral e medial, com lidocaína 2%. O membro foi coberto por compressa cirúrgica e elevado sobre um bloco de madeira protegido por campo cirúrgico. Um *punch* de aço, com o diâmetro da extremidade cortante medindo 1cm, foi posicionado perpendicular ao plano formado pela face dorsal da muralha, no centro da área previamente preparada (Fig. 1a). A biópsia foi realizada por movimentos rotativos e basculares discretos. Para hemostasia, foram

utilizadas compressas de gaze estéril sob pressão (Fig. 1b), mantidas por fita adesiva, trocadas após 12 horas.

Nas avaliações clínicas realizadas durante 10 dias, foram aferidas temperatura retal e frequências cardíacas e respiratórias. Foram, também, avaliadas coloração de mucosas, sensibilidade do casco, pulso digital,

características das fezes e grau de claudicação, segundo Obel (1948). Radiografias látero-mediais, de ambos os membros anteriores, foram realizadas 10 dias após a administração do amido de milho, para determinação do ângulo de posicionamento da terceira falange com relação à muralha do casco. Para a antisepsia diária da ferida, empregou-se iodopovidona a 1%, a cada 24 horas, quando os curativos eram trocados.



(a)



(b)

Figura 1. Biopsia de casco em equino: (a) introdução de “punch” no centro da “janela” aberta no casco e (b) hemostasia compressiva utilizando-se compressas de gaze estéril sob pressão, mantidas por fita adesiva.

As amostras para histopatologia incluíram as camadas de tecido desde a linha branca – *stratum internum* ou *lamellatum* – até a superfície da terceira falange. Logo após as colheitas, as amostras foram acondicionadas em frascos contendo formol salino tamponado a 10%, até o processamento, segundo técnica de rotina do laboratório de histopatologia, incluídas em parafina histológica, cortadas a 5 $\mu$  de espessura e coradas com hematoxilina-eosina e ácido periódico de Shiffer (PAS).

As alterações histológicas observadas à microscopia (Tab. 1) foram classificadas segundo modificação dos escores propostos por Pollitt (1996) e Weiss (1997), com base em comparações realizadas com amostras de animais normais, isentos de laminite, obtidas pela mesma técnica, compondo um grupo testemunha para histopatologia. Para esta análise, cinco animais passaram pelo mesmo período de quarentena e foram submetidos ao mesmo manejo dos animais avaliados após a indução da laminite.

Os graus de claudicação foram comparados e submetidos ao teste de Friedman. As alterações histológicas observadas foram correlacionadas com o grau de claudicação apresentado pelos equinos antes da biopsia, pelo teste de coeficiente de Pearson. O nível de significância adotado para todas as avaliações estatísticas foi de 5%. O programa estatístico utilizado foi o SPSS 11,5 para Windows.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante dois ou três dias após a realização da biopsia, quando examinados em movimento, os equinos apresentaram claudicação discreta do membro correspondente, que em nenhum momento impediu a locomoção espontânea no piquete, nem a alimentação. Este resultado foi semelhante ao mencionado por Singh et al. (1993), quando realizaram biopsias de casco em bovinos. Pelas imagens radiográficas, não se visualizaram na terceira falange reações ósseas significativas correspondentes à área de biopsia, assim como rotação ou afundamento.

Tabela 1. Escores de alteração histológica nas lâminas do casco de equinos com laminite aguda induzida por sobrecarga de carboidratos<sup>1</sup>

Grau	Achado histológico
0	1. lâminas dérmicas e epidérmicas homogêneas e intercaladas, oblíquas ao eixo das lâminas primárias correspondentes; 2. ápice arredondado e firmemente aderido ao tecido conectivo e à membrana basal; 3. células basais com núcleo oval e apical à membrana basal; 4. ausência de infiltrado inflamatório.
1	1. alongamento das lâminas epidérmicas primárias; 2. afilamento das lâminas epidérmicas secundárias; 3. núcleo das células basais arredondado; 4. separação da membrana basal.
2	1. ausência da membrana basal do ápice da lâmina epidérmica secundária; 2. lâminas secundárias distorcidas.
3	1. degeneração das lâminas epidérmicas primárias; 2. necrose celular; 3. separação das lâminas dérmica e epidérmica primárias.
4	1. perda da arquitetura das lâminas; 2. material amorfo na localização das lâminas; 3. núcleos de células basais picnóticos; 4. infiltrado inflamatório perivascular.

<sup>1</sup>Modificado de Pollitt (1996) e Weiss (1997).

O tecido laminar, constituído por lâminas dérmicas e epidérmicas, foi adequado para a avaliação histopatológica das alterações correspondentes às laminites consideradas por Pollitt (1996), sem a influência de artefatos que pudessem ser atribuídos à técnica da biópsia empregada. Mungall et al. (2001) foram os únicos autores consultados que obtiveram peças de abatedouro. Os demais trabalharam com amostras de animais sacrificados ou que foram a óbito em decorrência das complicações da laminite. Segundo Singh et al. (1993), amostras obtidas por biópsia podem fornecer mais detalhes sobre a patogenia e a evolução da laminite, pois analisam amostras frescas, sem artefatos, decorrentes do tempo entre a morte do animal e seu processamento. Também devem ser citados aspectos relevantes quanto ao emprego dessa técnica, que incluem a possibilidade de manter o animal vivo e colher novas amostras, caso necessário.

As lâminas dérmicas e epidérmicas primárias e secundárias obtidas de amostras de animais normais apresentavam-se homogêneas e intercaladas. A maioria das lâminas epidérmicas secundárias apresentava-se oblíqua ao eixo das lâminas primárias correspondentes. As lâminas

epidérmicas secundárias apresentavam ápice arredondado e firmemente aderido ao tecido conectivo e à membrana basal. As células basais das lâminas epidérmicas secundárias apresentavam núcleo oval e apical à membrana basal (Fig. 2). Não havia infiltrado inflamatório.

Os resultados do escore histológico obtido a partir das alterações laminares dos equinos com laminite induzida encontram-se na Tab. 2. O infiltrado neutrofílico multifocal foi observado em 80% das amostras dos animais com laminite induzida. Como as biópsias foram realizadas 72 horas após a administração do carboidrato, é provável que este achado seja consequência das alterações vasculares iniciais, também observadas por Pollitt e Davies (1998) e Hood (1999a, b). Isso caracteriza a presença de inflamação, conforme demonstrado por Black et al. (2006) e mencionado por Stokes (2005), quando se considerou que a inflamação dá origem a uma cascata de eventos, resultando em prejuízo da integridade laminar. Contudo, Moore et al. (1989) e Eustace (1990), anteriormente, desacreditaram a inflamação como causa primária da laminite.

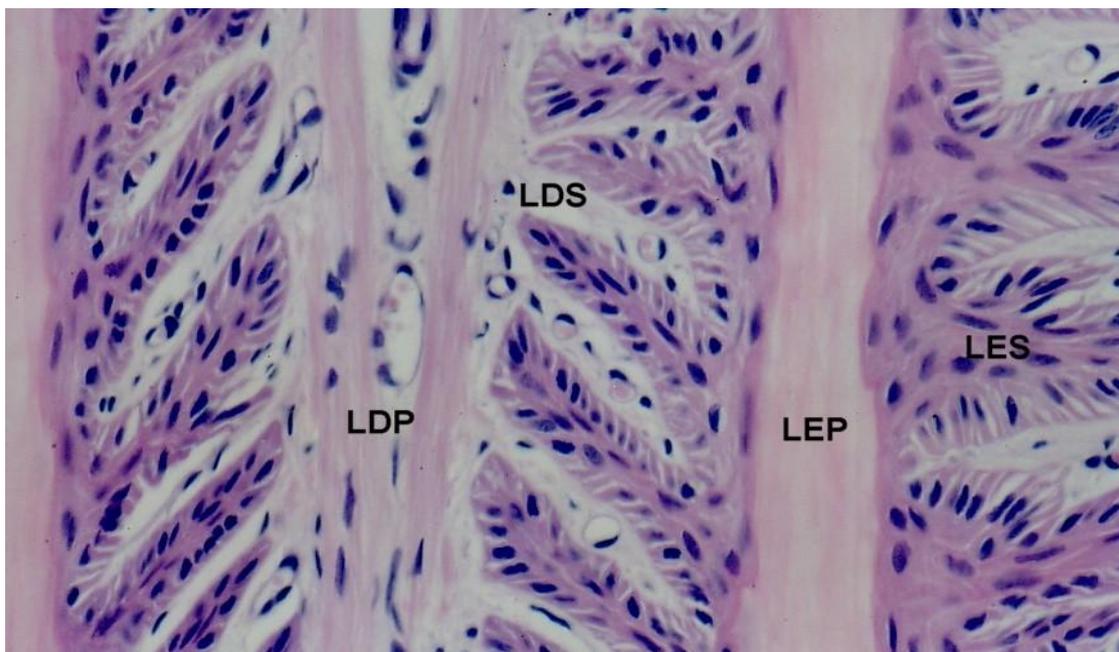


Figura 2. Lâminas do casco de equino saudável (normal). LDP- lâmina dérmica primária, LEP- lâmina epidérmica primária, LDS- lâmina dérmica secundária, LES- lâmina epidérmica secundária. Hematoxilina-eosina, 386x.

Tabela 2. Classificação das alterações histológicas<sup>1</sup>, do casco de equinos submetidos à laminite experimental e tratados com ketoprofeno (GK), fenilbutazona (GF), flunixin meglumine (GFM) ou solução salina (GC)

Classificação	Grupo testemunha (n=5)	GK (n=5)	GF (n=5)	GFM (n=5)	GC (n=5)	Total
Grau 0	5	-	-	-	-	100
Grau 1	-	1	-	-	1	10%
Grau 2	-	3	2	2	3	50%
Grau 3	-	1	1	3	-	25%
Grau 4	-	-	2	-	1	15%

<sup>1</sup>Modificação de Pollitt (1996) e Weiss (1997): 0 - lâminas dérmicas e epidérmicas homogêneas e intercaladas, oblíquas ao eixo das lâminas primárias correspondentes; ápice arredondado e firmemente aderido ao tecido conectivo e à membrana basal; células basais com núcleo oval e apical à membrana basal; sem infiltrado inflamatório. 1 - alongamento das lâminas epidérmicas primárias; afilamento das lâminas epidérmicas secundárias; núcleo das células basais arredondado; separação da membrana basal. 2 - ausência da membrana basal do ápice da lâmina epidérmica secundária; lâminas secundárias distorcidas. 3 - degeneração das lâminas epidérmicas primárias; necrose celular; separação das lâminas dérmica e epidérmica primárias. 4 - perda da arquitetura das lâminas; material amorfo na localização das lâminas; núcleos de células basais picnóticos; infiltrado inflamatório perivascular.

A avaliação de anastomoses arteriovenosas não constituiu objetivo de avaliação pela metodologia do presente experimento que, no entanto, permitiu observar outras alterações circulatórias, tais como congestão e hemorragia, observadas em 50% e 35% das amostras avaliadas, respectivamente. Embora Roberts et al. (1980) não tenham mencionado a presença de hemorragia nas lâminas dérmicas, como observado neste estudo, esses autores citaram a

congestão vascular como sendo um achado comum em amostras de equinos com laminite aguda. Nas amostras com hemorragia considerada severa, houve perda da arquitetura das lâminas. A presença de grande quantidade de eritrócitos e leucócitos potencializou o processo inflamatório e a degeneração, incorrendo em perda da arquitetura laminar. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Ekfalck et al.

(1992), em amostras obtidas de equinos com laminite e que vieram a óbito.

A hiperplasia na túnica íntima das arteríolas das lâminas dérmicas primárias (LDP) foi observada em 15% das amostras (Fig. 3). Segundo Junqueira et al. (2002), esse é um achado comum em casos de vasoconstrição, na tentativa de aumentar a pressão do fluxo e manter o retorno circulatório. Outro achado comum foi a presença de células picnóticas nas lâminas epidérmicas dos animais com laminite induzida, compatíveis com o processo de morte celular, segundo relatado por Faleiros et al. (2004).

Baxter (1994) e Weiss et al. (1995) mencionaram que os trombos são comuns em amostras de lâminas do casco de animais com laminite, contudo eles não foram um achado constante nas amostras deste estudo. Apenas 15% das amostras examinadas continham microtrombos, e outras 20% apresentavam coágulos, o que pode estar relacionado aos eventos pró-trombóticos da fase prodrômica da laminite, como mencionaram Weiss et al. (1996) e Weiss (1997).

As alterações mais frequentemente encontradas foram congestão, infiltrado inflamatório neutrofílico, degeneração de células epiteliais das lâminas epidérmicas secundárias, assimetria entre as lâminas dérmicas e epidérmicas, separação e perda da arquitetura entre as lâminas e ruptura da membrana basal. Tais achados podem estar relacionados aos distúrbios circulatórios que ocasionaram edema, congestão e hiperemia celulares, seguidas de degeneração e necrose, e foram semelhantes aos resultados encontrados por Pollitt (1996).

Com 36 horas, 75% dos animais apresentaram graus de claudicação entre I e III, segundo Obel (1948), sendo 50% grau I, 20% grau II e 5% grau III. Com o passar do tempo, a relação inicial entre os graus de claudicação se modificou, e observaram-se valores iguais (25%) entre os graus I, III e IV, 72 horas após a indução da laminite (Tab. 3). Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) quanto à claudicação entre os animais dos diferentes grupos tratados.

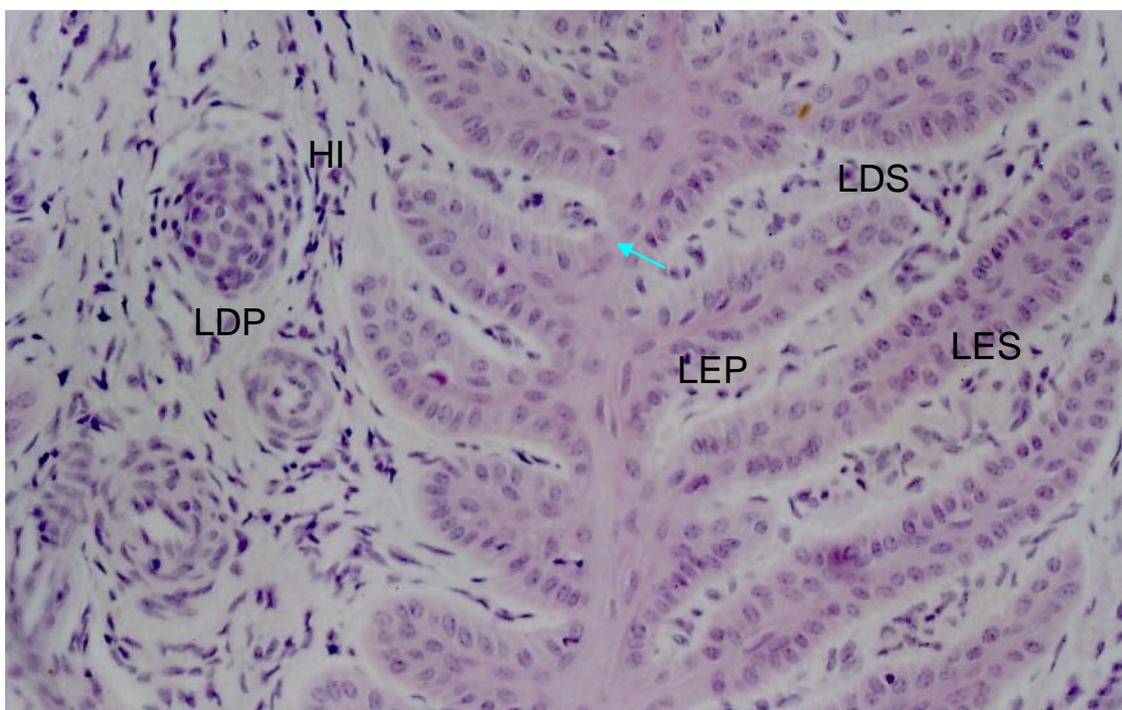


Figura 3. Equino. Lâminas epidérmicas secundárias alongadas, assimétricas, onduladas. Núcleos picnóticos sinalizando morte celular (seta). Hiperplasia da túnica íntima (HI) das arteríolas presentes na lâmina dérmica primária (LDP). LEP - lâmina epidérmica primária, LDS - lâmina dérmica secundária, LES - lâmina epidérmica secundária. Hematoxilina-eosina, 244x. Animal 1 do grupo tratado com ketoprofeno (GK).

Tabela 3. Percentagem de equinos com claudicação\*, apresentados após a indução da laminite\*\*

Classificação	0h(a) <sup>1</sup>	6h(a)	12h(a)	24h(a)	36h(b)	48h(b)	60h(b)	72h(b)
I	-	-	10	20	50	35	35	25
II	-	-	-	-	20	25	20	5
III	-	-	-	-	5	15	25	25
IV	-	-	-	-	-	-	10	25
% do total			10	20	75	75	90	80

\*Segundo Obel (1948): I - troca constante de apoio do peso entre os membros anteriores; II - encurtamento do passo; III - relutância à locomoção; IV - resistência à locomoção e, eventualmente, decúbito.

\*\* Protocolo de Weiss et al. (1998) modificado

<sup>1</sup>Letras diferentes representam diferença estatística ( $P < 0,05$ ) pelo teste de Friedman.

Segundo Baxter (1994), as lesões das lâminas dependem da resposta do animal à terapia empregada. Animais refratários à terapia apresentam, invariavelmente, lesões laminares de maior intensidade. De acordo com Hood (1999a), o tratamento com anti-inflamatórios não esteroidais pode quebrar o ciclo da isquemia, e reperfusão e, em alguns casos, os animais se recuperam totalmente. Não houve diferença entre os três anti-inflamatórios não esteroidais utilizados neste estudo. Isto se deve, provavelmente, a mecanismos de ação semelhantes ou mesmo ao tempo decorrido do início das lesões antes do início do tratamento.

Considerando que o tratamento foi iniciado 36h após a administração da sobrecarga de carboidrato, quando os animais já apresentavam sintomas de laminite, os achados deste estudo sugerem que as alterações foram progressivas e que os anti-inflamatórios testados não foram capazes de evitar a evolução do processo instalado. Isto ocorreu pelo fato de que 90% dos animais apresentaram grau variado de claudicação às 60h e 80% às 72h após a indução, independentemente de terem recebido tratamento.

Assim como Roberts et al. (1980) e Pollitt (1996) propuseram, estimou-se a correlação entre o escore de claudicação e as alterações laminares por acreditar-se que possam ser comparados caso se considere que as alterações celulares culminam em dor e, portanto, claudicação de intensidade proporcional à alteração celular local. Entretanto, o tratamento empregado parece ter diminuído as lesões no tecido laminar dos cascos, o que explica a correlação média ( $r = 0,74$ ) observada entre os achados histológicos e o grau de claudicação em 70% dos animais tratados. Como mencionou Obel (1948), a claudicação depende de vários fatores, que

incluem não somente as lesões no tecido laminar, mas também a dor vivenciada pelos animais, variável subjetiva e dependente de limiar individual, mas que está diretamente envolvida ao grau de injúria tecidual mediada pelas alterações celulares que envolvem o processo inflamatório.

## CONCLUSÕES

A biopsia de tecido laminar digital de equinos é viável e não acarreta prejuízo à locomoção e à evolução clínica dos animais acompanhados, tampouco prejudica a análise histológica das laminais digitais. Os anti-inflamatórios não esteroidais utilizados não foram capazes de evitar as lesões laminares, mas parecem reduzi-las quando se comparam animais tratados e controle.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, D.; CLARK, E.S.; MOORE, J.N. et al. Evaluation of equine digital Starling forces and hemodynamics during early laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.51, p.1930-1934, 1990.
- ALVES, G.E.S.; PAES LEME, F.O.; MARVAL, C.A. et al. Biopsia digital em equinos com laminite induzida por sobrecarga de carboidratos. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.41, suppl., p.264, 2004.
- BAXTER, G.M. Acute laminitis. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, v.10, p.627-642, 1994.
- BLACK, S.J.; LUNN, D.P.; YIN, C. et al. Leukocyte emigration in the early stages of laminitis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.109, p.161-166, 2006.
- EKFALCK, A.; RODRIGUEZ, H.; OBEL, N. Histopathology in post-surgical laminitis with a peracute course in a horse. *Equine Vet. J.*, v.24, p.321-324, 1992.

- EUSTACE, R.A. Equine laminitis. *In Pract.*, v.12, p.156-161, 1990.
- FALEIROS, R.R.; STOKES, A.M.; EADES, S.C. et al. Apoptosis in epidermal lamellar cells in clinically healthy horses and those with laminitis. *Am. J. Vet. Res.*, v.65, p.578-585, 2004.
- GALEY, F.D.; WHITLEY, H.E.; GOETZ, T.E. et al. Black walnut (*Juglans nigra*) toxicosis: a model for equine laminitis. *J. Comp. Pathol.*, v.104, p.313-326, 1991.
- GROSENGAUGH, D.A.; HOOD, D.M.; AMOSS, M.S. et al. Characterization and distribution of epidermal growth factor receptors in equine hoof wall laminar tissue: comparison of normal horses and horses affected with chronic laminitis. *Equine Vet. J.*, v.23, p.201-206, 1991.
- HOOD, D.M. Laminitis as a systemic disease. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, v.15, p.481-494, 1999a.
- HOOD, D.M. Laminitis in the horse. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, v.15, p.287-294, 1999b.
- HOWARTH, S. Laminitis an end stage endocrinopathy? *Equine Vet. Educ.*, v.4, p.123-126, 1992.
- HUNT, R.J. A retrospective evaluation of laminitis. *Equine Vet. J.*, v.25, p.61-64, 1993.
- INGLE FEHR, J.E.; BAXTER, G.M. Evaluation of digital and laminar blood flow in horses given a low dose of endotoxin. *Am. J. Vet. Res.*, v.59, p.192-196, 1998.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J.; KELLEY, R.O. *Histologie, Herausgegeben von Gratzl*. Berlin: Springer, 2002. 482p.
- KUWANO, A.; NAKANISHI, Y.; KATAYAMA, Y. et al. Clinical and pathological study in a case of sinker laminitis developed after race and transportation. *J. Equine Sci.*, v.8, p.49-55, 1997.
- MOORE, J.N.; ALLEN, D.J.; CLARK, E.S. Pathophysiology of acute laminitis. *Vet. Clin. N. Am. Equine Pract.*, v.5, p.67-72, 1989.
- MOORE, R.M. Diagnosis and treatment of laminitis in horses: present and future. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA, 2., 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: EV-UFGM, 2005. p.46-50.
- MUNGALL, B.A.; TANNER, M.K.; POLLITT, C.C. In vitro evidence for bacterial pathogenesis of equine laminitis. *Vet. Microbiol.*, v.79, p.209-223, 2001.
- OBEL, N. Studies on the histopathology of acute laminitis. *Vet. Stockholm*, p.1-50, 1948.
- POLLITT, C.C. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. *Equine Vet. J.*, v.28, p.38-46, 1996.
- POLLITT, C.C. The basement membrane at the equine hoof dermal epidermal junction. *Equine Vet. J.*, v.26, p.399-407, 1994.
- POLLITT, C.C.; DARADKA, M. Equine laminitis basement membrane pathology: loss of type IV collagen, type VII collagen and laminin immunostaining. *Equine Hoof*, v.26, p.139-144, 1998.
- POLLITT, C.C.; DAVIES, C.T. Equine laminitis: its development coincides with increased sublamellar blood flow. *Equine Hoof*, v.26, p.125-32, 1998.
- ROBERTS, E.D.; OCHOA, R.; HAYNES, P.F. Correlation of dermal-epidermal laminar lesions of equine hoof with various disease conditions. *Vet. Pathol.*, v.17, p.656-666, 1980.
- SINGH, S.S.; WARD, W.R.; MURRAY, R.D. Technique of hoof biopsy in cattle. *Vet. Rec.*, v.133, p.190-191, 1993.
- SPEIRS, V.C. The alimentary tract. In: \_\_\_\_\_. *Clinical examination of horses*. Philadelphia: Saunders, 1997. p.261-298.
- STOKES, A.M. The pathophysiology of acute laminitis. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DO CAVALO ATLETA, 2., 2005, Belo Horizonte. *Anais...* Belo Horizonte: EV-UFGM, 2005. p.83-89.
- WEISS, D.J. Equine laminitis: a review of recent research. *Equine Pract.*, v.19, p.16-20, 1997.

WEISS, D.J.; EVANSON, O.A.; McCLENAHAN, D. et al. Effect of a competitive inhibitor of platelet aggregation on experimentally induced laminitis in ponies. *Am. J. Vet. Res.*, v.59, p.814-817, 1998.

WEISS, D.J.; MONREAL, L.; ANGLES, A.M. et al. Evaluation of thrombin-antithrombin complexes and fibrin fragment D in carbohydrate induced acute laminitis. *Res. Vet. Sci.*, v.61, p.157-159, 1996.

WEISS, D.J.; TRENT, A.M.; JOHNSTON, G. Prothrombotic events in the prodromal stages of acute laminitis in horses. *Am. J. Vet. Res.*, v.56, p.986-991, 1995.