

Evaluación ultrasonográfica de las estructuras internas del dígito equino a través de la técnica transmural del casco: Estudio Piloto

**Andrés Felipe Castro Mesa, MV**

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Ciencias Veterinarias**

Tutor:

José Ramón Martínez Aranzales, MVZ, MS, PhD

Asesores:

Olimpo Juan Oliver Espinosa MV, MS, DVSc

Rafael Resende Faleiros, MV, MS, PhD

Línea de Investigación:

Línea de Investigación en Medicina y Cirugía Equina (LIMCE)

Grupo de Investigación:

Grupo CENTAURO

Universidad de Antioquia

Programa de Posgrados Facultad de Ciencias Agrarias

Maestría en Ciencias Veterinarias

Medellín, Colombia

2022

## *Agradecimientos*

*En primer lugar, a mi tutor, José Ramón Martínez, por su tiempo, ayuda y apoyo constante, al comité asesor, Olimpo Oliver y Rafael Faleiros, por su conocimiento y disposición. Todos aportaron de manera invaluable a mi proceso. Resalto a mi tutor y al Dr. Olimpo, quienes lo hacen desde el pregrado.*

*Agradecimiento especial a los laboratorios de Anatomía y Parasitología Veterinaria de la Universidad de Antioquia, a la profesora Lynda Tamayo, al auxiliar Camilo Vélez y, a mi amigo J. Leonardo “Leo” Navarro. Por permitir el desarrollo de mi trabajo.*

*Por último, agradezco a la Corporación Universitaria Lasallista por el uso de las instalaciones del Centro de Prácticas Santa Inés y de la Clínica Veterinaria “Hermano Octavio Martínez López”. Gracias a Claudia González y al profesor Cristian Castillo.*

**A mi familia y a mi pareja, Ana María Gómez, por su apoyo constante.**

## Tabla de contenido

<b>Agradecimientos</b> .....	2
<b>Lista de tablas</b> .....	7
<b>Lista de figuras</b> .....	9
<b>Lista de gráficos</b> .....	15
<b>Lista de abreviaturas</b> .....	16
<b>1. Resumen</b> .....	18
<b>Abstract</b> .....	19
<b>2. Introducción</b> .....	20
<b>3. Marco teórico</b> .....	22
<b>3.1 Anatomía e histología del dígito</b> .....	22
<b>3.2 Laminitis</b> .....	29
<b>3.2.1 Definición</b> .....	29
<b>3.2.2 Factores de riesgo y fisiopatología</b> .....	31
<b>3.2.3 Signos clínicos y fases de desarrollo</b> .....	37
<b>3.2.5 Tratamiento</b> .....	40
<b>3.3 Ayudas diagnósticas utilizadas para evaluar la parte distal de los miembros</b> .....	41
<b>3.3.1 Estudios histopatológicos</b> .....	42
<b>3.3.2 Evaluación radiográfica</b> .....	42
<b>3.3.3 Venografía digital</b> .....	48
<b>3.3.4 Resonancia Magnética (RM)</b> .....	50
<b>3.3.5 Evaluación por Ultrasonido</b> .....	54
<b>4. Objetivos</b> .....	55
<b>4.1 Objetivo general:</b> .....	55
<b>4.2 Objetivos específicos:</b> .....	55

<b>5. Materiales y métodos</b> .....	56
<b>5.1 Criterios de inclusión</b> .....	56
<b>5.2 Medidas a evaluar</b> .....	58
<b>5.3 Evaluación radiográfica</b> .....	59
<b>5.4 Evaluación ultrasonográfica</b> .....	60
<b>5.4.1 Preparación</b> .....	60
<b>5.4.2 Medios conductores</b> .....	61
<b>5.4.3 Porcentaje de humedad y temperatura de la superficie del casco:</b> .....	62
<b>5.4.4 Técnica ultrasonográfica</b> .....	63
<b>5.5 Cortes anatómicos</b> .....	66
<b>5.6 Estudio piloto (pretest)</b> .....	67
<b>5.7 Correlación entre los métodos</b> .....	68
<b>5.7.1 Fase 1</b> .....	68
<b>5.7.2 Fase 2</b> .....	68
<b>5.8 Diseño estadístico</b> .....	68
<b>5.8.1 Fase 1. Cascos en piezas anatómicas.</b> .....	69
<b>5.8.2 Fase 2. Cascos de equinos vivos.</b> .....	69
<b>6. Resultados</b> .....	70
<b>6.1 Resultados cualitativos</b> .....	70
<b>6.2 Resultados cuantitativos</b> .....	74
<b>7. Discusión</b> .....	91
<b>7.1 Discusión de resultados cualitativos</b> .....	93
<b>7.2 Discusión de los resultados cuantitativos</b> .....	97
<b>8. Conclusiones</b> .....	103
<b>Anexos</b> .....	104
<b>Anexo 1. Aval Comité de ética para la experimentación con animales (CEEA)</b> .....	<b>103</b>

<b>Anexo 2. Formato para el monitoreo de los equinos vivos durante la evaluación ultrasonográfica transmural.....</b>	<b>104</b>
<b>Anexo 3. Formato para registrar las medidas y hallazgos en la ejecución de la técnica transmural. ....</b>	<b>106</b>
<b>Hallazgos incidentales .....</b>	<b>107</b>
<b>Referencias.....</b>	<b>113</b>

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Principales categorías de laminitis y sus correspondientes modelos experimentales (Van Eps & Burns, 2019). .....	32
<b>Tabla 2.</b> Técnica radiográfica utilizada para evaluar los 62 cascos de Caballos Criollos Colombianos seleccionados para ambas fases experimentales. ....	57
<b>Tabla 3.</b> Técnica ultrasonográfica utilizada para evaluar los 62 cascos de Caballos Criollos Colombianos, seleccionados para ambas fases experimentales. ....	63
<b>Tabla 4.</b> Calidad de imágenes radiográficas, ultrasonográficas y de los cortes anatómicos en los cascos sujetos de estudio de ambas fases experimentales. ....	75
<b>Tabla 5.</b> Resultados descriptivos de las variables: Tiempo de inmersión, humedad y temperatura del casco en los sujetos de estudio de ambas fases experimentales. ....	76
<b>Tabla 6.</b> Influencia de las variables humedad, temperatura o tiempo de inmersión en la calidad de la imagen ecográfica. Fase 1 (cascos en piezas). ....	76
<b>Tabla 7.</b> Influencia de las variables humedad, temperatura o tiempo de inmersión en la calidad de la imagen ecográfica. Fase 2 (cascos de equinos vivos). ....	77
<b>Tabla 8.</b> Medidas obtenidas de 15 cascos de miembros torácicos de equinos a través de la radiografía digital, ultrasonografía y cortes anatómicos, instrumentalizados en la fase 1. ....	78
<b>Tabla 9.</b> Medidas obtenidas de 15 cascos de miembros pélvicos de equinos a través de la radiografía digital, ultrasonografía y cortes anatómicos, instrumentalizados en la fase 1. ....	79
<b>Tabla 10.</b> Comparación de medidas radiográficas, ultrasonográficas y de cortes anatómicos de los cascos, realizadas en la fase 1. ....	81
<b>Tabla 11.</b> Comparación de medidas ultrasonográficas y de cortes anatómicos realizados a los cascos utilizados en la fase 1. ....	83

<b>Tabla 12.</b> Medidas obtenidas de 16 cascos de miembros torácicos de equinos, a través de la radiografía digital y ultrasonografía, evaluados en la fase 2.....	85
<b>Tabla 13.</b> Medidas obtenidas de 16 cascos de miembros pélvicos de equinos, a través de la radiografía digital y ultrasonografía, evaluados en la fase 2.....	86
<b>Tabla 14.</b> Comparación de medidas radiográficas y ultrasonográficas realizadas a los cascos de equinos, utilizados en la fase 2. ....	87
<b>Tabla 15.</b> Comparación de medidas ultrasonográficas evaluadas en los tres niveles de la superficie parietal de la tercera falange, en la fase 1. ....	89
<b>Tabla 16.</b> Comparación de medidas ultrasonográficas evaluadas en los tres niveles de la superficie parietal de la tercera falange, en la fase 2. ....	89

## Lista de figuras

- Figura 1.** Pared del casco equino y su capa laminar interna. Láminas epidérmicas secundarias (LES) incrementan el área de superficie de cada lámina epidérmica primaria (LEP) con forma de hoja. Células basales epidérmicas cubren la superficie de cada LES. Adaptado de Pollitt, (2004a). .....25
- Figura 2.** La falange distal es suspendida dentro de la cápsula del casco por el aparato suspensorio (ASFD), al ligar toda la superficie parietal de la falange distal a las láminas internas de la pared del casco. Adaptado de Pollitt, (2010). .....27
- Figura 3. a)** Una única lámina de vaso laminar que muestra la vena marginal (MV) y un entramado de vasos capilares finos adyacentes a arterias y venas laminares axialmente localizadas. A ambos lados de la arteria hay venas axiales (V). La pared del casco está a la izquierda, y la falange distal a la derecha. (barra= 1mm). **b)** Corrosión de los vasos de la dermis laminar. Un entramado de capilares finos (C) cubren las arterias (A) y venas (V) laminares ubicadas axialmente. La pared del casco está a la izquierda. (barra= 100µm). Pollitt & Molyneux (1990). .....28
- Figura 4.** Fuerzas mecánicas sobre la falange distal y el casco: 1. Carga del peso corporal a través de la columna ósea (amarillo); 2. Soporte de la falange distal ejercidas por la suela y la ranilla (rojo); 3. Tracción proximal-palmar del tendón flexor digital profundo (azul); 4. Unión laminar entre la falange distal y la pared del casco (verde); 5. Fuerza de tracción del tendón extensor digital común (amarillo oscuro). Modificado de Bras & Morrison, (2021). .....31
- Figura 5.** Células positivas a CD13 en láminas control y afectadas. Tinción por inmunoperoxidasa utilizando anticuerpo monoclonal anti CD13 equino, indicando ausencia de leucocitos en el intersticio circundante a la vénula laminar (V) en el caballo control (A), un incremento marcado de células positivas a CD13 (flechas negras pequeñas) en la fase de desarrollo (B) y al inicio de la claudicación (C). En (D), la mayoría de las células positivas a CD13 ubicadas en el intersticio perivenular (flechas pequeñas)

son neutrófilos, como se indica por una morfología nuclear similar al neutrófilo circulante presente en el lumen venular (flecha negra grande) (Black *et al.*, 2006). .....34

**Figura 6.** Microfotografía del tejido lamelar de caballos normales y laminíticos (inducido por sobrecarga de carbohidratos - CHO), al inicio de la fiebre, inicio de claudicación (Grado Obel 1) e inicio de claudicación severa (Grado Obel 3). Los leucocitos mieloides y las células epidermales, positivas a calprotectina, tiñen de rojo. Ninguna o escasas se observan en caballos normales, mostrando la ausencia de neutrófilos residentes y subpoblaciones de macrófagos activados en las láminas. El reclutamiento leucocitario coincide con el inicio de la fiebre. Una expresión difusa e intensa de calprotectina puede observarse en la epidermis al inicio de claudicación, junto con un reclutamiento marcado de leucocitos mieloides. Cuando la claudicación progresa a Grado Obel 3, puede observarse que los leucocitos alcanzan la matriz extracelular, y el deterioro en la arquitectura de las láminas epidérmicas, pero aún se observa expresión difusa de calprotectina (Faleiros & Belknap, 2017).....36

**Figura 7.** Casco de un caballo con laminitis crónica mostrando crecimiento anormal, presencia de anillos de crecimiento amplios en los talones, donde hay más crecimiento (cabezas de flechas); y convergentes o más estrechos en la pinza (flecha), donde hay mínimo crecimiento (Parks & Belknap, 2011).....39

**Figura 8.** Medidas obtenidas de las radiografías latero-mediales del dígito, que pueden ser usadas para evaluar desplazamiento distal de la falange distal (Parks & Belknap, 2011)..... **¡Error! Marcador no definido.**

**Figura 9.** Evaluación de la rotación de la falange distal en casos crónicos de laminitis (Parks & Belknap, 2011). .....45

**Figura 10.** Diagrama que muestra las medidas y ángulos de las estructuras internas del casco, a partir de proyecciones radiográficas latero-medial. D= Distancia de hundimiento, WT = Grosor de la pared. Ángulo R = T – U; Ángulo H = T – S. X = Posición de foco del rayo X (Cripps & Eustace, 1999b). .....46

**Figura 11.** Hallazgos radiográficos de desplazamiento distal asimétrico. **a)** Disparidad en la margen solar de los procesos palmares en radiografía lateral (flechas). **b)** En el lado desplazado en la radiografía dorso palmar, se observa disminución del grosor de la suela, aumento del ancho del espacio de la articulación interfalángica distal (flechas), e incremento del grosor del casco (Parks & Belknap, 2017).....48

**Figura 12.** Venograma de un casco normal, vista latero-medial. Tomado y modificado de Rucker, (2010a).....49

**Figura 13.** Imágenes Transversas magnificadas en T2\*. A la izquierda, imagen de un casco normal, se nota la apariencia heterogénea normal del corion y la apariencia uniforme de las láminas. A la derecha, imagen de un casco con laminitis aguda, se nota los cambios en la intensidad del corion y homogeneidad al compararlos con la imagen anterior; hay disrupción y pérdida de uniformidad en las láminas y una línea de separación es identificada por las cabezas de flecha. HW: Pared del casco, L: Láminas, C: Corion y P3: Falange distal (Arble, *et al.*, 2009). .....51

**Figura 14.** Imagen RM transversa T2\* (A), Radiografía lateromedial (B), y sección histológica con tinción H y E (C) de un casco con laminitis. La imagen RM (A) muestra las alteraciones en el corion y las láminas. Area de separación (asterisco). Area de incremento en la intensidad de la señal (flecha blanca). Señal focal hipointensa está presente dentro de las láminas (cabeza de flecha blanca), representando gas o hemorragia aguda. El grado leve de separación, explicado por la inexistencia de cambios radiográficos (B). Histológicamente, muestra la separación entre las láminas dérmicas y epidérmicas. Se nota la hemorragia (acumulación de glóbulos rojos). HW: Pared del casco, L: Láminas, C: Corion y P3: Falange distal (Arble, *et al.*, 2009).....51

**Figura 15.** Imagen del lado izquierdo, se evidencia gas y separación laminar dorsal (flechas negras). Imagen del lado derecho, hay disrupción laminar, burbujas pequeñas de baja señal (consistentes con gas) (flecha negra) y aumento discreto de señal en las láminas dorso-distales (consistentes con acúmulo de fluidos) (flecha blanca) (Murray, *et al.*, 2003). .....52

- Figura 16.** Flujograma de la toma de decisiones sobre la pertinencia del uso de la RM, en casos de laminitis que requieren ser monitoreados. ....54
- Figura 17.** Radiografía latero-medial del casco de un miembro torácico de Caballo Criollo Colombiano, donde el ajuste de contraste permite diferenciar los tejidos queratinizados de los tejidos blandos, observando: **a)** Distancia rodete coronario-proceso extensor (A), pared del casco en el nivel proximal (P1), medio (P2) y distal (P3), y distancia ápice-pared (B). **b)** Capa radiográfica profunda o dermis parietal (D) en el nivel proximal (D1), medio (D2) y distal (D3), y la dermis solear (S). ....60
- Figura 18.** Sistema de inmersión utilizados para los cascos estudiados. **a)** Uso de contenedores plásticos para sumergir piezas anatómicas congeladas. **b)** Uso de bolsas vacías de fluidos de tres (3) litros para la inmersión de los cascos de equinos vivos. ...62
- Figura 19.** Ubicación del transductor en la técnica ultrasonográfica transmural (rectángulos). **a)** El transductor es posicionado en el eje sagital, tras identificar la AIFD, y el proceso extensor. **b)** Corte ultrasonográfico transverso a nivel del rodete coronario. 64
- Figura 20.** Ultrasonografías del casco en Caballo Criollo Colombiano, a través de la técnica transmural. **a)** Miembro torácico: Evaluación ultrasonográfica transversa, sobre el rodete coronario, mostrando el proceso extensor de la falange distal (flecha roja) y distancia A (rodete coronario-proceso extensor) **b)** Miembro pélvico: Proceso extensor (flecha roja), papilas de la corona (rectángulo verde interrumpido), pared del casco (P1 y P2), dermis parietal (D1 y D2), UDE (L1 y L2), y dermis vascular sublaminaar (C1 y C2), en el nivel proximal y medio, respectivamente. **c)** Miembro pélvico: Ápice de la falange distal (flecha azul), papilas solares (óvalo amarillo punteado), distancia ápice-pared (B), dermis solear (S), nivel distal de la pared del casco (P3), dermis parietal (D3), UDE (L3) y dermis vascular sublaminaar (C3). ....65
- Figura 21.** Corte anatómico sagital de un casco torácico equino. **a)** Distancia A (rodete coronario-proceso extensor), réplicas de la pared del casco (P1, P2 y P3) y la dermis parietal (D1, D2 y D3) en el nivel proximal, medio y distal, respectivamente. Distancia B (ápice-pared) y S (dermis solear). **b)** Detalle ampliado, donde se observan las réplicas de

la UDE (L1, L2 y L3) y la dermis vascular sublamina (C1, C2 y C3) en el nivel proximal, medio y distal, respectivamente. ....67

**Figura 22.** Estructuras internas del casco a nivel proximal, observadas con la técnica ultrasonográfica transmural en equinos vivos y su correspondencia al corte anatómico. **a)** Corte anatómico sagital del casco de un miembro torácico al cuál se le realizó repleción a través de la arteria mediana. **b)** Ultrasonografía sagital inmediatamente distal a la AIFD a través del casco de un miembro pélvico. **c)** Ultrasonografía transmural (sagital) del casco de un miembro pélvico. Transición entre los estratos medio (o pared) e interno (o laminar) de la epidermis (flecha roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublamina (flecha morada). Entre estas dos últimas se encuentra la UDE. Fibrocartílago modificado “periostio” (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal (flecha verde), el cual, a nivel del proceso extensor (flechas blancas), sólo presenta el aspecto hiperecogénico característico en la inserción del tendón extensor digital común/largo (1). Papilas de la corona (área entre líneas verdes interrumpidas). Arteria coronaria (círculo blanco interrumpido). Vasos coronarios (área entre líneas amarillas interrumpidas). 1: tendón extensor digital común/largo. 2: hipodermis (almohadilla) de la corona. 3: piel. 4: dermis del perioplo. 5: perioplo (estrato externo). 6: falange media. 7: AIFD. Área donde pierde contacto el transductor (triángulo amarillo claro) en b. ....70

**Figura 23.** Hallazgos comparativos de las estructuras internas del casco a nivel distal, observadas con la técnica ultrasonográfica transmural en una pieza anatómica y la técnica ultrasonográfica transmural. **a)** Corte anatómico sagital del casco de un miembro torácico al cuál se le realizó repleción a través de la arteria mediana. **b)** Ultrasonografía en un miembro torácico de un equino vivo. **c)** Transposición entre el corte anatómico sagital y transversal. **d)** Recuadro ampliado, donde se observa la región más interna del estrato medio de la epidermis (recuadro naranja interrumpido). Transición entre los estratos medio (o pared) e interno (laminar) de la epidermis (flecha doble roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublamina (flecha doble morada). Entre estas dos últimas se encuentra la UDE. Se obtiene mejor detalle de los vasos sublaminares y

de la UDE en el corte transverso. Fibrocartílago modificado “periostio” (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal (flecha doble verde), con la respectiva sombra acústica producto de la masa ósea de la falange distal (recuadro blanco interrumpido). Ápice de la falange distal (flecha azul). Superficie solear de la falange distal (línea negra), no observada en el ultrasonido. Papilas soleares (flacas amarillas) que limitan la dermis solear (líneas rojas interrumpidas). Arteria circunfleja o vénulas (círculo amarillo interrumpido) .....74

## Lista de gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos, según la prueba de Friedman. ....	81
<b>Gráfico 2.</b> Medidas estadísticamente similares en miembros pélvicos, según la prueba de Friedman. ....	82
<b>Gráfico 3.</b> Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos, según la prueba de Wilcoxon.....	84
<b>Gráfico 4.</b> Medidas estadísticamente similares en miembros pélvicos, según la prueba de Wilcoxon.....	84
<b>Gráfico 5.</b> Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos y pélvicos, según la prueba de Wilcoxon.....	88
<b>Gráfico 6.</b> Medidas ultrasonográficas estadísticamente similares en los tres niveles, según la prueba de Friedman.....	90
<b>Gráfico 7.</b> Medidas ultrasonográficas estadísticamente similares en los tres niveles, según la prueba de Friedman.....	91

## Lista de abreviaturas

A	Distancia rodete coronario-proceso extensor
AAVs	Anastomosis Arterio-Venosas
AIFD	Articulación Interfalángica Distal
AN	Cortes Anatómicos
ASFD	Aparato Suspensorio de la Falange Distal
B	Distancia ápice-pared del casco
BWE	Black Walnut Extract (extracto de nogal negro)
C	Dermis sublaminar
CCC	Caballo Criollo Colombiano
CEEA	Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia
CHO	Carbohydrate Overload (sobrecarga de carbohidratos)
COX-2	Ciclo-oxigenasas tipo 2
CV	Coefficiente de Variación
D	Dermis parietal
DEJ	Dermo-Epidermal junction (unión dermo-epidermal)
DPIP	Disfunción de la Pars Intermedia de la Pituitaria
ENN	Extracto de Nogal Negro
et al.	Et alii (y otros)
G	Grosor total del casco
IL	Interleucinas
ITMPs	Inhibidores Tisulares de Metaloproteinasas
Kv	Kilovoltaje
L	UDE
LDP	Láminas Dérmicas Primarias
LDS	Láminas Dérmicas Secundarias

LEP	Láminas Epidérmicas Primarias
LES	Láminas Epidérmicas Secundarias
mAs	miliamperaje/segundo
MB	Membrana Basal
MEC	Matriz Extracelular
mHz	Megahertz
mm	Milímetros
MMPs	Matriz de Metaloproteinasas
P	Pared del casco
PET	Tomografía por Emisión de Positrones
RD	Radiografía Digital
RM	Resonancia Magnética
S	Dermis solear
SC	Sobrecarga de Carbohidratos
SIRS	Síndrome de Respuesta Inflamatoria Sistémica
TC	Tomografía Computarizada
TFDP	Tendón Flexor Digital Profundo
UDE	Unión Dermo-Epidermal
US	Ultrasonografía

## 1. Resumen

**Introducción:** La ultrasonografía es una técnica de imagen diagnóstica ampliamente utilizada para evaluar las estructuras asociadas a claudicación en la parte distal de los miembros en los equinos. Se describen varios abordajes para evaluar las estructuras al interior del casco, pero ninguno describe la anatomía normal de los tejidos entre la superficie interna del casco y la superficie externa de la falange distal, proveída por la unión Dermo-Epidermal (UDE); al considerar el tejido córneo de la pared como limitante. **Objetivo:** Estandarizar la técnica ultrasonográfica a través del estuche córneo (transmural), para la descripción anatómica y evaluación de las estructuras internas del casco. **Métodos:** Se utilizaron 30 piezas anatómicas (fase 1) y 32 cascos de equinos vivos (fase 2), sanos y sin alteraciones, con énfasis especial en la inspección del sistema locomotor y, se confirmó por radiografía digital la anatomía normal de la falange distal y de los tejidos asociados. Los cascos de ambas fases fueron sumergidos en agua o agua con hielo, realizando evaluación ultrasonográfica, medición de temperatura y humedad, cada dos horas. Comparando la técnica con radiografía digital (ambas fases) y, cortes anatómicos sagitales (sólo fase 1). **Resultados:** El tiempo medio de inmersión fue de 16 horas (fase 1) y 6 horas (fase 2), para obtener imágenes ultrasonográficas de calidad; con asociación entre estas (variables tiempo-calidad de imagen). Se describen las siguientes capas: pared del casco, la dermis parietal, la región laminar, la dermis vascular sublaminar, y la dermis solear; la transición del estrato medio hacia el interno (laminar) de la epidermis y, de la dermis vascular sublaminar hacia la dermis laminar, como límites entre las capas descritas; el fibrocartílago modificado de la falange distal, las papilas de la corona a nivel proximal y las papilas soleares a nivel distal. **Conclusiones:** Se demuestra la utilidad de la ultrasonografía para evaluar de manera cualitativa y cuantitativa los tejidos de la pared del casco en miembros torácicos y pélvicos normales, y determinar la relación anatómica normal entre casco - falange distal. El desarrollo y descripción de la técnica transmural, puede potenciar el uso de la ayuda

diagnóstica. A conocimiento del autor, los hallazgos de este estudio no han sido reportados en la literatura, por tanto, son innovadores. Es necesario comparar la técnica con otras ayudas de imagen diagnóstica como la resonancia magnética, en casos normales y en casos naturales o experimentales de laminitis, para determinar su aplicabilidad en dicho cuadro clínico.

## **Abstract**

**Introduction:** Ultrasonography is a diagnostic imaging technique for lameness associate to the equine limb distal structures. There are ultrasound views to evaluate into the hoof, but the hoof wall (horny tissue) have been considered as limitation, so the trans hoof wall approach and normal tissue anatomic characterization between the inner hoof wall and third phalange surface, holding by the Dermo-Epidermal junction (DEJ), lack. **Objective:** Standardize the trans hoof wall approach to describe and evaluate the normal anatomic conformation of the hoof tissues. **Methodology:** The study used the hooves of 30 cadaver limbs (phase 1) and the hooves of eight (32) live equines (phase 2). The distal phalange and associate tissues' normal anatomic characterization was confirmed by radiography. The hooves were immersed in water or ice-water slurry, and the ultrasound exam, temperature, and humidity measures were done each two hours. The quantitative results were compared with digital radiography and, sagittal anatomic cuts only in the cadaver limbs. **Results:** The ultrasound images got after sixteen (phased 1) and six hours (phased 2) as immersion time, time-image quality association with. Those layers and anatomic structures were described by ultrasound: hoof wall, parietal dermis, laminar region, vascular sub-lamellar dermis, and solar dermis; and its limits, the transitions zones between the *stratum medium* and *stratum internum* (laminar) of the epidermis, and the vascular sub-lamellar dermis to the laminar dermis; coronary dermal papillae and coronary band-extensor process distance (diagonal), in the proximal level; sole dermis and sole dermal papilla, in the distal one. **Conclusions:** The ultrasound demonstrates the utility to describe normal hoof wall

tissues appearance and measures, in thoracic and pelvic limbs. The ultrasonography, probably, will be reinforced by the trans-wall hoof approach. For the author knowledge, the results are unpublished. And the trans hoof wall technique needs to be compared with magnetic resonance imaging, in normal and equine laminitis cases.

## **2. Introducción**

La ultrasonografía es una técnica de imagen diagnóstica, comúnmente, utilizada para evaluar las estructuras asociadas a claudicación en la parte distal de los miembros de los equinos (Carstens & Smith, 2014). Varios abordajes ultrasonográficos se han descrito para evaluar las estructuras al interior del casco, como: el abordaje proximal al rodete coronario, a través de los bulbos de los talones, transcuneal y transolear (Hauser, *et al.*, 1982; Busoni & Denoix, 2001; Olivier-Carstens, 2004; Kristoffersen & Thoenner, 2010; Sage & Turner, 2010; Denoix, *et al.*, 2011; Dupays, *et al.*, 2012; Evrard, *et al.*, 2012; Gunkelman & Hammer, 2017; Gallastegui, 2021). Sin embargo, no existe literatura sobre la evaluación ultrasonográfica a través de la muralla, ni la caracterización de los tejidos entre esta y la superficie parietal de la falange distal, en especial el estrato interno de la epidermis y la dermis laminar, que conforman la Unión Dermo-Epidermal (UDE) (Gerard, 2021). Adicionalmente, se ha planteado que los tejidos córneos de la muralla (pared del casco) son limitantes para obtener imágenes ultrasonográficas (Sage & Turner, 2010; Denoix, *et al.*, 2011; Evrard, *et al.*, 2012).

El presente estudio describe la técnica ultrasonográfica transmural (eje sagital) a través de la inmersión del casco en agua y agua con hielo. Hidratar el casco altera las cadenas de polímeros de la matriz de queratina, ocasionando mayor libertad y menor rigidez (Bertram & Gosline, 1987), lo que permitiría el ingreso de las ondas de ultrasonido. Hidratar los tejidos córneos, se ha reportado en abordajes transolear

y transcuneal (Busoni & Denoix, 2001; Olivier-Carstens, 2004; Kristoffersen & Thoenfer, 2010; Sage & Turner, 2010; Carstens & Smith, 2014; Gunkelman & Hammer, 2017), pero no se había considerado la inmersión para evaluar las estructuras internas del casco a través de la muralla.

Con la técnica se describió la anatomía ultrasonográfica normal de cascos sanos, lo cual permitiría contrastar las anomalías que se podrían escanear desde la muralla del dígito. Dentro los hallazgos relevantes, está la descripción y caracterización de la UDE, órgano blanco de patologías devastadoras como la laminitis, cuyo origen es multifactorial y genera como resultado final el colapso de la tercera falange (Belknap, 2010; Clutterbuck, *et al.*, 2010; Patterson-Kane, *et al.*, 2018; van Eps & Burns, 2019; Grenager, 2021; Leise & Fugler, 2021; Van Eps, *et al.*, 2021). La descripción en condiciones normales de la dermis parietal, la región laminar (que contiene la UDE) y la dermis sublaminar, puede tener potencial de determinar alteraciones en las fases prodrómica, aguda y crónica que caracterizan los cuadros de laminitis; siendo de mayor trascendencia la fase prodrómica o de desarrollo, al ser cambios en tejidos blandos, es posible prevenirla, y por la ausencia de su valoración con los métodos de rutina.

Los métodos diagnósticos de rutina demuestran limitaciones significativas para evaluar compromisos en tejidos blandos como los de la fase prodrómica de la laminitis (Dyson, *et al.*, 2003; Arble, *et al.*, 2009; Orsini, 2011); conllevando a implementar la resonancia magnética (RM), la tomografía computarizada (TC) o la medicina nuclear, como mejores opciones (Orsini, 2011; Yamada, *et al.*, 2017; Spriet, *et al.*, 2020; Gallastegui, 2021). Sin embargo, presentan restricciones, como el factor económico y disponibilidad de equipos, que limitan su uso y repetitividad en el ámbito clínico (Barbee, *et al.*, 1987; Dyson, *et al.*, 2003; Parks & Belknap, 2017), aún en ambientes hospitalarios y más en condiciones de atención ambulatoria. Por estas razones, se podría plantear la ultrasonografía a través de la muralla, como un potencial biomarcador físico (Aronson & Ferner, 2017) para esta

condición médica. Sin embargo, se requiere su aplicación en casos naturales o experimentales de laminitis para su completa validación.

Finalmente, este estudio también demostró la utilidad de la ultrasonografía, para evaluar la apariencia y las medidas de los estratos que componen la pared del casco de miembros torácicos y pélvicos normales. Por tanto, el desarrollo y descripción de la técnica transmural con inmersión en agua, potencializó el uso de esta herramienta. Ante la ausencia de información específica sobre el asunto, los resultados de este estudio son innovadores y, de amplio impacto académico y clínico para el área de la medicina interna equina.

### **3. Marco teórico**

#### **3.1 Anatomía e histología del dígito**

El casco, es la estructura anatómica desarrollada por el equino a través del proceso evolutivo. Es la única estructura del miembro del caballo que hace contacto con la superficie del suelo, con proporcionalidad al peso corporal y por ende, soporta grandes cargas y presiones (Budras, *et al.*, 2012). Externamente está compuesto de una cápsula de tejido córneo, dentro de esta se encuentran tejido óseo, ligamentos, tendones, cartílagos, terminaciones nerviosas y vasos sanguíneos; por lo que se considera el “órgano digital” como una estructura compleja (Orsini, *et al.*, 2009; Budras, *et al.*, 2012; Gerard, 2021). La anatomía externa, consta de una cápsula dividida en muralla, suela y ranilla. La muralla es la parte observada fácilmente con el caballo en estación, contacta sobre sus bordes con el suelo, compuesta mayormente por tejido córneo; consta de pinza, cuartas partes y talones. La suela, es de forma cóncava, y delimitada por la línea blanca y las barras, que son el punto de transición hacia el tejido de la ranilla. La ranilla, está dotada de glándulas sudoríparas, y limita con la suela por los surcos colaterales, reflejándose

sobre sí misma para formar los bulbos de los talones y ocupar el espacio existente entre estos, conformando la almohadilla digital (Kainer, 1989).

El casco por ser una modificación de las estructuras de la piel (Gerard, 2021), presenta la siguiente distribución anatómica:

1. Epidermis (tejido queratinizado), compuesta de: - Periople (Estrato externo): Es el tejido de transición entre la piel y el casco. Bajo este, se encuentra la almohadilla del periople. Esta estructura córnea blanda, se extiende hacia la parte distal de la muralla del casco, pero no hasta el contacto con el suelo, pues sufre un desgaste en este recorrido. - Corona (Estrato medio): Constituida por túbulos córneos, alineados en forma paralela, hasta contactar con el suelo. - Porción parietal (Estrato interno): Conformada por las láminas epidérmicas primarias y secundarias, con disposición longitudinal, e inician inmediatamente ventral a la corona, extendiéndose hasta la zona de transición con la suela (papilas terminales).
2. Dermis (corion), formada por segmentos correspondientes a la epidermis adyacente, distribuidos de la siguiente forma: - Dermis del periople: Compuesta por papilas con longitudes entre 1-2 mm, proyectadas en la epidermis y son la base para la producción de tejido córneo. - Dermis de la corona: Banda ligeramente convexa con unión al surco coronario; compuesta por papilas dérmicas de la corona, con 4-6 mm de longitud, que se unen en ranuras individuales en la epidermis, sirviendo como guía para la disposición longitudinal de los túbulos córneos. - Dermis parietal: Compuesta por las láminas dérmicas primarias y secundarias, las cuales se unen con las homólogas en la epidermis, formando la conexión entre la superficie interna del casco y la superficie dorsal de la falange distal. Adyacente a las láminas dérmicas, se encuentran vasos sanguíneos sublaminares, terminaciones nerviosas, y fibras de colágeno que las unen a la superficie de la falange

distal. En la transición entre la pared y la suela se pierde la interdigitación entre la dermis y la epidermis; las papilas dérmicas forman las papilas terminales, productoras de queratina, que dan paso a la formación de la línea blanca.

3. Hipodermis (tejido subcutáneo): Forma estructuras de amortiguación “cojín” en los ungulados. Se compone de segmentos adyacentes al corion, encontrando tejido subcutáneo de: el periople (almohadilla del periople), es una banda delgada; y de la corona (almohadilla de la corona), con forma abultada. La porción parietal no es bien definida desde el punto de vista anatómico y, el tejido subcutáneo de la suela no se describe de manera consistente.

Histológicamente, las láminas dérmicas y epidérmicas conservan una configuración a modo de hoja, dónde hay láminas dérmicas primarias (LDP) recubiertas en su totalidad por láminas más pequeñas, las láminas dérmicas secundarias (LDS), que contribuyen al aumento de superficie (Pollitt, 2010). La Unión Dérmica-Epidérmica (UDE), está compuesta por la interdigitación de las LDP y LDS junto a sus homólogas ubicadas en la epidermis (Pollitt, 2010), como se muestra en la figura 1. Dicha interdigitación se encuentra distribuida a través de toda la circunferencia del casco (Budras, *et al.*, 2012; Gerard, 2021).

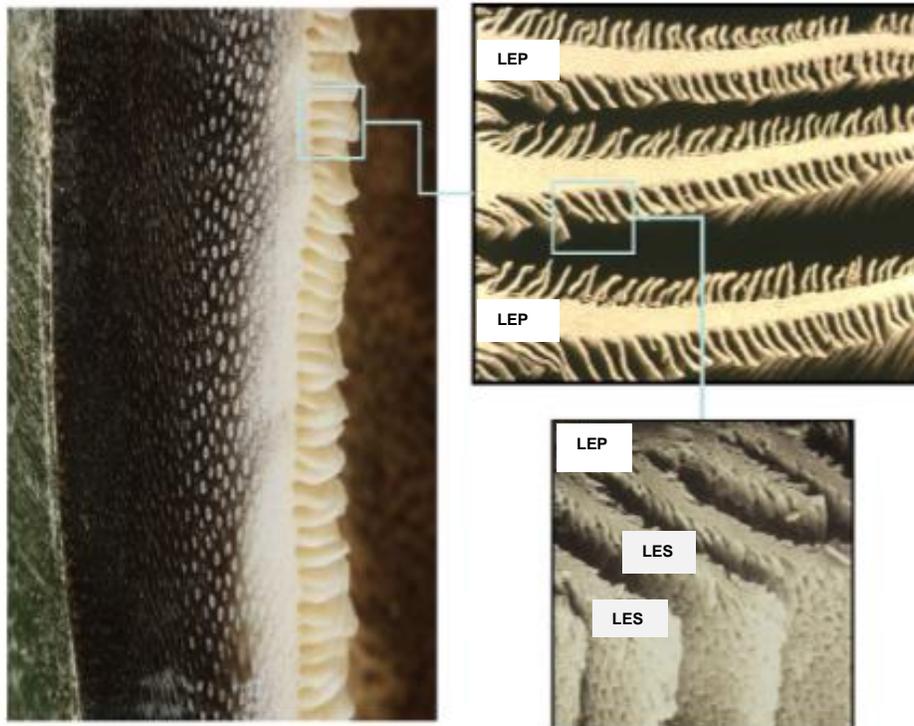


Figura 1. Pared del casco equino y su capa laminar interna. Láminas epidérmicas secundarias (LES) incrementan el área de superficie de cada láminas epidérmicas primarias (LEP) con forma de hoja. Células basales epidérmicas cubren la superficie de cada LES. Tomado de Pollitt (2004).

Las láminas epidérmicas se encuentran asociadas a la matriz de queratina que rodea los túbulos del estrato medio de la pared del casco; mientras que la porción dérmica se encuentra adherida por medio de fibras colágeno, como tendones, que emanan de la superficie de la falange distal, y se unen a la configuración de las LDP y LDS (Pollitt, 2010). El anclaje a la superficie parietal de la falange distal, se da por proyecciones a modo de crestas, y la placa de fibrocartílago modificado parcialmente calcificado, simulando el “periostio”, una vez que carece de éste como tal (Budras, *et al.*, 2012).

Entre las láminas, existe la membrana basal (MB), estructura tridimensional de la UDE con algunas especializaciones importantes como la red de conexiones, conformadas por filamentos de colágeno tipo IV, rodeados de glicoproteínas, principalmente lamilina-1, nidógenos, fibronectinas, heparina, entre otros componentes (Pollitt, 1994; Pollitt, 2010). El daño de esta última y de las fibras de colágeno que suspenden a la falange distal, son factores claves durante el desarrollo de cuadros como la laminitis (Kyaw-Tanner, *et al.*, 2008).

La remodelación epidermal y de la matriz extracelular (MEC) envuelve la liberación de las metaloproteinasas de la matriz activadas (MMPs) y activación de inhibidores tisulares de metaloproteinasas (ITMPs) (Woessner, 1991; Clutterbuck, *et al.*, 2010). Al parecer es un proceso que no requiere de la proliferación de las células epidermales (Pollitt, 2010). Por tanto, la presencia y activación incontrolada de las MMPs en las láminas, se ha asociado dentro los mecanismos de desarrollo de laminitis (Pollitt, 2010; Van Eps & Burns, 2019).

El conjunto de las interdigitaciones que conforman la UDE, y sus consecuentes mecanismos de adherencia a los tejidos adyacentes, forman el aparato suspensorio de la falange distal (ASFD) (figura 2). Durante el movimiento o estación, la fuerza de apoyo es transferida en mayor proporción por la unión de la pared al suelo, en menor proporción por la suela y por el tejido de la ranilla; estas dependen de las características de la superficie donde se da el apoyo. La falange distal es suspendida dentro del casco, y la presión de la pared es transferida a ésta, a través del ASFD (Pollitt, 2010; Budras, *et al.*, 2012). El intercambio de oxígeno y nutrientes de la UDE depende de la intrincada red vascular sublamina, compuesta de arteriolas y vénulas terminales, anastomosis arteriovenosas (AAVs) y terminaciones nerviosas autonómicas vasomotoras (Pollitt, 2004).

Aparato suspensorio de la falange distal

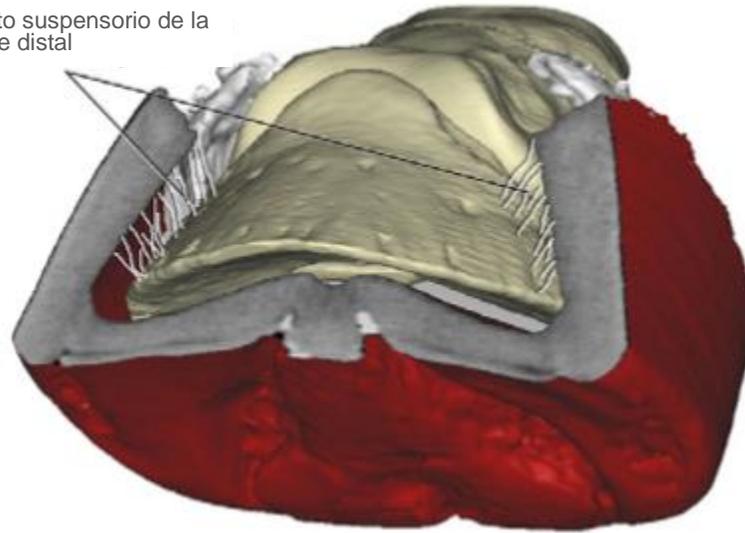


Figura 2. La falange distal es suspendida dentro de la capsula del casco por el aparato suspensorio (ASFD), al ligar toda la superficie parietal de la falange distal a las láminas internas de la pared del casco. Adaptado de Pollitt (2010).

La microcirculación dérmica está compuesta por numerosas (500/cm<sup>2</sup>) AAVs que conectan las arterias y venas axiales de las láminas dérmicas (Pollitt & Molyneux, 1990), siendo más largas y numerosas alrededor de los vasos cercanos a sus bases (Pollitt, 2004a). Estudios con corrosión vascular y microscopio de transmisión electrónica han mostrado que las AAVs son altamente inervadas por nervios autónomos vasomotores y nervios peptídicos asociados (Pollitt & Molyneux, 1990) (figura 3). La función de las AAVs está asociada a la termorregulación y la regulación de la presión mecánica (Pollitt, 2004), para asegurar el metabolismo tisular al permitir la perfusión del dígito (Pollitt & Molyneux, 1990). Adicionalmente, los vasos al interior de los forámenes de la superficie de la falange distal, se anastomosan dentro la circulación lamelar y sublamelar, y están organizados anatómicamente como un mecanismo de intercambio de calor a contracorriente, una arteria central rodeada por un recubrimiento de capilares y vénulas (Pollitt,

2004). Como todas las estructuras epidérmicas, las láminas de la pared interna del casco son avasculares y dependen de los capilares de la microcirculación de la dermis adyacente para el intercambio de nutrientes (Molyneux, *et al*, 1994; Pollitt, 2010).

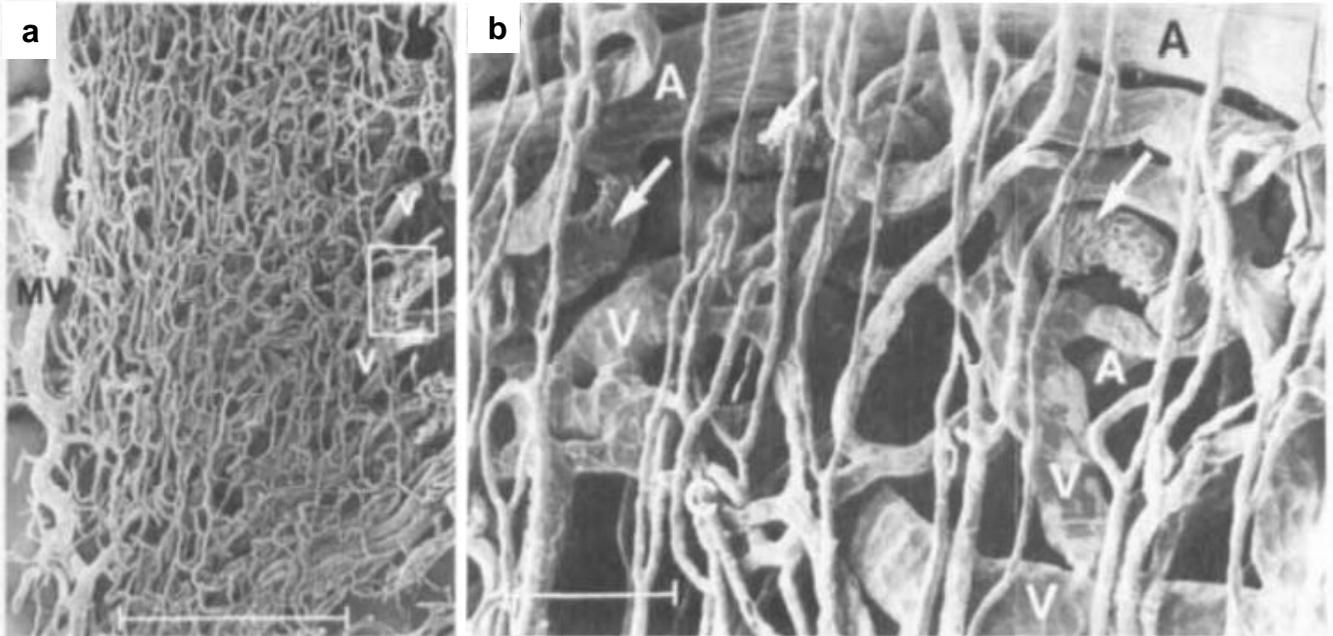


Figura 3. **a)** Una única lámina de vaso laminar que muestra la vena marginal (MV) y un entramado de vasos capilares finos adyacentes a arterias y venas laminares axialmente localizadas. A ambos lados de la arteria hay venas axiales (V). La pared del casco está a la izquierda, y la falange distal a la derecha. (barra= 1mm). **b)** Corrosión de los vasos de la dermis laminar. Un entramado de capilares finos (C) cubren las arterias (A) y venas (V) laminares ubicadas axialmente. La pared del casco está a la izquierda. (barra= 100µm). Pollitt & Molyneux (1990).

## **3.2 Laminitis**

La laminitis, a pesar de ser un cuadro clínico antiguo y complejo (Wagner & Heymering, 1999; Menzies-Gow, 2011), sigue siendo un asunto de interés científico y de actualidad (Moore, 2008). Se caracteriza por ser altamente incapacitante para los equinos (Orsini, 2011), costosa por las extensas terapias multimodales (Rucker & Orsini, 2014; Divers, 2017) y frustrante para los clínicos, por la variabilidad de respuesta y pronóstico reservado para la actividad atlética de los pacientes (Moore, 2008; Orsini, 2011). Adicionalmente, en su proceso de evolución posee etapas irreversibles, lo que incentiva además de la identificación y control de factores predisponentes, la búsqueda de métodos de detección temprana para obtener mejores resultados del manejo médico y, asegurar un menor grado de impacto en las estructuras involucradas (Rucker & Orsini, 2014).

En este sentido, las estructuras blandas contenidas entre la superficie parietal de la falange distal y la pared del casco, en especial la unión de las láminas dérmicas y epidérmicas, son las directamente implicadas (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015); las cuales son poco evidenciadas con las ayudas diagnósticas de rutina (Dyson, *et al.*, 2003; Arble, *et al.*, 2009).

### **3.2.1 Definición**

Laminitis es la inflamación de las láminas dérmicas y epidérmicas, que genera una claudicación incapacitante con posterior desplazamiento de la falange distal al interior del casco (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015; Van Eps & Burns, 2019).

Es un proceso multicausal que conlleva a daños en la MB, y alteraciones de la UDE (Clutterbuck, *et al.*, 2010). La alteración inicial está asociada directamente con la severidad y el tipo de causa desencadenante. En laminitis de origen endocrino

(síndrome metabólico o, disfunción de la pars intermedia de la pituitaria - DPIP) es un proceso lento y progresivo, causado por el estiramiento y proliferación de las células (de Laat, *et al.*, 2012; Patterson-Kane, *et al.*, 2018); mientras que en laminitis asociada a Sepsis/SIRS, se da una pérdida rápida de la integridad del tejido, y de la integridad mecánica por la extensión del daño (Leise, *et al.*, 2012; Van Eps & Burns, 2019). En laminitis por sobre carga, aunque la fisiopatología no es clara, puede ocurrir como consecuencia de la reducción en el flujo sanguíneo (isquemia) microvascular laminar por una alteración en el ciclo de carga normal (alteración en la locomoción normal), que conlleva a un balance energético negativo y disfunción/muerte celular (Van Eps, *et al.*, 2010; Van Eps, *et al.*, 2021).

El avance del proceso de laminitis, independiente del proceso que la desencadene, está asociado a las fuerzas mecánicas sobre la falange distal y el casco (Leise, *et al.*, 2012; Rucker & Orsini, 2014; Bras & Morrison, 2021) (figura 4). En la distribución del peso, el 60% en miembros torácicos, y el 40% en miembros pélvicos, hace que la severidad del cuadro sea mayor en los que mayor peso soportan (Van Eps & Burns, 2019).

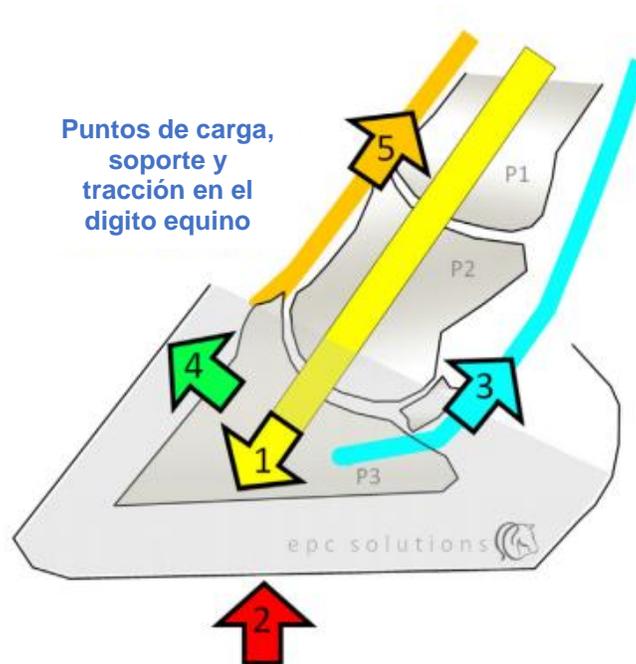


Figura 4. Fuerzas mecánicas sobre la falange distal y el casco: 1. Carga del peso corporal a través de la columna ósea (amarillo); 2. Soporte de la falange distal ejercidas por la suela y la ranilla (rojo); 3. Tracción proximal-palmar del tendón flexor digital profundo (azul); 4. Unión laminar entre la falange distal y la pared del casco (verde); 5. Fuerza de tracción del tendón extensor digital común (amarillo oscuro). Modificado de Bras & Morrison, (2021).

### 3.2.2 Factores de riesgo y fisiopatología

El casco debe entenderse como un sistema abierto, complejo y altamente especializado, que mantiene la integridad sujeta a influencias internas y externas; las cuales alteran la dinámica de sus componentes, - pero desencadenan el mismo fin, la pérdida de la UDE- (Orsini, *et al.*, 2009). Al considerarse el casco como un sistema abierto, indica exposición de sus componentes internos a factores que afectan directa o indirectamente la UDE, la vasculatura digital, o ambas. Factores como: endotoxinas (lipopolisacáridos), exotoxinas bacterianas (termolisinas),

desregulación de la MMPs, interleucinas (IL) pro-inflamatorias, prostaglandinas, tromboxanos, ciclo-oxigenasas tipo 2 (COX-2), serotonina, proteinkinasa C, endotelina, factor activador plaquetario, leptina y otras adipoquinas, cortisol e insulina, entre muchos otros (Orsini *et al.*, 2009). Por tanto, se han propuesto múltiples factores de riesgo para laminitis, algunos producto de asociaciones causales o casos anecdóticos, y otros soportados por la medicina basada en la evidencia (Moore, 2008). Todos se agrupan en tres grandes grupos: Laminitis de origen endocrino, laminitis asociada a sepsis/SIRS, y laminitis por sobre carga (Belknap, 2010; Van Eps & Burns, 2019; Grenager, 2021; Leise & Fugler, 2021; Van Eps, *et al.*, 2021). Varios modelos experimentales han sido desarrollados con el fin de dilucidar los mecanismos y fenómenos clínicos que suceden en las láminas del casco, como se describe en la tabla 1.

Tabla 1. Principales categorías de laminitis y sus correspondientes modelos experimentales (Van Eps & Burns, 2019).

Tipo de Laminitis	Modelo Experimental
Laminitis relacionada a sepsis	Modelo del nogal negro Modelo de sobrecarga enteral de carbohidratos <ul style="list-style-type: none"> <li>• Modelo del almidón de madera/maíz</li> <li>• Modelo de oligofructosa</li> </ul>
Laminitis de origen endocrino	Clamp euglusémico-hiperinsulinémico Modelo de infusión de glucosa Reto dietético con carbohidratos no estructurales en caballos con desregulación de la insulina
Laminitis por sobrecarga	Herradura modificada para generar carga de peso irregular

La descripción de varias teorías y sus interrelaciones, con la intención de explicar la fisiopatología, evidencia el desconocimiento de la causa desencadenante de esta patología. A pesar de que las consecuencias histológicas han sido similares

independiente de la teoría o el modelo utilizado, aún no se ha dilucidado completamente los mecanismos de desarrollo, lo que ha conllevado a considerar un cuadro clínico de naturaleza multifactorial que compromete la parte distal de los miembros de los equinos. Dentro la interrelación de las teorías se ha descrito como vía de asociación la desregulación de las MMPs (Clutterbuck *et al.*, 2010; Van Eps & Burns, 2019). Se ha demostrado evidencia mínima de inflamación en laminitis de origen endocrino, donde la inflamación laminar evidencia la interacción entre las vías reguladoras metabólicas y las vías inflamatorias, que ocurren en respuesta a la alteración intracelular de metabolitos (Watts, *et al.*, 2019). También se ha demostrado elongación y estrechamiento de las láminas epidérmicas secundarias (LES) en caballos normales bajo la influencia de una infusión de glucosa, soportando la teoría que la laminitis de origen endocrino puede producirse secundaria a la hiperinsulinemia, o a la combinación de esta con un aumento en la carga de glucosa (de Laat, *et al.*, 2012).

En el caso de las láminas dérmicas, la MB brinda soporte a las láminas epidérmicas a través de hemidesmosomas y fibras de colágeno (tipo IV y VII), formando el ASFD (Pollitt, 2010). Estas estructuras son substratos de degeneración de las MMPs, en especial gelatinasas (MMP 2, 9 y 14), que son activadas por estados proinflamatorios e inflamatorias al aumentarse la expresión laminar de IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-8, además de aumentar la quimiotaxis de neutrófilos al interior de las láminas del casco (Clutterbuck, *et al.*, 2010; Faleiros, *et al.*, 2011; Faleiros & Belknap, 2017; Leise & Fugler, 2021). Todo lo anterior termina con la degeneración de la membrana basal laminar dentro la evolución del cuadro de laminitis (Clutterbuck *et al.*, 2010).

Durante décadas los modelos de investigación fueron centrados en los cambios de la dinámica vascular como evento detonante de la hipoxia, hipoperfusión y activación descontrolada de las MMPs, como inductores del daño en la MB, y la consecuente laminitis (Belknap, 2017). Fue hasta la aparición de técnicas moleculares, donde se abre un nuevo panorama al entendimiento de la

fisiopatología en laminitis (Faleiros & Belknap, 2017). Dichos métodos, permitieron reevaluar cambios ignorados en los modelos experimentales que explican la fisiopatología de laminitis asociada a SIRS/Sepsis (Faleiros & Belknap, 2017). El modelo del extracto de nogal negro (ENN), demuestra infiltrado de neutrófilos en la fase de desarrollo y al inicio de la claudicación (laminitis aguda), como se describe en el figura 5, hallazgos logrados por medio del uso de anticuerpos monoclonales contra CD13 (Black, *et al.*, 2006).

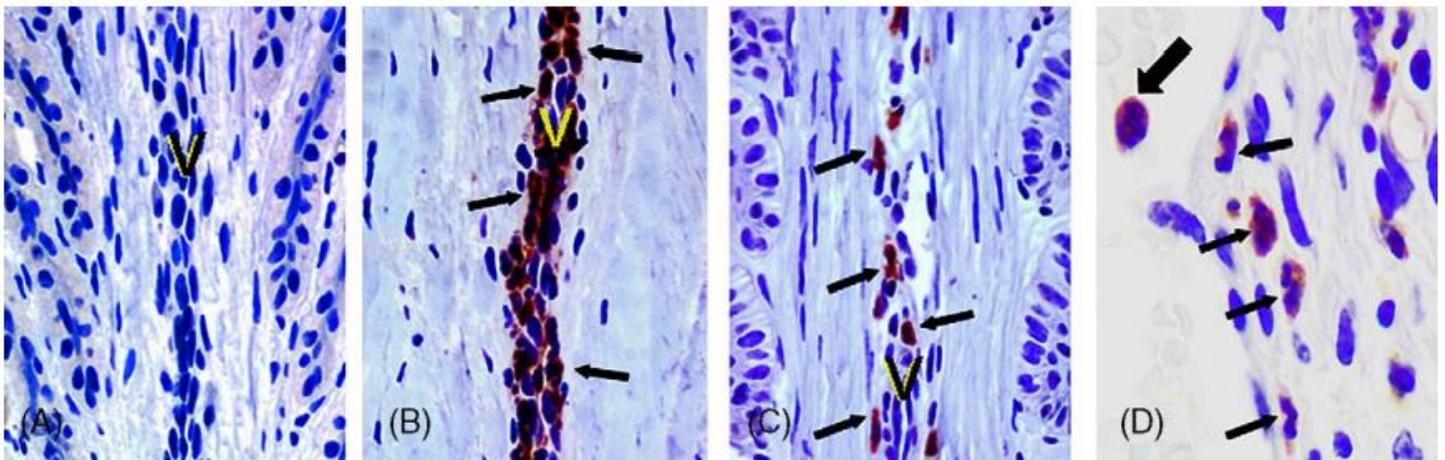


Figura 5. Células positivas a CD13 en láminas control y afectadas. Tinción por inmunoperoxidasa utilizando anticuerpo monoclonal anti CD13 equino, indicando ausencia de leucocitos en el intersticio circundante a la vénula laminar (V) en el caballo control (A), un incremento marcado de células positivas a CD13 (flechas negras pequeñas) en la fase de desarrollo (B) y al inicio de la claudicación (C). En (D), la mayoría de las células positivas a CD13 ubicadas en el intersticio perivenular (flechas pequeñas) son neutrófilos, como se indica por una morfología nuclear similar al neutrófilo circulante presente en el lumen venular (flecha negra grande) (Black *et al.*, 2006).

La localización de los neutrófilos alrededor de las vénulas laminares es similar a lo descrito en sepsis humana, donde la migración leucocitaria ocurre desde la microvasculatura a través de la pared venular hacia el intersticio de varios órganos (Mizgerd, 2002). La leucopenia, que sucede en ENN (BWE, por sus siglas en inglés), es uno de los criterios tenidos en cuenta para considerar un paciente con SIRS, y se correlaciona con el infiltrado mononuclear laminar durante la fase de desarrollo, pero la duración es insuficiente para observar el daño laminar, siendo mejor modelo de los casos clínicos de laminitis, el modelo con la sobrecarga de carbohidratos (SC) (Faleiros, *et al.*, 2011) (CHO, por sus siglas en inglés). Los cambios observados en este modelo se ilustran en la figura 6.

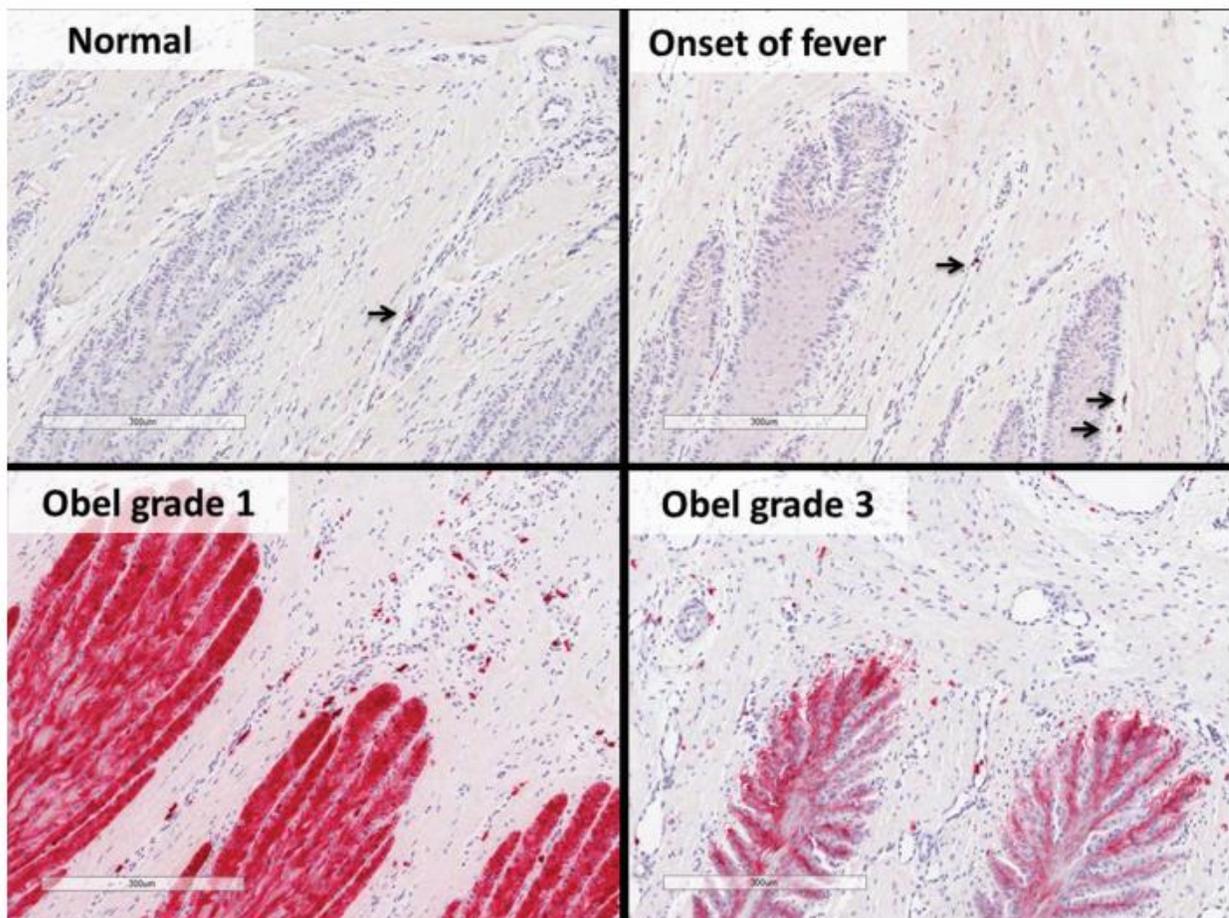


Figura 6. Microfotografía del tejido lamelar de caballos normales y laminíticos (inducido por sobrecarga de carbohidratos - SC), al inicio de la fiebre, inicio de claudicación (Grado Obel 1) e inicio de claudicación severa (Grado Obel 3). Los leucocitos mieloides y las células epidermales, positivas a calprotectina, tiñen de rojo. Ninguna o escasas se observan en caballos normales, mostrando la ausencia de neutrófilos residentes y subpoblaciones de macrófagos activados en las láminas. El reclutamiento leucocitario coincide con el inicio de la fiebre. Una expresión difusa e intensa de calprotectina puede observarse en la epidermis al inicio de claudicación, junto con un reclutamiento marcado de leucocitos mieloides. Cuando la claudicación progresa a Grado Obel 3, puede observarse que los leucocitos alcanzan la matriz extracelular, y el deterioro en la arquitectura de las láminas epidérmicas, pero aún se observa expresión difusa de calprotectina (Faleiros & Belknap, 2017).

En ambos modelos se observa infiltrado leucocitario previo a la aparición de daños sobre la arquitectura de las láminas del casco; en ENN el infiltrado de leucocitos se da en la fase de desarrollo y retornan a niveles basales cuando aparecen los signos clínicos, mientras que en SC, aumenta con la aparición de los signos clínicos y el infiltrado es significativamente mayor (Faleiros *et al.*, 2011). Cuando la claudicación progresa a grado Obel 3 en SC se logra observar una disminución ligera en el infiltrado leucocitario y en la reacción epidermal, en esta fase es fácil observar colapso y desintegración de la MB en muchas regiones de las láminas epidermales (Faleiros & Belknap, 2017). Lo anterior, indica que la activación de la respuesta inmune innata (migración laminar de neutrófilos) juega un rol central en la cascada de eventos de expresión de citoquinas proinflamatorias y activación de MMPs que terminan en daño laminar (Black, *et al.*, 2006). En conclusión, la infiltración de leucocitos puede ser la causa del daño laminar, y no una respuesta a la degradación de la MB (Faleiros *et al.*, 2011).

### **3.2.3 Signos clínicos y fases de desarrollo**

#### **✓ Fase prodrómica o de desarrollo**

Esta fase se caracteriza por la ausencia de signos clínicos. La disminución de la temperatura del casco por el proceso de hipotensión sistémica, aparentemente, es el único signo clínico asociado (Hood, 1999). Sin embargo Pollitt & Davies, (1998) describen aumento de la temperatura en la pared del casco y de la intensidad del pulso en la arteria digital palmar, previo a laminitis aguda. van Eps, (2017), describe un aumento persistente en la temperatura del casco durante la fase de desarrollo en equinos en condiciones experimentales.

En la fase prodrómica se estima una duración de 24 – 60 horas, su inicio va desde la exposición a la causa desencadenante hasta la aparición de los signos clínicos clásicos de laminitis. Es importante tenerla en cuenta en el plan terapéutico inicial, pues se pueden prevenir o revertir las alteraciones en las láminas del casco (Rucker & Orsini, 2014).

#### **✓ Fase aguda**

Esta fase comprende desde la aparición de signos clínicos característicos, hasta las 72 horas siguientes. Los signos como: Presencia de dolor expresado por sudoración profusa, taquicardia y taquipnea, ansiedad, decúbito (continuo o intermitente), alternancia del peso entre los miembros, postura caballete, pulsos digitales positivos, aumento de temperatura del casco, sensibilidad a la prueba de la pinza (prueba de la pinza positiva) sobre las lumbres o pinza de la suela y, al percutir la pared del casco, e Inflamación del rodete coronario (Parks & Belknap, 2011; Rucker & Orsini, 2014).

Si el proceso se resuelve, o no fue lo suficiente para ocasionar la separación de la UDE, se clasifica como estado subagudo (Rucker & Orsini, 2014). Por otro lado, si progresa por el colapso mecánico, es considerado el inicio de la fase crónica (O'Grady, 2015). En cuadros severos, el colapso mecánico se puede producir de forma precoz, denominándose fase crónica temprana (Parks & Belknap, 2011).

✓ **Fase subaguda**

En esta fase, los signos clínicos persisten sin evidencia radiográfica de falla mecánica (desplazamiento simétrico o asimétrico) o daño a la falange distal (Parks & Belknap, 2011; Rucker & Orsini, 2014). Este estado puede tener una duración de hasta de ocho (8) meses o por el resto de la vida del paciente (Hood, 1999).

✓ **Fase crónica temprana**

Esta fase se presenta cuando el cuadro es severo y el colapso mecánico se produce de forma precoz, se caracteriza por depresión proximal al rodete coronario con secreción a nivel de este (producto del hundimiento o sinking), suela convexa o protrusión de la tercera falange a través de la suela, y evidencia radiográfica de rotación falángica (Parks & Belknap, 2011), asociada a la presencia de línea de "gas" en su cara dorsal (Coleman, 2015).

✓ **Fase crónica**

Esta fase la configura la pérdida de la unión de las láminas dérmicas y epidérmicas, generando disqueratosis (Van Eps & Burns, 2019) y ampliación del área de las láminas epidérmicas, compresión y distorsión de la dermis coronaria y solear. Dentro los signos clínicos que caracterizan esta fase se reportan:

- Cambios cápsula casco. Se observa crecimiento anormal, presencia de anillos de crecimiento divergentes (figura 7) y concavidad dorsal en la pared del casco, suela aplanada o convexa, suela delgada y reblandecida, engrosamiento de la línea blanca. Este último hallazgo, predispone al desarrollo de enfermedad de la línea blanca (Parks & Belknap, 2011), generando cavitaciones en la pared del casco, principalmente en laminitis crónica no compensada (Rucker & Orsini, 2014).
- Depresión a nivel rodete coronario.
- La claudicación, debe evaluarse si obedece a la reaparición del daño sobre las láminas (*laminitis crónica no compensada*), u obedece al aumento de presión sobre la suela del casco.
- Como señales de cronicidad sobre la falange distal, aparecen las ampliaciones de los canales óseos y remodelación sobre el ápice y borde solear (Rucker & Orsini, 2014).

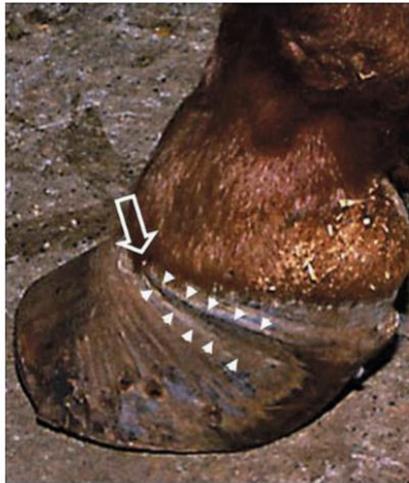


Figura 7. Casco de un caballo con laminitis crónica mostrando crecimiento anormal, presencia de anillos de crecimiento amplios en los talones, donde hay más crecimiento (cabezas de flechas); y convergentes o más estrechos en la pinza (flecha), donde hay mínimo crecimiento (Parks & Belknap, 2011).

### 3.2.5 Tratamiento

Las opciones terapéuticas guardan una correlación directa con lo complejo y multivariado que involucra la enfermedad; por tanto, existe varias opciones que comprenden desde la simple observación y experiencia clínica hasta medicina basada en evidencia (Moore, 2008). Sin embargo, todas coinciden en control o disminución de la inflamación, inhibición de enzimas, manejo del dolor, medicación vasoactiva, estrategias de manejo ambiental y soporte mecánico por medio de herrajes, que deben ser seleccionadas según la fase, extensión del daño (factor pronóstico para la vida y función zootécnica) e individualizadas para cada paciente, incluso para cada miembro alterado, sin desligar el valor económico como factor de elección (Orsini & Divers, 2014; Parks & Belknap, 2017). Convirtiéndose la eutanasia en una opción válida, en aras del bienestar y compromiso del desempeño atlético futuro (Patterson-Kane, *et al.*, 2018). Por todo lo anterior, no existe una terapia única, ni una fórmula exitosa, lo que obliga aprender a individualizar el paciente y plantear una terapia particular.

Finalmente, se cuenta con un amplio arsenal terapéutico, pero la única estrategia de prevención validada es la crioterapia digital continua (Parks & Belknap, 2017; Luethy, 2021). Al incluirse en el tratamiento de caballos con colitis con evidencia de SIRS, disminuyó diez veces la posibilidad de desarrollar laminitis en comparación a los no tratados (Kullmann, *et al.*, 2014). Su eficiencia es mayor en la fase de desarrollo, pues logra contrarrestar los cambios vasculares, metabólicos e inflamatorios (van Eps & Pollitt, 2004; van Eps, 2010). También, tiene efectos benéficos en pacientes con laminitis aguda, pues es la continuación a mayor escala de los procesos mencionados (Divers, 2010). En este sentido, toda la estrategia terapéutica diseñada para laminitis, tiene como principios: manejo oportuno y efectivo de la causa desencadenante, control de alteraciones sistémicas y manejo de las alteraciones puntuales del casco.

### **3.3 Ayudas diagnósticas utilizadas para evaluar la parte distal de los miembros**

El casco como parte terminal del miembro más próxima al suelo, es origen de dolor y por ende de claudicación más frecuente en los équidos. Son varias, y de diferente naturaleza, las estructuras contenidas dentro del casco que se pueden alterar directa e indirectamente. Estructuras óseas, cartilaginosas, tendo-ligamentosas, articulares y córneas se han evaluado con diferentes técnicas convencionales de diagnóstico por imagen, de última tecnología y de uso ambulatorio u hospitalario. En este sentido, el casco se ha evaluado con resonancia magnética, tomografía y medicina nuclear, revelando excelentes detalles diagnósticos (Orsini, 2011; Yamada, *et al.*, 2017; Spriet, *et al.*, 2020; Gallastegui, 2021), sin embargo, son técnicas de restringido acceso en la rutina diaria, por disponibilidad de equipos, manejo del paciente y asuntos presupuestales (Barbee, *et al.*, 1987; Dyson, *et al.*, 2003; Parks & Belknap, 2017). Por otro lado, la radiología y la ultrasonografía son de uso común (Parks & Belknap, 2011; Carstens & Smith, 2014; Coleman, 2015), sin embargo, con ciertas limitaciones para estructuras no óseas por el acceso de las ondas de ultrasonido (Sage & Turner, 2010; Denoix, *et al.*, 2011; Evrard, *et al.*, 2012).

Dentro las patologías más frecuentes que afectan las estructuras internas del casco, se describe el síndrome palmar del dígito (síndrome navicular), fracturas del navicular, lesiones del segmento del tendón flexor digitar profundo y estructuras asociadas (aparato podotroclear) al interior del casco, alteraciones de la falange distal, afectaciones de la articulación interfalángica distal, enfermedad de los cartílagos ungulares del casco y laminitis (Dyson, 2011). Sin embargo, para esta última patología, la radiología es de utilidad en casos agudos y crónicos (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015), mientras la ultrasonografía hasta el momento no ha mostrado ventajas, a diferencia de la Resonancia Magnética (RM), que si ha demostrado cambios en la fase prodrómica (Arble, *et al.*, 2009). Sin embargo, en la

rutina es una ayuda diagnóstica de uso restringido (Barbee, et al., 1987; Dyson, et al., 2003; Parks & Belknap, 2017).

### **3.3.1 Estudios histopatológicos**

Un gran limitante en el diagnóstico de laminitis es detectar los cambios producidos a nivel histológico y molecular en el estrato laminar (Hanly, *et al.*, 2009). Sin embargo, con la implementación de diferentes modelos de inducción de la enfermedad y series de biopsias posmortem o *in vivo*, se ha logrado describir los cambios fisiopatológicos e histológicos de la laminitis en fase de desarrollo y aguda (Black, *et al.*, 2006; Asplin, *et al.*, 2007; Hanly, *et al.*, 2009; Faleiros, *et al.*, 2011; Leise, *et al.*, 2011; Laskoski, et al., 2016; Ribeiro, *et al.*, 2017). Por tanto, la biopsia laminar se recomienda como método diagnóstico para cuadros clínicos de laminitis, con potencial para desarrollarla o fines investigativos, sin embargo, su uso es poco generalizado por su naturaleza invasiva.

### **3.3.2 Evaluación radiográfica**

La radiología es de utilidad para el diagnóstico y pronóstico de laminitis y de otras patologías asociadas a las estructuras óseas del dígito. El estudio radiográfico es relevante en el momento donde el paciente desarrolla los signos clínicos de laminitis aguda, ya que muestra cambios en la anatomía o posicionamiento de la falange distal (figura 8), que deben ser valorados con fines de seguimiento de la evolución o progresión de la enfermedad (Coleman, 2015).

En los casos de laminitis, el estudio debe ser realizado en todos los miembros con dos (2) proyecciones radiográficas, latero-mediales y dorso-palmar/plantar. Debe ubicarse un objeto radiolúcido en la línea media dorsal, comenzando sobre el rodete coronario (Coleman, 2015), aunque se ha reportado de ser innecesario con el uso

de la radiología digital (Rowan, *et al.*, 2016). Es importante que las radiografías latero-mediales estén bien posicionadas, ya que rotaciones por más de  $10^\circ$  del eje del casco, pueden subestimar la rotación (Parks & Belknap, 2011). Adicionalmente, los cambios radiográficos, con relación al posicionamiento de la falange distal, van a estar sujetos a la fase de la laminitis, en la fase aguda no se encuentran cambios, contrario en los casos crónicos.

En el estudio radiográfico, se deben realizar las medidas que se detallan en la figura 8, para determinar la ubicación espacial de la tercera falange al interior del casco. Los valores reportados como referencia están sujetos a la talla del caballo:



Figura 8. Medidas obtenidas de las radiografías latero-mediales del dígito, que pueden ser usadas para evaluar desplazamiento distal de la falange distal (Parks & Belknap, 2011).

- **Distancia a:** Distancia vertical entre los planos horizontales del rodete coronario y del extremo proximal del proceso extensor, medidas de -2 a 10

mm (Parks & Belknap, 2011). El hundimiento o “sinking” de la falange distal dentro del casco, es estimado por esta medida (Coleman, 2015), existiendo una disminución correspondiente de la distancia d principalmente en los casos de hundimiento temprano (Parks & Belknap, 2017).

- **Distancia b:** Medida de la distancia entre la pared dorsal del caso y la superficie parietal de la falange distal, debe tomarse inmediatamente distal a la base del proceso extensor, trazando una línea perpendicular a la superficie parietal. Debe ser menor a 18-20 mm en caballos normales (Coleman, 2015), o de 13-20 mm con promedios reportados 14.6 – 16.3 mm en caballos de 450kg (Parks & Belknap, 2011).
- **Distancia c:** Longitud cortical palmar. Medida desde el extremo dorso distal de la falange, hasta la articulación con el hueso sesamoideo navicular. La relación entre b/c, debe ser menor al 28% en caballos normales. Indica posible desplazamiento si el resultado es 28 – 32% e indica desplazamiento si es mayor a 32% (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015).
- **Distancia d:** Distancia entre la falange distal y la suela. Tomada desde el extremo dorso distal de la falange distal y la superficie de la suela (Parks & Belknap, 2011).

En casos crónicos puede aparecer una línea radiolúcida entre la falange distal y la suela, debido a la acumulación de edema entre las láminas dérmicas y epidérmicas (Coleman, 2015). El patrón de desplazamiento de la falange distal dentro de la cápsula del casco depende de la severidad del daño sobre la UDE, y la suma de vectores como las fuerzas por la carga de peso y la dinámica del movimiento (Parks & Belknap, 2011). Sin embargo, se considera medir los siguientes ángulos, conforme se ilustran en la figura 9.

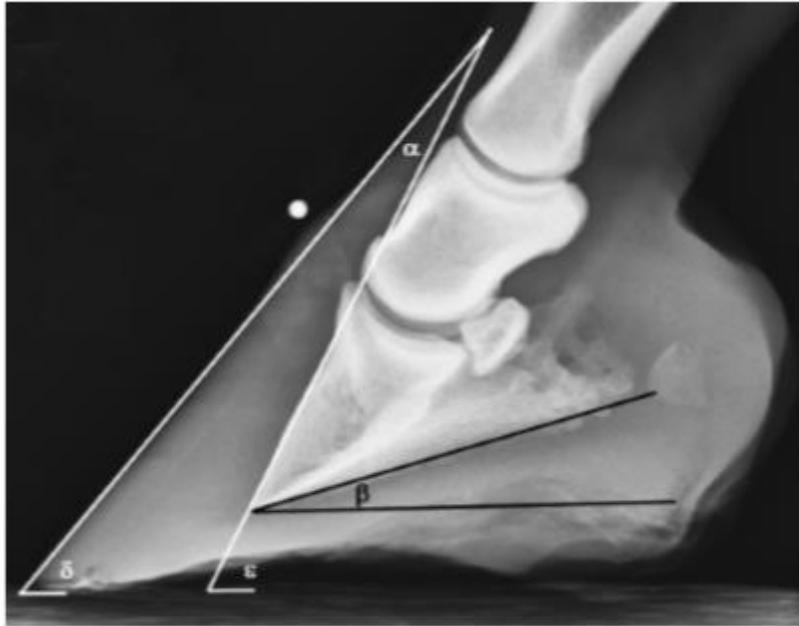


Figura 9. Evaluación de la rotación de la falange distal en casos crónicos de laminitis (Parks & Belknap, 2011).

- **Ángulo  $\alpha$**  : Valor mayor a  $5^\circ$  en dirección palmar/plantar de la falange distal con respecto a la superficie dorsal del casco es indicativo de rotación capsular (Coleman, 2015). Caballos normales pueden tener ángulos menores a  $4^\circ$  (Parks & Belknap, 2011). La toma de este ángulo reporta más información en casos de laminitis crónica temprana, ya que en casos crónicos la deformación de la cápsula del casco, no permite una medida adecuada.
- **Ángulo  $\beta$**  : Ángulo de la superficie solar de la falange distal a la superficie del suelo (Parks & Belknap, 2011). Este ángulo, es un indicador más exacto de la rotación de la falange distal en los casos crónicos (Coleman, 2015). Valores promedio de  $4,73^\circ$  y  $2,81^\circ$  en miembros torácicos y pélvicos respectivamente, en caballo de paso colombiano (Cardona, *et al.*, 2021).

Adicionalmente, Cripps & Eustace (1999a) sugirieron otras medidas y ángulos teniendo como base los reportados por Parks & Belknap (2011) y Coleman (2015), conforme se presenta en la figura 10 y se describen a continuación:

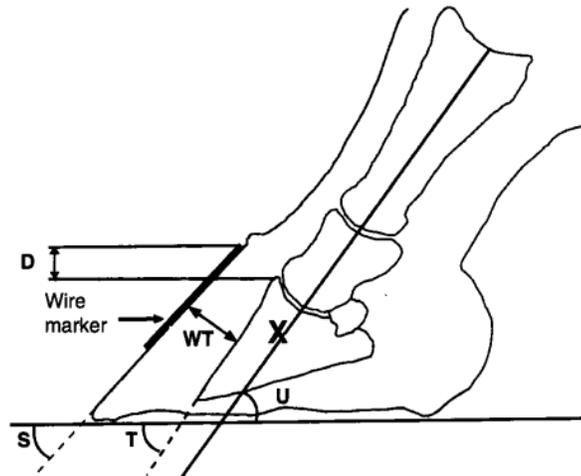


Figura 10. Diagrama que muestra las medidas y ángulos de las estructuras internas del casco, a partir de proyecciones radiográficas latero-medial. D= Distancia de hundimiento, WT = Grosor de la pared. Ángulo R =  $T - U$ ; Ángulo H =  $T - S$ . X = Posición de foco del rayo X (Cripps & Eustace, 1999a).

- **Ángulo S:** Ángulo formado entre la cara dorsal del casco y el suelo. Los valores dentro el rango normal en miembros torácicos y pélvicos son:  $50.5^\circ \pm 5.03^\circ$  y  $49.1^\circ \pm 3.18^\circ$  respectivamente.
- **Ángulo T:** Ángulo formado entre la corteza dorsal de la falange distal y el suelo. Valores en miembros torácicos y pélvicos son:  $49.4^\circ \pm 4.67^\circ$ , y  $49.1^\circ \pm 3.18^\circ$  respectivamente.
- **Ángulo U:** Ángulo formado por la línea que conecta el centro de las articulaciones interfalángicas distal y proximal, y el suelo. La curvatura de las articulaciones no es uniforme, pero es la línea más ajustada que puede trazarse. Valores en miembros torácicos y pélvicos son:  $44.6^\circ \pm 5.24^\circ$  y  $42.3^\circ \pm 5.31^\circ$  respectivamente.

- **Distancia vertical D:** Es correspondiente a la distancia a, descrita por Coleman, (2015) y Parks & Belknap, (2011). Al igual que los autores anteriores, esta medida indica la distancia de hundimiento de la falange distal y tiene alto valor pronóstico, entre mayor distancia menor éxito de recuperación (Cripps & Eustace, 1999b). Los valores dentro el rango considerado normal en miembros torácicos y pélvicos son:  $4.1 \pm 2.17$  y  $4.6 \pm 2.47$  mm respectivamente.
- **Longitud del marcador radiográfico metálico dorsal.**
- **WT:** A diferencia de la distancia b descrita por Coleman, (2015) y Parks & Belknap, (2011), esta se traza a nivel del punto medio de la superficie parietal de la falange distal. Los valores en miembros torácicos y pélvicos son:  $16.3 \pm 2.40$  y  $16.6 \pm 2.01$  mm respectivamente. En esta medida influye la raza, alzada y uso productivo o tipo de ejercicio que desempeña.

Los resultados de los **Ángulos R** (valores en miembros torácicos y pélvicos son:  $4.8^\circ \pm 6.14^\circ$ , y  $6.6^\circ \pm 5.64^\circ$  respectivamente) y **H** (valores en miembros torácicos y pélvicos son:  $-9^\circ \pm 2.37^\circ$ , y  $-0.1^\circ \pm 1.59^\circ$  respectivamente) reportados en la imagen, obedecen a la rotación de la falange distal. Dónde el ángulo R tiene mayor reproducibilidad a pesar de que el ángulo U representa una medida mejor ajustada (Cripps & Eustace, 1999a). Todos estos datos fueron encontrados en caballos normales.

Finalmente, la proyección radiográfica dorso – palmar/plantar, también es de vital importancia para evaluar el desplazamiento asimétrico latero-medial, o desplazamiento distal simétrico “sinking” de la falange distal en casos de laminitis. Este hallazgo obtiene un mayor valor pronóstico si se asocia con la presencia de líneas de gas en ambas proyecciones radiográficas; una vez que indican pérdida de la mayoría de las láminas dentro del casco (Parks & Belknap, 2017). La figura 11, ilustra el desplazamiento distal asimétrico de la falange distal.

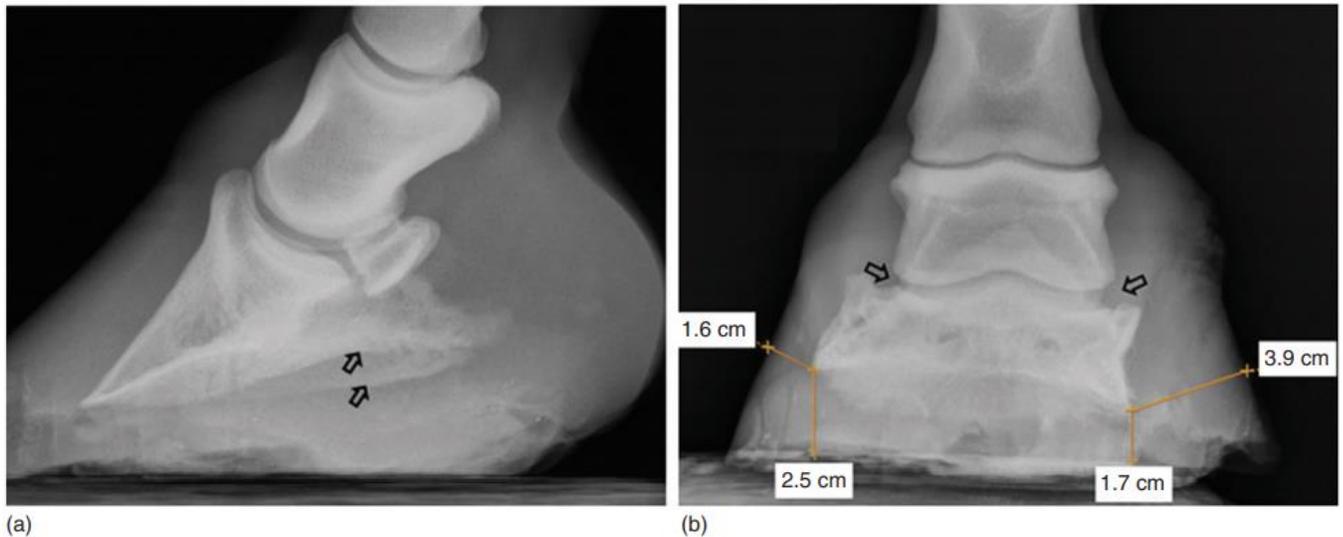


Figura 11. Hallazgos radiográficos de desplazamiento distal asimétrico. **a)** Disparidad en la margen solar de los procesos palmares en radiografía lateral (flechas). **b)** En el lado desplazado en la radiografía dorso palmar, se observa disminución del grosor de la suela, aumento del ancho del espacio de la articulación interfalángica distal (flechas), e incremento del grosor del casco (Parks & Belknap, 2017).

### 3.3.3 Venografía digital

La venografía digital es una forma de angiografía de contraste usada para definir la vasculatura del dígito, es una técnica relativamente simple que se puede utilizar en conjunto con la radiografía digital y permite detectar cambios vasculares en las diferentes patologías del dígito (Rucker, 2010a), además de tener valor pronóstico al realizarse de forma seriada y comparativa, al validar la existencia o no, de contraste en los vasos laminares, área circunfleja y del arco terminal (Eastman, *et al.*, 2012; Coleman, 2015). La figura 12 muestra los hallazgos venográficos en un casco normal.

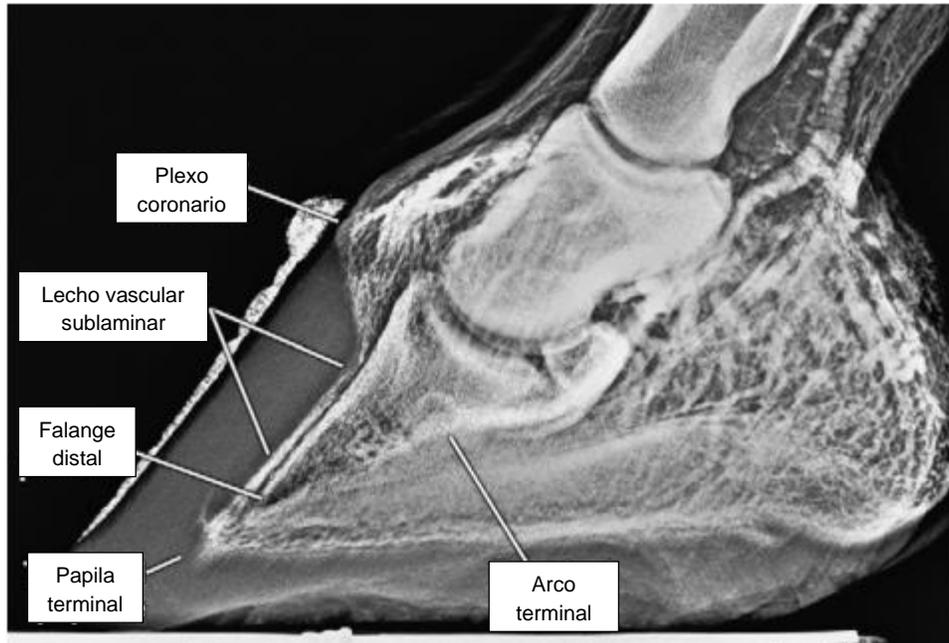


Figura 12. Venograma de un casco normal, vista latero-medial. Tomado y modificado de Rucker, (2010a).

Los estudios venográficos tienen mayor relevancia en estados agudos, previo a cambios radiográficos de posicionamiento de la falange distal, ya que los venogramas pueden demostrar desplazamiento de los vasos circunflejos sin desplazamiento de la falange (Eastman, *et al.*, 2012; Coleman, 2015). Esta ventaja puede revelar la dinámica de los daños vasculares en los pacientes con laminitis, ya que se ha evidenciado diferencias en la velocidad de evolución, siendo algunos de forma lenta y acumulativa por ocasionar pequeños daños (4 – 6 semanas) y de forma rápida y extensiva en las primeras 48 horas del cuadro clínico (Rucker, 2010b).

### 3.3.4 Resonancia magnética (RM)

La RM es una efectiva ayuda diagnóstica para claudicaciones, por la elevada especificidad y sensibilidad comparada con los métodos tradicionales (Dyson, *et al.*, 2003). Sin embargo, su uso aún sigue siendo restringido por la disponibilidad de equipos y elevados costos. Adicionalmente, la mayoría de los equipos disponibles requieren pacientes anestesiados, donde la repetitividad es inviable en casos de animales con laminitis, descompensado por la causa inflamatoria sistémica de base (Parks & Belknap, 2017).

A través de la RM se diagnostican lesiones en el ligamento impar sesamoideo distal, hueso sesamoideo, tendón flexor digital profundo, articulación interfalángica distal y cambios sobre la falange distal (Denoix, *et al.*, 1993). Adicionalmente, esta ayuda diagnóstica detecta cambios estructurales de la UDE, cambios óseos y cambios que sugieren separación temprana en laminitis aguda; son hallazgos no detectados por la radiología digital (Arble, *et al.*, 2009). Aunque la radiología es de importancia en laminitis aguda, también se reportan discrepancias entre sus hallazgos y la clínica, es decir, algunos pacientes clínicos de laminitis, presentan medidas de ángulos y la distancia de hundimiento normal; y la información obtenida de los tejidos blandos es nula (Orsini, 2011). Por lo anterior, es evidente la superioridad de RM, conforme los ha comparado en el estudio de Arble *et al.* (2009), y se evidencia en la figura 13.

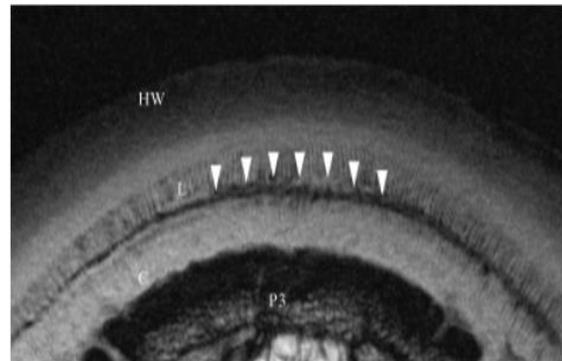
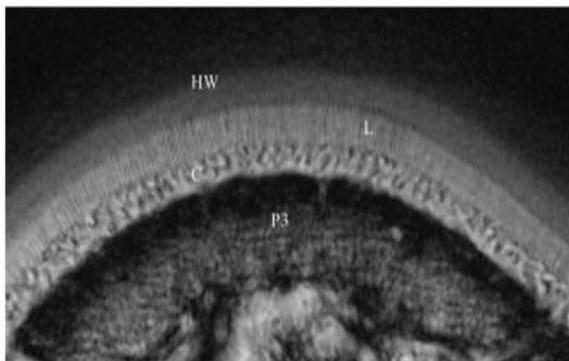


Figura 13. Imágenes Transversas magnificadas en T2\*. A la izquierda, imagen de un casco normal, se nota la apariencia heterogénea normal del corion y la apariencia uniforme de las láminas. A la derecha, imagen de un casco con laminitis aguda, se nota los cambios en la intensidad del corion y homogeneidad al compararlos con la imagen anterior; hay disrupción y pérdida de uniformidad en las láminas y una línea de separación es identificada por las cabezas de flecha. HW: Pared del casco, L: Láminas, C: Corion y P3: Falange distal (Arble, *et al.*, 2009).

Otros hallazgos que respaldan la superioridad de RM frente a los métodos diagnósticos convencionales, es la elevada correspondencia de las imágenes con cortes histológicos, como fue demostrado por Arble *et al.* (2009), al comparar estos dos, con la radiología, reportando hallazgos de separación entre las láminas dérmicas y epidérmicas que no reveló la radiografía. La comparación del anterior trabajo se muestra en la figura 14.



Figura 14. Imagen RM transversa T2\* (A), Radiografía lateromedial (B), y sección histológica con tinción H y E (C) de un casco con laminitis. La imagen RM (A) muestra las alteraciones en el corion y las láminas. Área de separación (asterisco). Área de incremento en la intensidad de la señal

(flecha blanca). Señal focal hipointensa está presente dentro de las láminas (cabeza de flecha blanca), representando gas o hemorragia aguda. El grado leve de separación, explicado por la inexistencia de cambios radiográficos (B). Histológicamente, muestra la separación entre las láminas dérmicas y epidérmicas. Se nota la hemorragia (acumulación de glóbulos rojos). HW: Pared del casco, L: Láminas, C: Corion y P3: Falange distal. Tomado de Arble, *et al.*, (2009).

De forma similar, estudios con casos de laminitis crónica, la RM reveló hallazgos como: disrupción y separación laminar, áreas circunscritas de gas y líquido laminar, incremento del tamaño y número de los canales vasculares en la falange distal, alteración en el corion de la corona y distensión de la articulación interfalángica distal, que no fueron mapeados por los estudios radiológicos (Murray *et al.*,2003). Algunos de estos, se detallan en la figura 15.

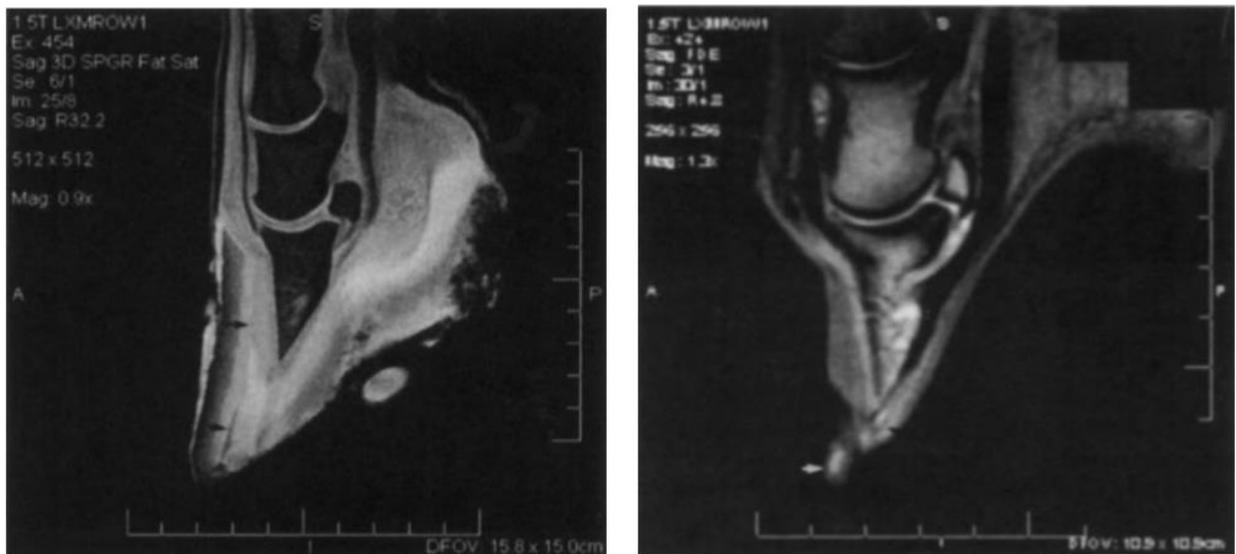


Figura 15. Imagen del lado izquierdo, se evidencia gas y separación laminar dorsal (flechas negras). Imagen del lado derecho, hay disrupción laminar, burbujas pequeñas de baja señal (consistentes con gas) (flecha negra) y

aumento discreto de señal en las láminas dorso-distales (consistentes con acúmulo de fluidos) (flecha blanca) (Murray, *et al.*, 2003).

Por todo lo descrito anteriormente, la RM es la única ayuda diagnóstica, que evalúa todas las estructuras anatómicas contenidas en el estuche córneo del dígito equino, que pueden ser involucradas por la laminitis u otras entidades patológicas (Arble, *et al.*, 2009). Aunque no existe caracterización de la configuración normal de la UDE y simplemente se menciona su ubicación (Denoix, 2000). Sin embargo, el uso de la RM no es masivo o rutinario en las clínicas, configurándose como una limitante, además de otras implicaciones particulares de su uso en pacientes laminíticos portadores de cuadros clínicos de base. De acuerdo al flujograma de la figura 16, algunos aspectos como la disponibilidad del equipo, la necesidad de anestesia en un paciente con desequilibrios orgánicos, la factibilidad de repetitividad (en caso de monitoreo) y el costo del procedimiento, inviabiliza su uso en clínicas alrededor del mundo (Barbee, *et al.*, 1987; Parks & Belknap, 2017; Aronson & Ferner, 2017).

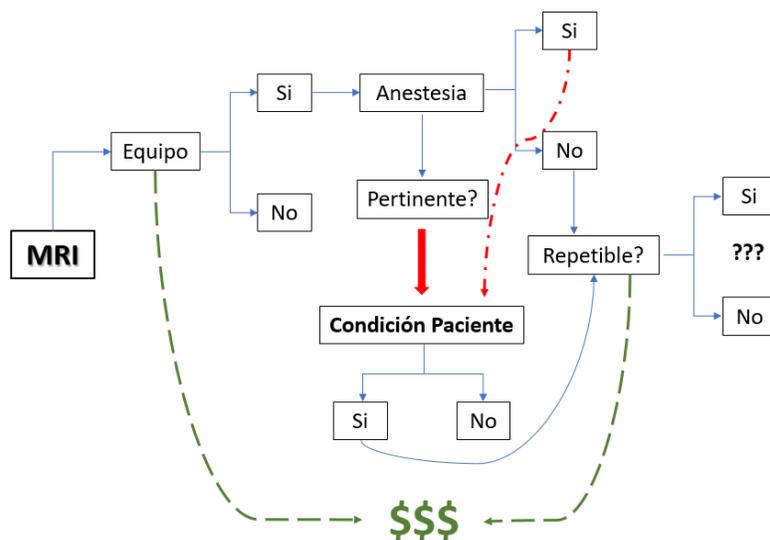


Figura 16. Flujograma de la toma de decisiones sobre la pertinencia del uso de la RM, en casos de laminitis que requieren ser monitoreados. Basado en Barbee, et al., (1987), Parks & Belknap, (2017), Gallastegui, (2021).

### 3.3.5 Evaluación por ultrasonido

La ultrasonografía, se ha utilizado para evaluar estructuras asociadas a claudicación de la parte distal de miembros de los equinos (Carstens & Smith, 2014), ha sido comparada con técnicas de imágenes avanzadas, siendo más sensible y con la misma exactitud en algunas condiciones médicas, como lo describe Evrard, *et al.*, (2021) y Maleas, *et al.*, (2020). Es un método de amplia repetibilidad y fácil acceso en la práctica clínica. Varios autores han descrito diferentes abordajes del casco con el uso del ultrasonido, entre estos: proximal al rodete coronario o a través de éste, describiendo el aspecto dorsal de la articulación interfalángica distal y sus ligamentos colaterales (Denoix, *et al.*, 2011; Sage & Turner, 2010; Dupays, *et al.*, 2012; Evrard, *et al.*, 2012), al igual que tejidos al interior del casco abordando a través de los talones, la ranilla (trans-cuneal) o la suela (trans-solear) (Hauser, *et al.*, 1982; Busoni & Denoix, 2001; Olivier-Carstens, 2004; Kristoffersen & Thoenner, 2010; Sage & Turner, 2010; Kidd, *et al.*, 2014; Gunkelman & Hammer, 2017; Gallastegui, 2021). Sin embargo, no se reporta descripción de los tejidos de la pared del casco, entre estos la UDE y demás estructuras internas; pero si se describe como limitante, el tejido córneo para la obtención de imágenes a través de la muralla del casco (Sage & Turner, 2010; Denoix, *et al.*, 2011; Evrard, *et al.*, 2012; Gallastegui, 2021).

## **4. Objetivos**

### **4.1 Objetivo general:**

Estandarizar la técnica ultrasonográfica, a través del estuche córneo (transmural), para la descripción anatómica y evaluación de las estructuras internas del casco.

### **4.2 Objetivos específicos:**

- ✓ Determinar la influencia del grado de humedad y temperatura del casco de los miembros torácicos y pélvicos, sobre la calidad de imágenes ultrasonográficas, en piezas anatómicas y en equinos vivos.
- ✓ Identificar el medio de conducción y el tiempo de inmersión, que ofrecen la obtención de imágenes ultrasonográficas de calidad de los estratos de la pared y estructuras internas del casco, en piezas anatómicas y en equinos vivos.
- ✓ Identificar las estructuras visualizadas en la técnica ultrasonográfica transmural del casco y, comparar las medidas obtenidas, en radiografía digital y en cortes sagitales de piezas anatómicas, y en radiografías digitales de equinos vivos.

## 5. Materiales y métodos

El presente trabajo contó con el aval del Comité de Ética para la Experimentación con animales (CEEA) de la Universidad de Antioquia, acta No. 135 del día 2 de septiembre del año 2020 (anexo 1), para dar garantías del uso adecuado de los animales instrumentalizados.

Procedimientos y medidas de cascos de equinos de la raza Caballo Criollo Colombiano (CCC), tanto de cadáveres como de animales sanos, fueron realizados con el fin de estandarizar la ventana ultrasonográfica sagital a través de la pared del caso (técnica transmural) y, evaluar e interpretar los hallazgos de los estratos y estructuras internas del dígito. El estudio comprendió dos (2) fases. La primera (Fase 1) – **piezas anatómicas**: se utilizaron 30 cascos (desarticulados desde la articulación metacarpo/metatarsofalángica) recolectados posterior al proceso de faenado en la planta de beneficio La Rinconada, ubicada en la vereda la Laja, municipio de Rionegro-Antioquia. La segunda (Fase 2) - **equinos vivos**: se desarrolló con 32 cascos de ocho (8) yeguas de potrero con edad, peso y condición corporal promedio de  $6.9 \pm 2.97$  años,  $284.9 \pm 32.1$  kg y,  $4.1 \pm 0.44$  (Henneke *et al.*, 1983) respectivamente. Finalmente, un total de 62 cascos de miembros torácicos y pélvicos, fueron utilizados para la estandarización de la técnica ultrasonográfica.

### 5.1 Criterios de inclusión

Las piezas anatómicas, fueron seleccionadas de equinos sometidos a examen ante-mortem, comprendiendo una inspección a distancia de equinos en cuadripedestación, con estado mental alerta y dóciles para la manipulación; igualmente, sin signos de alteraciones endocrinas. Adicionalmente, se consideraron los siguientes aspectos: sin claudicación al paso y al trote, en línea recta y en círculos pequeños; sin alteraciones en la cápsula externa del casco compatibles con

enfermedades, o signos de laminitis en fase aguda o crónica; prueba de la pinza y percusión de la muralla negativas. Los cascos seleccionados para esta fase fueron transportados en fresco durante 4 horas, y congelados a -21°C durante 150 días hasta el análisis respectivo.

Para la fase 2, los equinos seleccionados a conveniencia fueron sometidos a examen clínico general. Incluyendo equinos sin historia de laminitis, con constantes fisiológicas dentro los rangos normales, sin fenotipo de alteraciones endocrinas y dóciles a la manipulación. Adicionalmente, se consideraron los siguientes aspectos: sin claudicación al paso y al trote en línea recta, en círculos abiertos y cerrados; sin historia reciente de claudicación (considerado como un tiempo mayor a 30 días); sin alteraciones en la cápsula externa del casco compatibles con enfermedades, o signos de laminitis en fase aguda o crónica; prueba de la pinza y percusión de la muralla negativas.

A la totalidad de cascos seleccionados, se les realizó estudios radiográficos, como criterio de inclusión, con el fin de descartar aquellos con evidencia de laminitis crónica o alteraciones de las estructuras óseas distales. Se utilizó el equipo y la técnica descrita en la tabla 2. Para el caso de laminitis crónica, se aplicaron las medidas y ángulos descritos en la literatura (Cripps & Eustace, 1999a; Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015; Parks *et al.*, 2017), con el software Accuvet Ink-RADMEDIX Image acquisition software for Veterinary.

Tabla 2. Técnica radiográfica utilizada para evaluar los 62 cascos de Caballos Criollos Colombianos seleccionados para ambas fases experimentales.

<b>Equipo</b>	<b>mAs (min-max)</b>	<b>Kv (min-max)</b>	<b>Proyecciones</b>
Generador Poskom 20-BT PLUS VET*. HFX90V	1,2 (0,32-1,2)	66 (48-66)	Latero-mediales Dorso-Palmar/Plantar

\*MINXRAY. mAs = Mili amperaje/segundo; Kv = Kilo voltaje.

## 5.2 Medidas a evaluar

Con la evaluación radiográfica se obtuvieron aquellos con una relación anatómica normal entre la falange distal y la cápsula del casco, de pacientes sin claudicación y, con apariencia radiográfica normal en el estrato interno del casco. Estos fueron sometidos a evaluación ultrasonográfica, radiográfica y, cortes sagitales en dieciséis (16) piezas anatómicas de la fase 1, con el fin de validar los hallazgos de la técnica ultrasonográfica transmural. Las medidas de la pared dorsal del casco fueron obtenidas tomando como referencia tres niveles en la superficie parietal de la falange distal (figura 17, 20 y 21):

- ✓ Nivel proximal: Inmediatamente distal al proceso extensor, donde se observa el cambio de inclinación entre este y la superficie parietal de la falange distal (Goulet, *et al.*, 2015).
- ✓ Nivel distal: ~6mm proximal al ápice de la falange distal (Grundmann, *et al.*, 2015).
- ✓ Nivel medio: Se estima la distancia equidistante entre los anteriores. En ultrasonografía se determinó utilizando como guía el punto medio del transductor.

Tomándolos como referencia, en conjunto con el proceso extensor y el ápice de la falange distal, se replicaron las siguientes medidas en radiografía digital y ultrasonografía (figuras 17 y 20), y en los cortes anatómicos sagitales en la fase 1 (figura 21):

- ✓ Distancia rodete coronario-proceso extensor (**A**).
- ✓ Grosor total del casco (**G**). Calculado al sumar P y D\*.
- ✓ Pared del casco (**P**). \*
- ✓ Dermis parietal (**D**). Compuesta por L y C. \*
- ✓ Unión Dermo – Epidermal (UDE) (**L**). \*

- ✓ Dermis sublamina (C). \*
- ✓ Distancia ápice-pared del casco (B).
- ✓ Dermis solear (S).

\*Medidas determinadas en los niveles planteados.

La distancia A, fue determinada por una línea diagonal; las medidas de B y S se determinaron por una línea perpendicular (con relación a la superficie parietal) sobre el ápice de la falange distal. La radiografía digital, sólo permite diferenciar el estrato medio e interno (Goulet, *et al.*, 2015; Grundmann, *et al.*, 2015; Parks & Belknap, 2017b). Por tanto, la diferencia de las capas que componen este último (L y C), fue obtenida en ultrasonografía y en cortes anatómicos.

### **5.3 Evaluación radiográfica**

A las imágenes radiográficas latero-mediales, obtenidas con el equipo y la técnica descrita en la tabla 2, se les realizó ajuste de contraste (Goulet, *et al.*, 2015; Parks & Belknap, 2017b) para diferenciar los tejidos blandos de los queratinizados en la pared del casco (figura 17). Con apariencia radiolúcida y radio densa respectivamente (Parks & Belknap, 2017b). También, se logró determinar las medidas inéditas A, B y S.

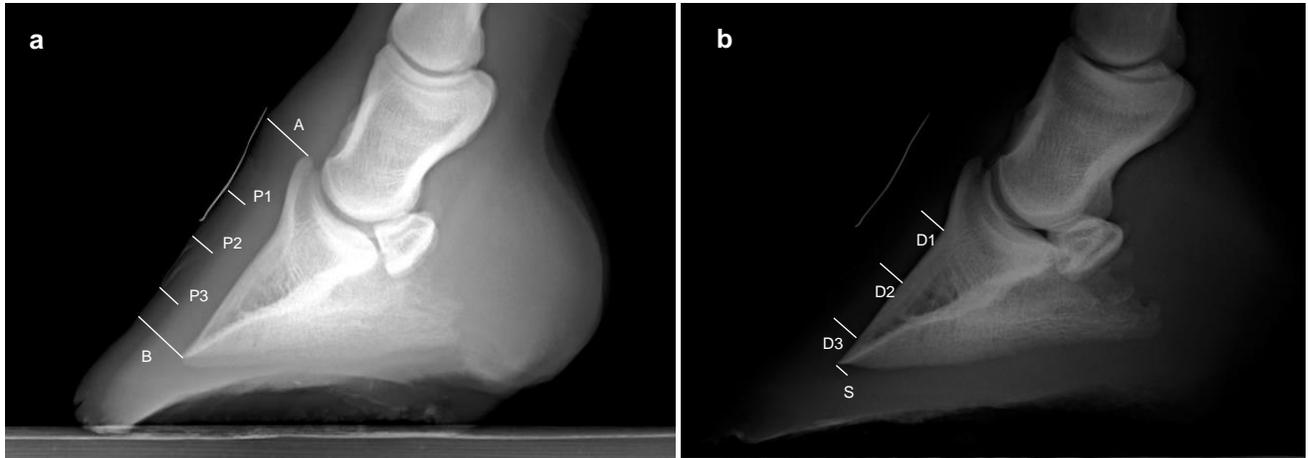


Figura 17. Radiografía latero-medial del casco de un miembro torácico de Caballo Criollo Colombiano, donde el ajuste de contraste permite diferenciar los tejidos queratinizados de los tejidos blandos, observando: **a)** Distancia rodete coronario-proceso extensor (A), pared del casco en el nivel proximal (P1), medio (P2) y distal (P3), y distancia ápice-pared (B). **b)** Capa radiográfica profunda o dermis parietal (D) en el nivel proximal (D1), medio (D2) y distal (D3), y la dermis solear (S).

La calidad de imagen radiográfica fue definida, basado en la cantidad de medidas obtenidas; Buena: la totalidad de las medidas. Mala: solo las medidas de los niveles proximal, medio y distal.

## 5.4 Evaluación ultrasonográfica

### 5.4.1 Preparación

Cada casco pasó por un proceso de lijado (lija No. 150-180), para disminuir irregularidades en la superficie dorsal, mejorar el contacto del transductor y limitar la aparición de artefactos. Seguidamente, fueron sumergidos durante 24 horas en

cada medio conductor, buscando hidratar el estuche córneo de la muralla, para una mayor penetración de las ondas de ultrasonido.

#### **5.4.2 Medios conductores**

Como medios conductores se utilizó el agua y agua con hielo, donde fueron inmersos tanto las piezas anatómicas como los cascos de los equinos, con la siguiente distribución:

##### **Fase 1 – Piezas anatómicas:**

- ✓ Grupo 1 (Inmersión en Agua): Ocho (8) cascos de miembros torácicos y siete (7) de miembros pélvicos, fueron instrumentados.
- ✓ Grupo 2 (Inmersión en Agua + hielo): Siete (7) cascos de miembros torácicos y ocho (8) de miembros pélvicos, se consideraron en este grupo.

##### **Fase 2 – Equinos vivos:**

- ✓ Grupo 1 (Inmersión en agua): 16 cascos de cuatro (4) equinos, divididos en ocho (8) miembros torácicos (4 de cada lado) y ocho (8) pélvicos (4 de cada lado).
- ✓ Grupo 2 (Inmersión en agua + hielo): 16 cascos de cuatro (4) equinos, divididos en ocho (8) miembros torácicos (4 de cada lado) y ocho (8) pélvicos (4 de cada lado).

La inmersión de los cascos superó el rodete coronario, implementando para ello, contenedores plásticos en la fase 1 (figura 18-a); y bolsas de soluciones con capacidad de tres (3) litros para la fase 2 (figura 18-b). El tiempo de inmersión máximo fue de 24 horas, con valoraciones ultrasonográficas, porcentaje de humedad y temperatura de la superficie del casco, cada dos (2) horas.



Figura 18. Sistema de inmersión utilizados para los cascos estudiados. **a)** Uso de contenedores plásticos para sumergir piezas anatómicas congeladas. **b)** Uso de bolsas vacías de fluidos de tres (3) litros para la inmersión de los cascos de equinos vivos.

En la fase 2, se evaluó cada dos (2) horas el nivel de respuesta a la instrumentación, monitoreando las constantes fisiológicas, consumo de agua y alimento, y defecación (Anexo 2). Lo anterior, con el fin de suspender de inmediato la evaluación al presentar anomalías. De igual manera, se evaluó la presencia de claudicación inmediatamente y un día después del procedimiento.

#### **5.4.3 Porcentaje de humedad y temperatura de la superficie del casco:**

La humedad (%) y la temperatura (°C), fueron medidas en la superficie dorsal del casco cada dos (2) horas. La humedad, fue medida en porcentaje (%) con el equipo wood/building material moisturemeter (MT270) / Tavool®. Por otro lado, la temperatura fue medida en grados Celsius (°C) con un termómetro infrarrojo sin contacto (UX-A-01) / RoHS®.

#### 5.4.4 Técnica ultrasonográfica:

La evaluación ultrasonográfica a través de la muralla en un eje sagital, técnica transmural, se realizó en los cascos de ambas fases sin el uso de la almohadilla de gel “standoff pad”, con el equipo y la técnica descrita en la tabla 3. Los cascos de los equinos vivos fueron evaluados en apoyo completo.

Tabla 3. Técnica ultrasonográfica utilizada para evaluar los 62 cascos de Caballos Criollos Colombianos, seleccionados para ambas fases experimentales.

Equipo	Frecuencia (min-max)	Profundidad (min-max)	Ganancia (min-max)
Ecógrafo G30 Color Doppler*	Transductor lineal para tendones con 6,5 mHz (5 - 7,5)	34 mm (31-36)	100 (82-100)

\*EMPEROR MEDICAL, (EMP®). mHz = Mega Hertz; mm = Milímetros.

La técnica transmural (figura 20) fue realizada de la siguiente manera, se ubicó el transductor lineal para tendones en el eje sagital dorsal, tras identificar la articulación interfalángica distal (AIFD), como fue descrito por Dupays, *et al.*, (2012), y el proceso extensor; se continua hacia distal (contactando con el casco) hasta encontrar la superficie parietal de la falange distal, una vez identificada, se ubicaron los tres niveles planteados y las capas a caracterizar en cada uno (figura 19-a). La distancia A, se determinó en una vista transversa a nivel del rodete coronario, como lo describió Dupays, *et al.*, (2012) (figura 19-b).

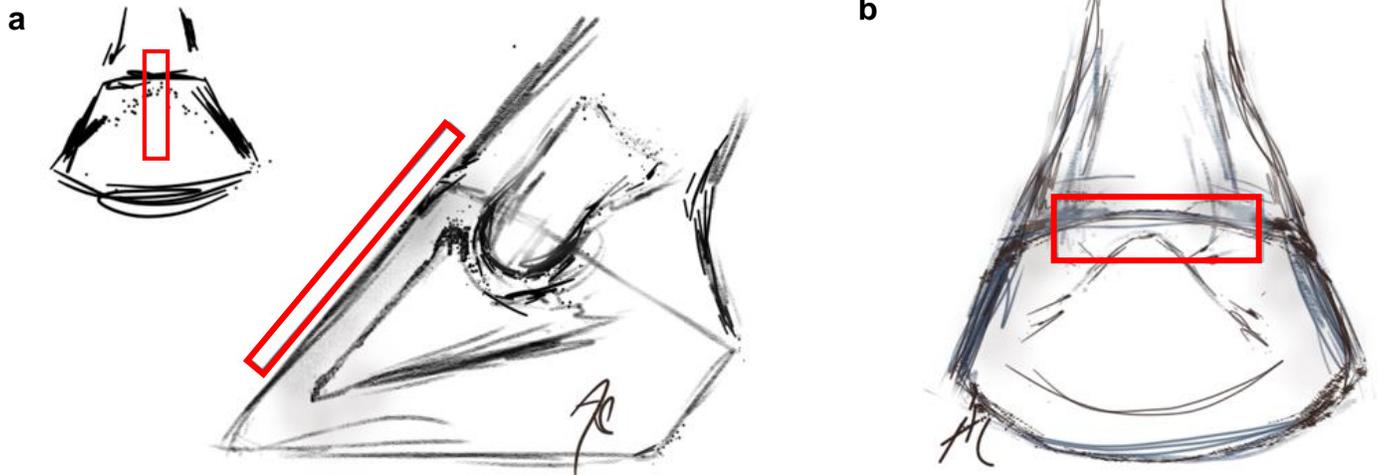


Figura 19. Ubicación del transductor en la técnica ultrasonográfica transmural (rectángulos). **a)** El transductor es posicionado en el eje sagital, tras identificar la AIFD, y el proceso extensor. **b)** Corte ultrasonográfico transverso a nivel del rodete coronario.

En cada nivel, se trazaron líneas oblicuas (a  $90^\circ$ ), logrando encontrar las medidas propuestas (figura 20). Estas fueron consignadas en el formato 2 para medidas y hallazgos en la ejecución de la técnica transmural (Anexo 3), y posteriormente organizadas en las bases de datos para sus respectivos análisis. La calidad de las imágenes se definió basado en la cantidad de medidas obtenidas; Buena: la totalidad de las medidas. Mala: solo se logró las medidas de los niveles proximal, medio y distal.

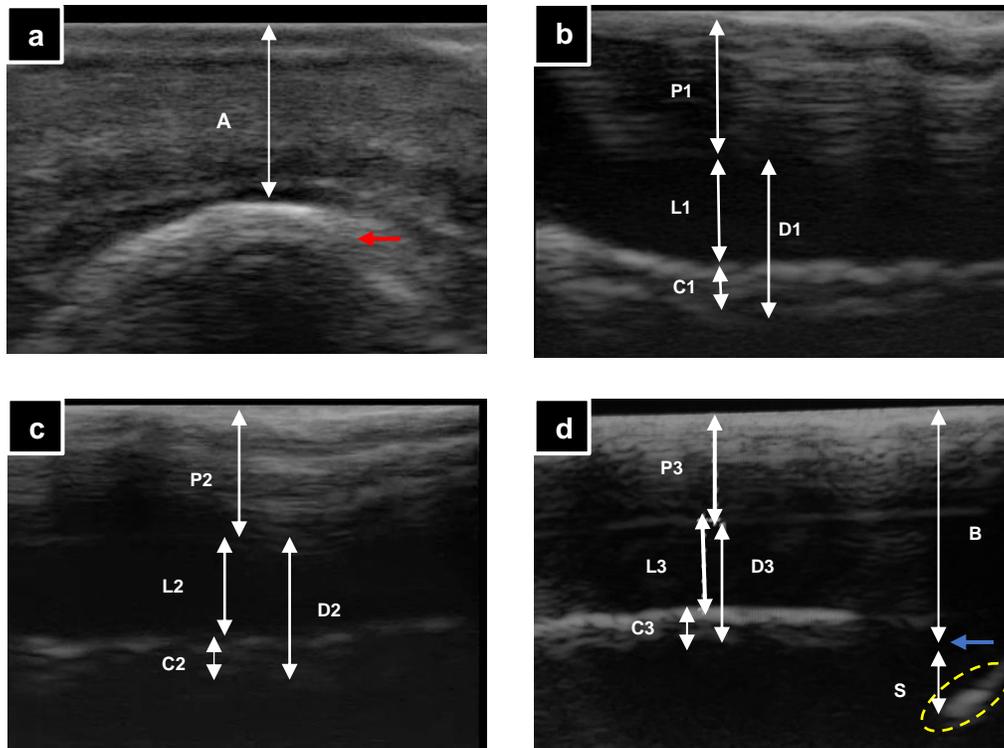


Figura 20. Ultrasonografías del casco en Caballo Criollo Colombiano, a través de la técnica transmural. **a)** Miembro torácico: evaluación ultrasonográfica transversa, sobre el rodete coronario, mostrando el proceso extensor de la falange distal (flecha roja) y distancia A (rodete coronario-proceso extensor) **b)** Nivel proximal de un miembro pélvico: pared del casco (P1), dermis parietal (D1), UDE (L1), y dermis vascular sublaminar (C1). **c)** Nivel medio de un miembro torácico: pared del casco (P2), dermis parietal (D2), UDE (L2) y dermis vascular sublaminar (C2). **d)** Nivel distal de un miembro torácico: pared del casco (P3), dermis parietal (D3), UDE (L3) y dermis vascular sublaminar (C3), ápice de la falange distal (flecha azul), papilas solares (óvalo amarillo punteado), distancia ápice-pared (B), dermis solear (S).

## 5.5 Cortes anatómicos

Se realizaron cortes sagitales a 16 cascos (8 torácicos y 8 pélvicos) con sierra de referencia v25-19 220v/60/2f 1hp / JAVAR®. Utilizando un estereomicroscopio digital Olympus® SZX7 con cámara DP27, y el software Olympus cellSens Standard, se estimaron las medidas P, L, C y D en los tres niveles descritos sobre la región parietal de la tercera falange, y las distancias A, B y S (figura 21).

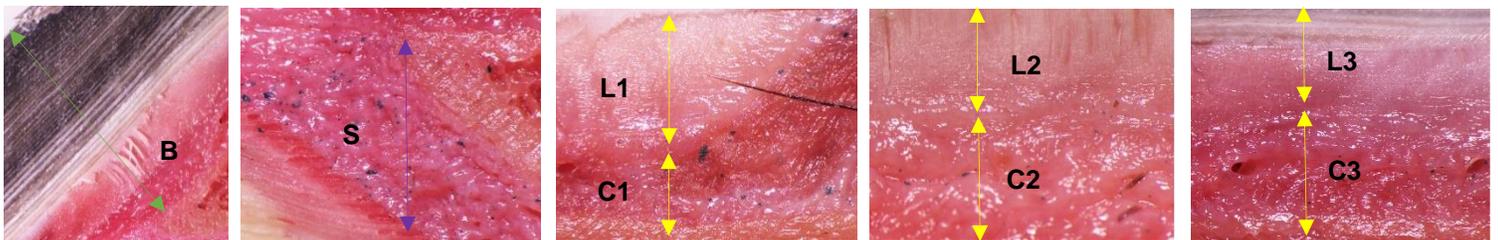
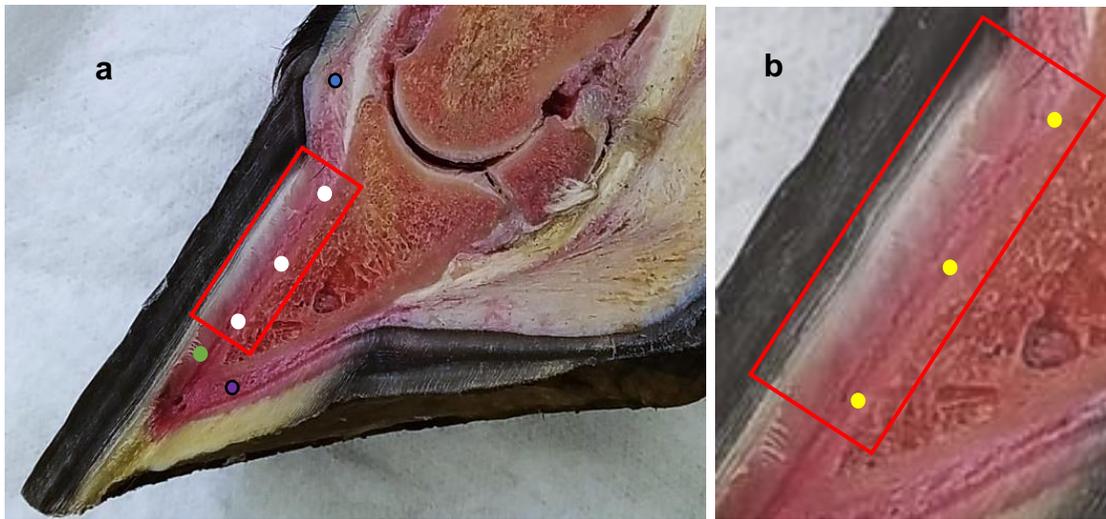
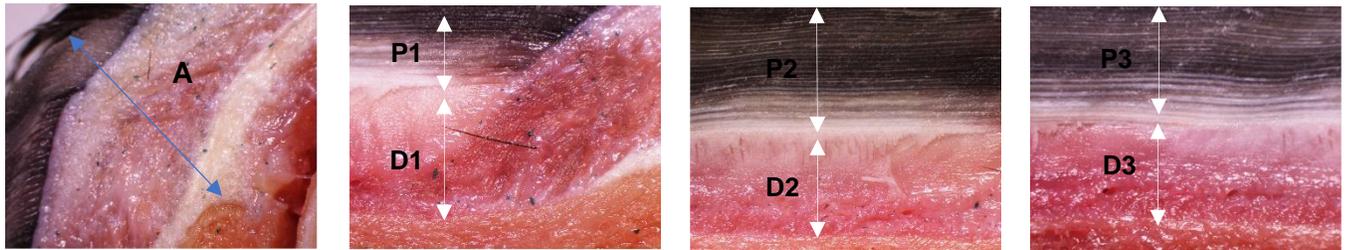


Figura 21. Corte anatómico sagital de un casco torácico equino. **a)** Distancia A (rodete coronario-proceso extensor), réplicas de la pared del casco (P1, P2 y P3) y la dermis parietal (D1, D2 y D3) en el nivel proximal, medio y distal, respectivamente. Distancia B (ápice-pared) y S (dermis solear). **b)** Detalle ampliado, donde se observan las réplicas de la UDE (L1, L2 y L3) y la dermis vascular sublaminaar (C1, C2 y C3) en el nivel proximal, medio y distal, respectivamente.

La calidad de los cortes anatómicos la definió la posibilidad de diferenciar cada capa en la imagen del estereomicroscopio. Buena: se logró obtener todas las medidas. Mala: se logró obtener las medidas de los niveles proximal, medio y distal.

## **5.6 Estudio piloto (pretest)**

Inicialmente, se realiza ultrasonografía transmural de una pieza anatómica con corte sagital del dígito equino, la cual se encontraba sumergida en alcohol al 70%. A la par se desarrollaron medidas macroscópicas con regla milimétrica, correlacionando las distancias con las obtenidas en el ultrasonido; con esta metodología se logra identificar el fibrocartílago modificado de la falange distal y la transición entre los estratos medio e interno de la epidermis.

Basado en lo anterior, se realiza inmersión en agua de cascos de piezas anatómicas en fresco, con tiempos para la evaluación ultrasonográfica, al azar, posterior a 0, 2, 4 y 18 horas de inmersión. En el tiempo cero no fue posible alcanzar el ingreso del ultrasonido a través de la pared, siendo limitado en el primer rango y, satisfactorio en los dos últimos. Se realiza medidas de las capas identificadas en ultrasonografía, y posterior corte sagital con sierra de corte fino, obteniendo una correlación objetiva.

Los hallazgos ultrasonográficos son replicados en los miembros torácicos y pélvicos de un equino vivo escogido a conveniencia. Los cascos se sumergen en agua, como se indicó en la figura 18-b; posterior a 4 horas, se obtiene el ingreso del ultrasonido y se evalúan las capas. La totalidad de estos procesos, fundamentan el desarrollo metodológico del presente estudio.

## **5.7 Correlación entre los métodos**

### **5.7.1 Fase 1**

En los tres métodos (radiografía, ultrasonografía y cortes anatómicos), se compararon las medidas: dermis parietal (D) y, las distancias A, B y S. Como limitante de la radiografía digital, no se diferencian las capas que componen la dermis (capas L y C). Por tanto, se comparó entre ultrasonografía y cortes anatómicos las medidas D, UDE (L) y dermis sublaminaar (C), al igual que las distancias A, B y S.

### **5.7.2 Fase 2**

Las medidas obtenidas con la técnica ultrasonográfica fueron contrastadas con las medidas radiográficas. Comparando las medidas D y, las distancias A, B y S.

## **5.8 Diseño estadístico**

Todos los datos fueron analizados con el programa estadístico STATA® (statistics/data analysis), versión 16.1. Los datos (en ambas fases) presentaron una distribución no normal, por tanto, las medidas entre los métodos de evaluación fueron comparadas por medio de pruebas no paramétricas.

Se empleó estadística descriptiva, estimando rango inter-cuartil, media (promedio) y mediana como medidas de tendencia central; desviación estándar y coeficiente de variación, como medidas de dispersión. Por la distribución de los datos, los análisis se realizaron basado en la mediana (percentil 50).

En ambas fases se estimó la asociación entre la temperatura en grados Celsius (°C), el porcentaje de humedad (%) y las horas (tiempo) de inmersión (variables cuantitativas ordinales), requeridas para obtener imágenes ultrasonográficas de buena calidad (variable categórica nominal). Determinando, con la prueba no paramétrica chi-cuadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson, la relación entre cada variable cuantitativa (temperatura, humedad y tiempo de inmersión) y la obtención de imágenes ultrasonográficas de calidad.

#### **5.8.1 Fase 1. Cascos en piezas anatómicas.**

Buscando validar la técnica transmural, se comparó con la prueba no paramétrica de Friedman, las medidas radiográficas, ultrasonográficas y anatómicas; y con la prueba no paramétrica de Wilcoxon se compararon las medidas ultrasonográficas y anatómicas.

#### **5.8.2 Fase 2. Cascos de equinos vivos.**

Buscando validar la técnica transmural, se compararon las medidas ultrasonográficas y radiográficas con la prueba no paramétrica de Wilcoxon.

## 6. Resultados

### 6.1 Resultados cualitativos

El estudio radiográfico no evidenció cuadro de laminitis o alteraciones de la tercera falange en la totalidad de los cascos evaluados. Con la técnica ultrasonográfica transmural se observaron zonas de transición que permitieron identificar las capas a evaluar en cada nivel planteado, con hallazgos que resaltan la caracterización ultrasonográfica normal de la dermis y epidermis del casco, la localización de los niveles con relación a estos y a la falange distal. Con hallazgos por resaltar a nivel proximal y distal (figuras 22 y 23).

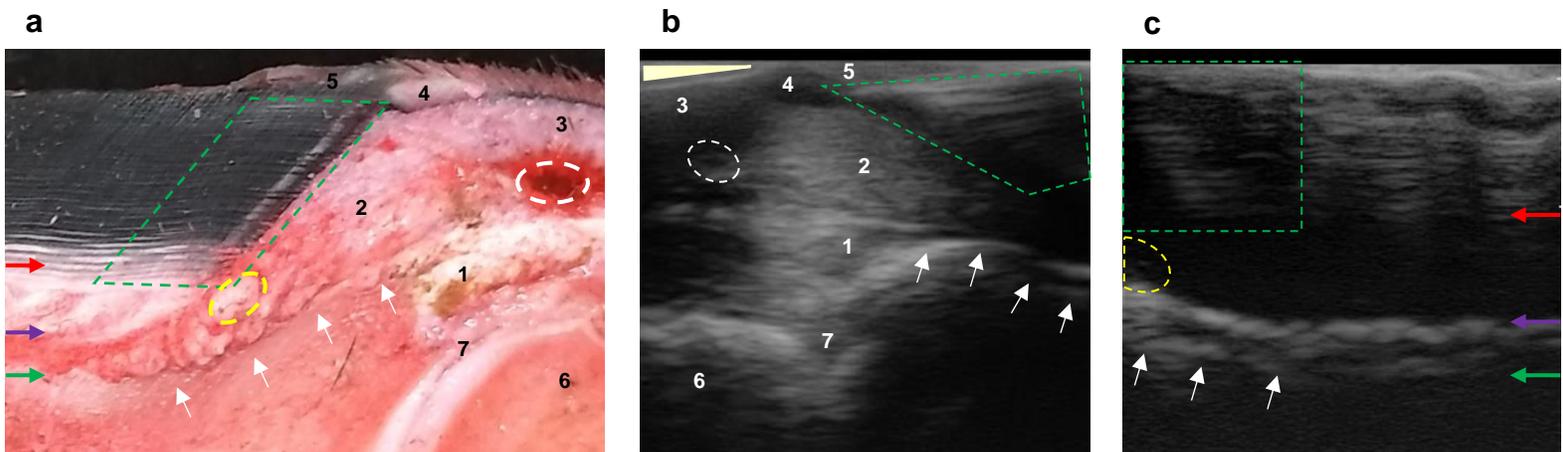


Figura 22. Estructuras internas del casco a nivel proximal, observadas con la técnica ultrasonográfica transmural en equinos vivos y su correspondencia al corte anatómico. **a)** Corte anatómico sagital del casco de un miembro torácico al cuál se le realizó repleción a través de la arteria mediana. Proximal es a la derecha. **b)** Ultrasonografía sagital inmediatamente distal a la AIFD a través del casco de un miembro pélvico. Proximal es a la izquierda. **c)** Ultrasonografía transmural de un miembro pélvico. Proximal es a la izquierda. Transición entre los estratos medio (o pared) e interno (o laminar) de la

epidermis (flecha roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis sublaminar (flecha morada). Entre estas dos últimas se encuentra la UDE. Fibrocartílago modificado “periostio” (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal (flecha verde), el cual, a nivel del proceso extensor (flechas blancas), sólo presenta el aspecto hiperecogénico característico en la inserción del tendón extensor digital común/largo (1). Papilas de la corona (área entre líneas verdes interrumpidas). Arteria coronaria (círculo blanco interrumpido). Vasos coronarios (área entre líneas amarillas interrumpidas). 1: tendón extensor digital común/largo. 2: hipodermis (almohadilla) de la corona. 3: piel. 4: dermis del periople. 5: periople (estrato externo). 6: falange media. 7: AIFD. Área donde pierde contacto el transductor (triángulo amarillo claro) en b.

En la ejecución de la técnica ultrasonográfica transmural (exploración sagital a través del casco), inmediatamente distal a la AIFD, a nivel del proceso extensor y adyacente al corion de la corona se encontraron las papilas de la corona (figura 22). Lográndose observar los túbulos córneos de la pared del casco. Las papilas de la corona se encuentran a nivel del proceso extensor de la falange distal y terminan a la altura donde se da el cambio de inclinación hacia la superficie parietal (figura 22 - c), es decir en el nivel proximal. Dichas estructuras son paralelas a la superficie parietal, indicando la dirección de crecimiento del estrato medio de la epidermis. Esta configuración se observó en los cortes sagitales de piezas anatómicas (figura 22-a). Por la inclinación del transductor sobre el rodete coronario, sin almohadilla de separación, las papilas toman una apariencia inclinada (figura 22-b), pero, al contactar completamente con la pared del casco, se observa la configuración anatómica normal (figura 22-c).

En el nivel distal, se logró observar diferentes estructuras (figura 23). Existen dos zonas de transición (figura 22 y 23). La primera, entre el estrato medio (pared) y el estrato interno (laminar) de la epidermis, diferenciando P y L, con ecogenicidad

mayor a las anteriores. La segunda, entre la dermis laminar y la dermis vascular sublaminar, diferenciando C y L. La apariencia de esta, es reforzada por el contacto de las ondas de ultrasonido con la superficie parietal de la falange distal, y varía a nivel del ápice, siendo la ecogenicidad menor al tramo anterior (figura 23-b); cambio, también observado en C. Distal al ápice de la falange se encontró las papilas soleares (figura 23-a y b); representadas por las líneas oblicuas interrumpidas, siendo hiperecogénicas a la dermis solear adyacente y, de mayor amplitud al segundo límite. La fiabilidad para determinar el nivel distal aumenta al observarlas.

Las capas del casco fueron identificadas con la ultrasonografía, tal como se describe en las figuras 22 y 23; desde la capa superficial a la más profunda, se caracterizaron de la siguiente forma:

- ✓ Pared del casco (**P**). Apariencia ultrasonográfica heterogénea. La porción que contacta el transductor tiene mayor ecogenicidad (en algunas ocasiones hiperecogénica), y llega a ser anecogénica adyacente a la transición hacia el estrato interno (o laminar) de la epidermis. Existiendo una zona de transición, de apariencia isoecogénica con gránulos gruesos.
- ✓ UDE (**L**). Apariencia ultrasonográfica de anecogenicidad homogénea, en ocasiones isoecogénica de gránulos finos. Es hipo ecogénica a C, y se encuentra entre la transición del estrato medio (pared) hacia el interno (laminar) de la epidermis y, de la dermis laminar hacia la dermis sublaminar.
- ✓ Dermis sublaminar (**C**). Al ser compuesta por vasos sanguíneos (arteriolas/vénulas), tiene apariencia ultrasonográfica heterogénea; se observa la pared y el lumen (espacios anecogénicos), pero con el transductor lineal para tendones no fue posible determinarlos por medio de ultrasonografía Doppler. Ubicada entre la UDE y el periostio (pseudo cartílago calcificado) de la superficie parietal de la falange distal.
- ✓ Dermis parietal (**D**) compuesta por las dos anteriores.

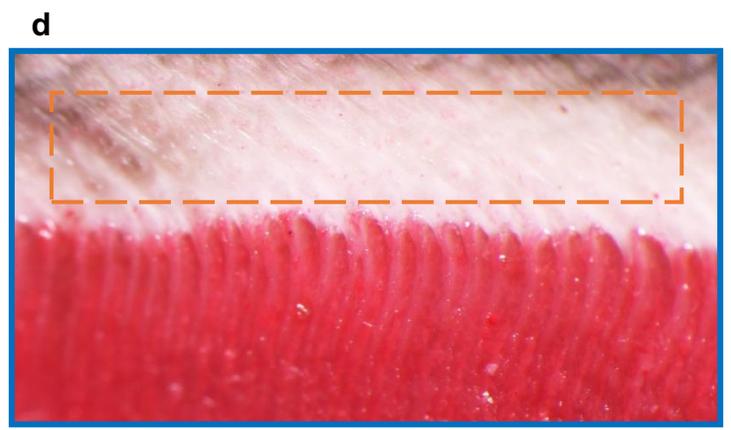
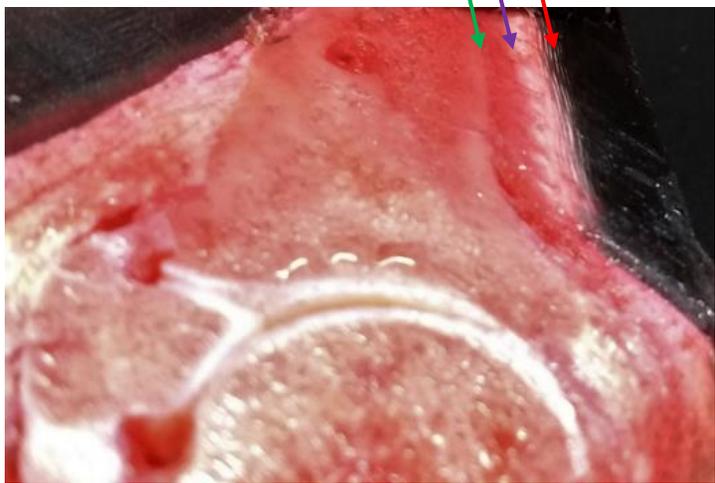
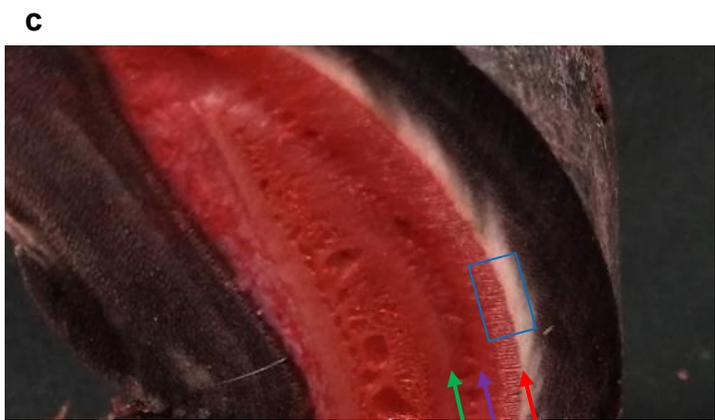
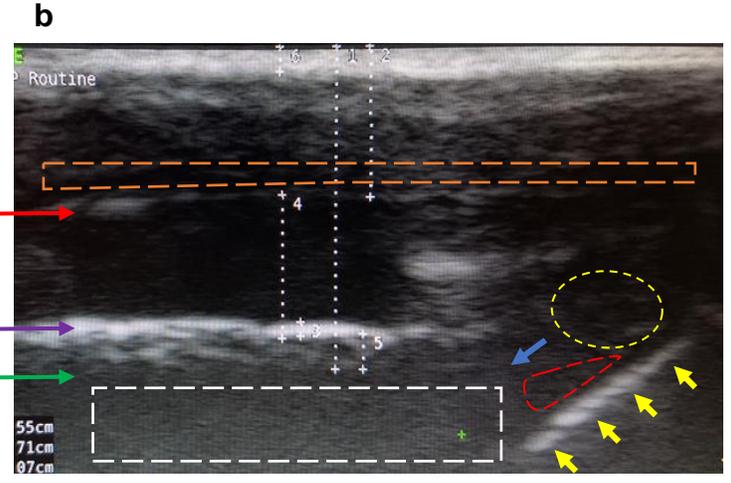
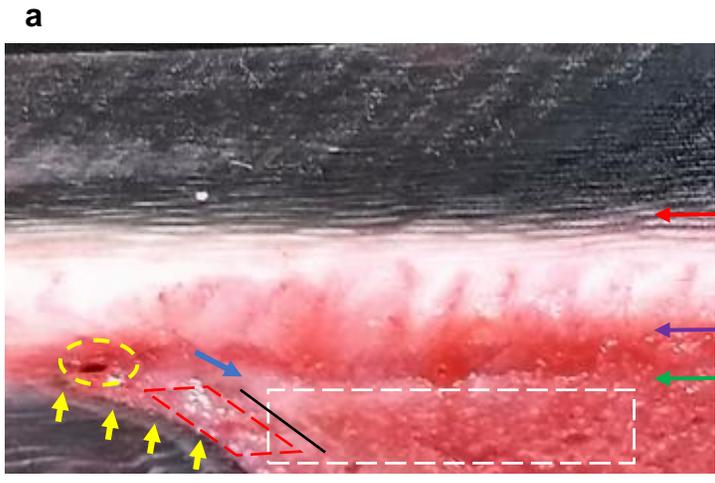


Figura 23. Hallazgos comparativos de las estructuras internas del casco a nivel distal, observadas con la técnica ultrasonográfica transmural en una pieza anatómica. **a)** Corte anatómico sagital del casco de un miembro torácico al cuál se le realizó repleción a través de la arteria mediana. Proximal es a la derecha. **b)** Ultrasonografía transmural en un miembro torácico de un equino vivo. Proximal es a la izquierda. **c)** Transposición entre el corte anatómico sagital y transversal. **d)** Recuadro ampliado, donde se observa la región más interna del estrato medio de la epidermis (recuadro naranja interrumpido). Transición entre los estratos medio (o pared) e interno (laminar) de la epidermis (flecha doble roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublaminar (flecha doble morada). Entre estas dos últimas se encuentra la UDE. Se obtiene mejor detalle de los vasos sublaminares y de la UDE en el corte transversal. Fibrocartílago modificado “periostio” (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal (flecha doble verde), con la respectiva sombra acústica producto de la masa ósea de la falange distal (recuadro blanco interrumpido). Ápice de la falange distal (flecha azul). Superficie solear de la falange distal (línea negra), no observada en el ultrasonido. Papilas soleares (flacas amarillas) que limitan la dermis solear (líneas rojas interrumpidas). Arteria circunfleja o vénulas (círculo amarillo interrumpido).

## 6.2 Resultados cuantitativos

Los datos analizados no mostraron una distribución normal. Por medio de variables categóricas nominales, se calificó la calidad de imágenes radiográficas, ultrasonográficas y de cortes anatómicos (tabla 4). Sólo se reporta el número de cascos con imagen de buena calidad.

Tabla 4. Calidad de imágenes radiográficas, ultrasonográficas y de los cortes anatómicos en los cascos sujetos de estudio de ambas fases experimentales.

Medio de inmersión	Miembro	Imágenes radiográficas	Imágenes ultrasonográficas	Imágenes de cortes anatómicos
<b>Fase 1*</b>				
Grupo 1 (agua)	Torácico	8	5	0
	Pélvico	7	6	3
Grupo 2 (agua con hielo)	Torácico	7	0	1
	Pélvico	8	3	3
<b>Fase 2**</b>				
Grupo 1 (agua)	Torácico	8	5	N. A
	Pélvico	8	3	N. A
Grupo 2 (agua con hielo)	Torácico	8	6	N. A
	Pélvico	8	5	N. A

\*Estudios de cascos en piezas anatómicas (n=30 cascos). \*\* Estudios en cascos de equinos vivos (n=32 cascos). N.A: No aplica.

En los 62 (100%) cascos evaluados en ambas fases, se obtuvieron imágenes radiográficas de buena calidad. Con relación a las imágenes ultrasonográficas de buena calidad, en la fase 1, se obtuvieron en 14 (46,7%) cascos, distribuidos en 11 (78,6%) cascos del grupo 1, y 3 (21,4%) cascos del grupo 2. En la fase 2, se obtuvieron en 19 de los cascos evaluados (61,3%); 8 (42,1%) cascos del grupo 1, y 11 (57,9%) cascos del grupo 2. En el caso de los cortes anatómicos, las imágenes de buena calidad se obtuvieron de 7 (43,75%) cascos, repartidos en 3 (42,9%) y 4 (57,1%) cascos, grupo 1 y 2 respectivamente.

Los resultados descriptivos de la evaluación ultrasonográfica en ambas fases, referentes a tiempo de inmersión, humedad y temperatura en la superficie del estuche córneo, orientadas a obtener imagen de calidad, se relacionan en la tabla 5. Los valores presentados, son los que permitieron realizar la totalidad de las medidas ultrasonográficas (imagen de buena calidad).

Al comparar el coeficiente de variación (CV) se encuentra que los datos con mayor homogeneidad, fue el porcentaje de humedad en ambas fases. Los de mayor

heterogeneidad la temperatura en la fase 1 y, el tiempo de inmersión y la temperatura de la fase 2. En general, los datos obtenidos de los cascos de la fase 2, fueron más heterogéneos (mayor CV) que los obtenidos en la fase 1.

Tabla 5. Resultados descriptivos de las variables: Tiempo de inmersión, humedad y temperatura del casco en los sujetos de estudio de ambas fases experimentales.

Medio de inmersión	Miembro	Tiempo de inmersión (horas)			Humedad (%)			Temperatura (°C)		
		Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)
<b>Fase 1*</b>										
<b>Grupo 1 (en agua)</b>	Torácico	16 (14-18)	1,8	23,5	25,6 (23.6-26.3)	2,4	9,2	16,1 (9,2-17,9)	4,7	34,5
	Pélvico	16 (12-18)	1,8	23,6	25,6 (23.6-26.8)	2,8	11,0	15,7 (8,9-17,9)	4,7	34,3
<b>Grupo 2 (en hielo)</b>	Torácico	16 (12-18)	2,0	26,0	26,3 (25.1-27.3)	2,8	10,3	9,2 (7,1-16,1)	4,5	42,0
	Pélvico	16 (16-18)	1,8	22,2	26,3 (25.6-27.3)	2,5	9,2	8,9 (7,1-15,2)	4,6	43,9
<b>Fase 2**</b>										
<b>Grupo 1 (en agua)</b>	Torácico	7 (6-10)	1,4	38,1	26,65 (23.6-28.1)	5,8	22,4	28,35 (22,5-29,1)	8,9	37,2
	Pélvico	7 (6-10)	1,6	44,0	25,7 (22.6-27.35)	5,2	21,0	28,4 (22,5-29,1)	8,5	35,1
<b>Grupo 2 (en hielo)</b>	Torácico	7 (6-10)	1,5	39,1	23,2 (22-26.8)	6,2	26,9	24,2 (8,55-29,1)	10,6	53,0
	Pélvico	7 (6-10)	1,6	40,5	24,6 (22-27.7)	6,8	28,6	24,2 (8,5-29,1)	10,8	53,0

\*Estudios de cascos en piezas (n=30 cascos). \*\*Estudios en cascos de equinos vivos (n=32 cascos). IQR: rango inter-cuartil. DE: desviación estándar. CV: coeficiente de variación.

Encontrando imágenes ultrasonográficas de buena calidad en las piezas anatómicas (fase 1) sumergidas durante a 16 horas, donde se alcanzó un 25,6 y 26,3% de humedad y, una temperatura entre 15,7 - 16,1°C y 8,9 - 9,2°C en el grupo 1 y 2 respectivamente. En los cascos de equinos vivos (fase 2), se encontraron imágenes ultrasonográficas de buena calidad posterior a 7 horas de inmersión, alcanzando un 25,7 - 26,7% y 23,2 - 24,6% de humedad, y una temperatura de 28,4 y 24,2°C, en el grupo 1 y 2 respectivamente.

Al evaluar la asociación entre las variables (humedad, temperatura o tiempo de inmersión) y la calidad de la imagen ultrasonográfica, en cada medio de inmersión, y en ambas fases (tablas 6 y 7); se encontró significancia estadística ( $p \leq 0,05$ ), entre el tiempo de inmersión en agua y la calidad de imagen para los cascos de equinos

vivos (tabla 7). Resultado obtenido al sumergir los cascos torácicos y pélvicos durante siete (7) horas (tabla 5). Existe tendencia a la significancia ( $p=0,09$ ) en las mismas variables para los cascos en piezas sumergidos en agua (tabla 6), resultado obtenido al sumergir los cascos torácicos y pélvicos durante dieciséis (16) horas (tabla 5).

Tabla 6. Influencia de las variables humedad, temperatura o tiempo de inmersión en la calidad de la imagen ecográfica. Fase 1 (cascos en piezas).

Asociación	Grupo	Grados de libertad	Prueba estadística $\chi^2$	Valor p*
Calidad eco vs Humedad casco	1	11	11,55	0,40
	2	11	15,00	0,18
Calidad eco vs Temperatura casco	1	10	14,00	0,17
	2	11	10,83	0,46
Calidad eco vs Tiempo de inmersión	1	6	10,91	0,09
	2	5	5,83	0,32

Prueba  $\chi^2$  de Pearson, nivel de significancia:  $p \leq 0,05$  \*. Datos con distribución no normal. Grupo 1: Inmersión en agua. Grupo 2: Inmersión en agua con hielo.

Tabla 7. Influencia de las variables humedad, temperatura o tiempo de inmersión en la calidad de la imagen ecográfica. Fase 2 (cascos de equinos vivos).

Asociación	Grupo	Grados de libertad	Prueba estadística $X^2$	Valor p*
Calidad eco vs Humedad casco	1	13	12,99	0,45
	2	15	16,00	0,38
Calidad eco vs Temperatura casco	1	12	10,98	0,53
	2	14	13,67	0,47
Calidad eco vs Tiempo de inmersión	1	5	12,32	<b>0,03</b>
	2	5	3,53	0,62

Prueba  $\chi^2$  de Pearson, nivel de significancia:  $p \leq 0,05$  \*. Los valores p en negrilla son estadísticamente significativos. Datos con distribución no normal. Grupo 1: Inmersión en agua, grupo 2: Inmersión en agua con hielo.

A pesar de que el tiempo de inmersión para obtener imágenes ecográficas de buena calidad en el grupo 2 de la fase 2, fue de siete (7) horas, no reveló correlación ( $p=0,62$ ). Algo similar ocurrió en la fase 1 ( $p=0,32$ ). Adicionalmente, el tiempo de inmersión en los grupos de la fase 2, mostraron datos heterogéneos. Sin embargo, los datos de cada fase con mayor homogeneidad (Tabla 8), la humedad del estuche córneo, no fueron significativamente estadísticos para determinar la correlación de esta variable con la calidad de imagen ultrasonográfica.

Las medidas ultrasonográficas y, las réplicas obtenidas en radiografías digitales y en cortes anatómicos sagitales, se reportaron en las tablas 8 y 9; los valores de B y S fueron obtenidos de 11 miembros torácicos y pélvicos sumergidos en agua (tabla 4). Las medidas radiográficas, se realizaron con piezas congeladas; y los cortes anatómicos fueron realizados con los cascos congelados, posterior al proceso de inmersión para la evaluación ultrasonográfica.

Tabla 8. Medidas obtenidas de 15 cascos de miembros torácicos de equinos a través de la radiografía digital, ultrasonografía y cortes anatómicos, instrumentalizados en la fase 1.

Variables	RD (mm)			US (mm)			AN (mm)		
	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)
<b>Distancia A</b>	14,1 (12,4-15)	1,61	12	10,8 (10,4-12,6)	1,51	13	13,67 (12,52-13,83)	1,57	11
<b>Grosor total (G1)</b>	16,1 (15-16,9)	1,15	7	14,7 (14-15,1)	0,94	7	14,31 (13,04-15,07)	1,40	10
<b>Pared (P1)</b>	-	-	-	6,6 (5,3-7,1)	1,11	17	8,79 (7,52-9,12)	1,13	13
<b>Dermis (D1) <sup>a</sup></b>	7,1 (6,8-7,2)	0,3	4	8,1 * (7,7-8,5)	0,96	12	5,7 (5,41-6,02)	0,37	6
<b>UDE (L1)</b>	-	-	-	5,8 (5,1-6,3)	1,13	19	2,5 (2,07-3,28)	0,68	26
<b>Dermis sublaminar (C1)</b>	-	-	-	2,25 (2-2,5)	0,36	16	3,1 (2,68-3,52)	0,52	17
<b>Grosor total (G2)</b>	14,7 (13,3-15,6)	1,37	9	13,7 (13,2-14,5)	0,88	6	12,83 (12,59-14,27)	1,11	8
<b>Pared (P2)</b>	-	-	-	6,7 (5,8-7,1)	0,84	13	8,52 (7,84-8,91)	0,65	8
<b>Dermis (D2) <sup>a</sup></b>	6,3 (5,9-6,5)	0,57	9	7,4 * (7,1-7,9)	0,69	9	4,8 (4,51-5,38)	0,67	13

<b>UDE (L2)</b>	-	-	-	5 (4,6-5,6)	0,91	17	2,4 (2,01-2,82)	0,58	24
<b>Dermis sublamina (C2) <sup>b</sup></b>	-	-	-	2,2 (1,9-2,5)	0,43	19	2,5 (2,26-2,92)	0,47	19
<b>Grosor total (G3)</b>	14,6 (13,6-15,4)	1,24	8	13,8 (13,4-14,6)	0,84	6	13 (12,52-14,43)	1,32	10
<b>Pared (P3)</b>	-	-	-	6,4 (6-6,7)	0,64	10	8,58 (7,99-9,26)	0,77	9
<b>Dermis (D3) <sup>a</sup></b>	6,2 (5,6-6,4)	0,62	10	7,3 * (7-7,8)	0,6	8	4,62 (4,44-5,28)	0,67	14
<b>UDE (L3)</b>	-	-	-	5 (4,7-6,3)	0,97	18	2,3 (2,1-2,68)	0,53	22
<b>Dermis sublamina (C3) <sup>b</sup></b>	-	-	-	2,1 (1,9-2,6)	0,48	22	2,37 (2,11-2,63)	0,46	19
<b>Distancia B <sup>a</sup></b>	15,2 (14,05-16,1)	1,22	8	13,8 (13,7-14,6)	0,73	5	14,1 (12,64-15,31)	1,58	11
<b>Dermis solear (S) <sup>a</sup></b>	6 (5,65-7,2)	1,31	21	4,9 (4,6-5)	1,32	26	6,17 (6,03-6,75)	0,65	10

#### Proporciones US

	Proximal		Medio		Distal	
	Valor	DE	Valor	DE	Valor	DE
<b>D : A</b>	<b>70%</b>	<b>3</b>	<b>65%</b>	<b>3</b>	<b>66%</b>	<b>3</b>
<b>L : D</b>	71%	2	68%	1	68%	2
<b>C : D</b>	28%	1	31%	1	30%	2
		Valor			DE	
<b>A : B</b>		84%			5	
<b>S : A</b>		44%			2	

Los resultados señalados <sup>a, b</sup> son aquellos encontrados como no significativos desde el punto de vista estadístico ( $p \geq 0,05$ ), como lo muestran las tablas 10 y 11. Las proporciones en negrilla fueron obtenidas de al menos un dato sin significancia estadística (<sup>a, b</sup>).

Radiografía digital (RD). Ultrasonografía (US). Cortes anatómicos (AN). Rango Inter Cuartil (IQR).

Desviación Estándar (DE). Coeficiente de Variación (CV). Ver figuras 17, 20 y 21.

Tabla 9. Medidas obtenidas de 15 cascos de miembros pélvicos de equinos a través de la radiografía digital, ultrasonografía y cortes anatómicos, instrumentalizados en la fase 1.

Variables	RD (mm)			US (mm)			AN (mm)		
	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)
<b>Distancia A</b>	14,7 (14,1-15,7)	1,32	9	10,5 (10,1-11,4)	1,04	10	14,08 (13,36-15,27)	1,63	11
<b>Grosor total (G1)</b>	15,6 (15,2-16,2)	0,74	5	14,15 (13,5-14,7)	1,16	8	14,62 (14,16-15,37)	1,78	12
<b>Pared (P1)</b>	-	-	-	6,6 (6,2-6,7)	0,65	10	8,96 (8,39-10,06)	1,11	12
<b>Dermis (D1) <sup>a, b</sup></b>	6,4 (5,9-6,7)	0,7	11	7,85 * (6,8-8,5)	1,33	18	5,3 (4,62-6,01)	1,77	<b>31</b>
<b>UDE (L1)</b>	-	-	-	5,6 (5,4-6) *	0,76	14	2,4 (2,06-2,56)	0,35	15
<b>Dermis sublamina (C1) <sup>b</sup></b>	-	-	-	2,1 (1,9-2,7)	0,51	23	2,7 (2,46-2,98)	0,38	14

<b>Grosor (G2)</b>	14,3 (13,7-15,1)	0,87	6	13,05 (12,3-14,2)	0,89	7	12,38 (12,1-13,3)	0,88	7
<b>Pared (P2)</b>	-	-	-	6,4 (5,9-6,9)	0,57	9	8,26 (8,15-8,68)	0,41	5
<b>Dermis (D2)<sup>a</sup></b>	5,5 (5,1-6,2)	0,62	11	6,85 * (6,3-7,3)	0,73	11	4,16 (3,96-4,72)	0,75	17
<b>UDE (L2)</b>	-	-	-	4,7 * (4,1-5,1)	1,21	27	1,8 (1,65-2,12)	0,34	18
<b>Dermis sublamina (C2)<sup>b</sup></b>	-	-	-	2,2 (1,8-2,3)	0,3	14	2,19 (2,1-2,75)	0,48	20
<b>Grosor total (G3)</b>	14,9 (14,5-15,8)	0,8	5	13,8 (13,4-14,3)	0,91	7	12,79 (12,43-12,98)	0,68	5
<b>Pared (P3)</b>	-	-	-	6,65 (6-7)	0,72	11	8,3 (8,1-8,59)	0,42	5
<b>Dermis (D3)<sup>a</sup></b>	6 (5,3-6,5)	0,9	15	7,3 * (7,1-7,7)	0,58	8	4,57 (4,07-4,68)	0,59	13
<b>UDE (L3)</b>	-	-	-	5 (4,7-5,5) *	1,23	26	1,96 (1,81-2,41)	0,48	23
<b>Dermis sublamina (C3)<sup>b</sup></b>	-	-	-	2,15 (1,9-2,4)	0,94	<b>40</b>	2,31 (1,95-2,5)	0,38	17
<b>Distancia B</b>	16,55 (15,3-17,1)	1,36	8	14,5 (14-14,6)	0,81	6	14,56 (12,82-15,7)	1,41	10
<b>Dermis solear (S)<sup>a</sup></b>	6,95 (5,5-7,4)	1	15	3,6 (3,3-4,3)	0,87	22	5,89 (5,1-6,25)	0,88	16

#### Proporciones US

	Proximal		Medio		Distal	
	Valor	DE	Valor	DE	Valor	DE
<b>D : A</b>	<b>71%</b>	<b>4</b>	<b>63%</b>	<b>3</b>	<b>68%</b>	<b>2</b>
<b>L : D</b>	74%	2	69%	2	69%	1
<b>C : D</b>	29%	2	31%	1	29%	1
	Valor			DE		
<b>A : B</b>	74%			2		
<b>S : A</b>	36%			3		

Los resultados señalados <sup>a, b</sup> son aquellos encontrados como no significativos desde el punto de vista estadístico ( $p \geq 0,05$ ), como lo muestran las tablas 10 y 11. Las proporciones en negrilla fueron obtenidas de al menos un dato sin significancia estadística (<sup>a, b</sup>).

Radiografía digital (RD). Ultrasonografía (US). Cortes anatómicos (AN). Rango Inter Cuartil (IQR).

Desviación Estándar (DE). Coeficiente de Variación (CV). Ver figuras 17,20 y 21.

Para validar la técnica ultrasonográfica transmural, con la prueba de Friedman, se compararon las medidas obtenidas por los tres métodos (tabla 10); y con la prueba de Wilcoxon se compraron aquellas que sólo se obtuvieron en ultrasonografía y cortes anatómicos, al igual que las medidas inéditas (tabla 11). La significancia estadística en ambas pruebas fue de  $p \leq 0,05$ ; indicando que las medidas son diferentes. Sin embargo, el estudio buscó coincidencias entre los métodos, es decir no estadísticamente significativas ( $p \geq 0,05$ ), conforme se resalta en las tablas 10 y 11.

Tabla 10. Comparación de medidas radiográficas, ultrasonográficas y de cortes anatómicos de los cascos, realizadas en la fase 1.

Variable	Miembro	Valor Q	Valor p*
<b>Distancia A</b>	Torácico	16,67	0,02
	Pélvico	16,19	0,02
<b>Dermis (D1)</b>	Torácico	9,97	<b>0,19</b>
	Pélvico	7,03	<b>0,43</b>
<b>Dermis (D2)</b>	Torácico	11,78	<b>0,11</b>
	Pélvico	11,73	<b>0,12</b>
<b>Dermis (D3)</b>	Torácico	11,57	<b>0,07</b>
	Pélvico	5,78	<b>0,57</b>
<b>Distancia B</b>	Torácico	13,25	<b>0,07</b>
	Pélvico	20,91	0,02
<b>Dermis solear (S)</b>	Torácico	11,47	<b>0,12</b>
	Pélvico	16,68	<b>0,08</b>

Los valores en negrilla son similares ( $p \geq 0,05$ ) en la prueba de Friedman. Ver tablas 8 y 9

Las distancias D y S reportaron la mayoría de las coincidencias (sin significancia estadística) en la prueba de Friedman (tabla 10); es decir, coinciden en al menos dos de los métodos analizados. Los valores son demostrados en los gráficos 1 y 2.

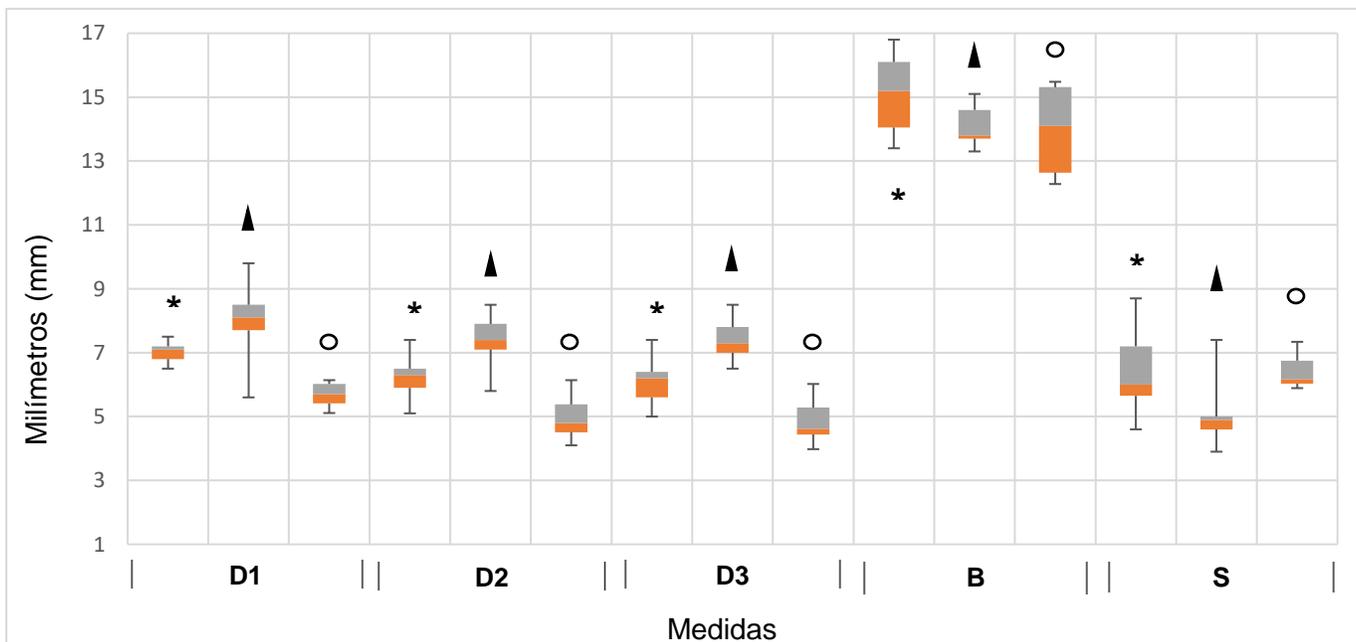


Gráfico 1. Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos, según la prueba de Friedman.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 8), los bigotes los valores máximos y mínimos. Medidas \* radiográficas, ▲ ultrasonográficas, ○ cortes anatómicos.

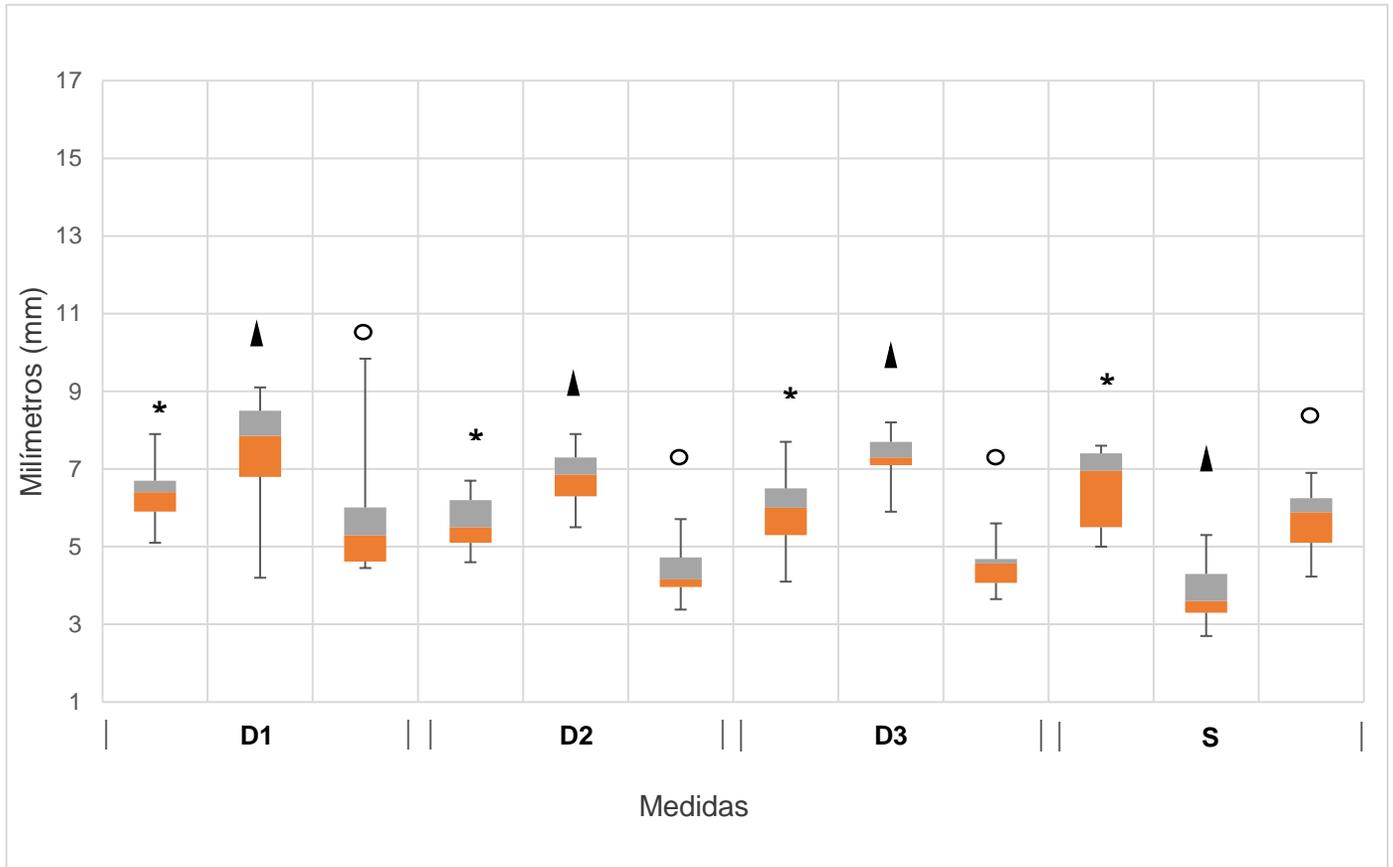


Gráfico 2. Medidas estadísticamente similares en miembros pélvicos, según la prueba de Friedman.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 9), los bigotes los valores máximos y mínimos.

Medidas \* radiográficas, ▲ ultrasonográficas, ○ cortes anatómicos.

Tabla 11. Comparación de medidas ultrasonográficas y de cortes anatómicos realizados a los cascos utilizados en la fase 1.

Variable	Miembro	Valor z	Valor p*
<b>UDE (L1)</b>	Torácico	2,52	0,01
	Pélvico	2,52	0,01
<b>UDE (L2)</b>	Torácico	2,52	0,01
	Pélvico	2,52	0,01
<b>UDE (L3)</b>	Torácico	2,52	0,01
	Pélvico	2,52	0,01
<b>Dermis sublaminar (C1)</b>	Torácico	-2,52	0,01
	Pélvico	-1,40	<b>0,16</b>
<b>Dermis sublaminar (C2)</b>	Torácico	-1,12	<b>0,26</b>
	Pélvico	-0,98	<b>0,33</b>
<b>Dermis sublaminar (C3)</b>	Torácico	-0,42	<b>0,67</b>
	Pélvico	-0,56	<b>0,58</b>
<b>Dermis (D1)</b>	Torácico	2,52	0,01
	Pélvico	1,26	<b>0,25</b>
<b>Dermis (D2)</b>	Torácico	2,52	0,01
	Pélvico	2,52	0,01
<b>Dermis (D3)</b>	Torácico	2,37	0,02
	Pélvico	2,52	0,01

Los valores en negrilla son similares ( $p \geq 0,05$ ) en la prueba de Wilcoxon. Ver tablas 8 y 9.

La distancia C, reporta la mayoría de las coincidencias (sin significancia estadística) en la prueba de Wilcoxon (tabla 11); es decir coinciden en ambos métodos. Los valores se demuestran en los gráficos 3 y 4.

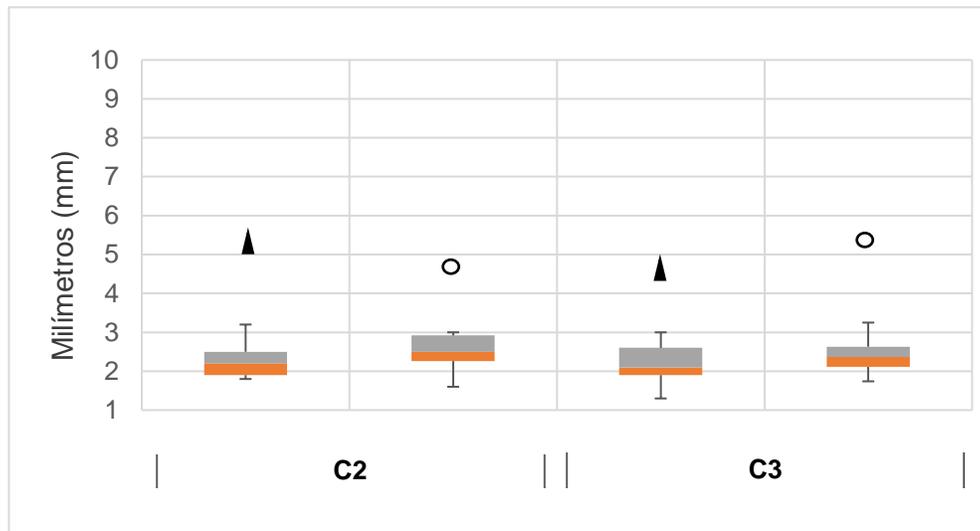


Gráfico 3. Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos, según la prueba de Wilcoxon.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 8), los bigotes los valores máximos y mínimos. Los valores de medidas ▲ ultrasonográficas y ○ cortes anatómicos.

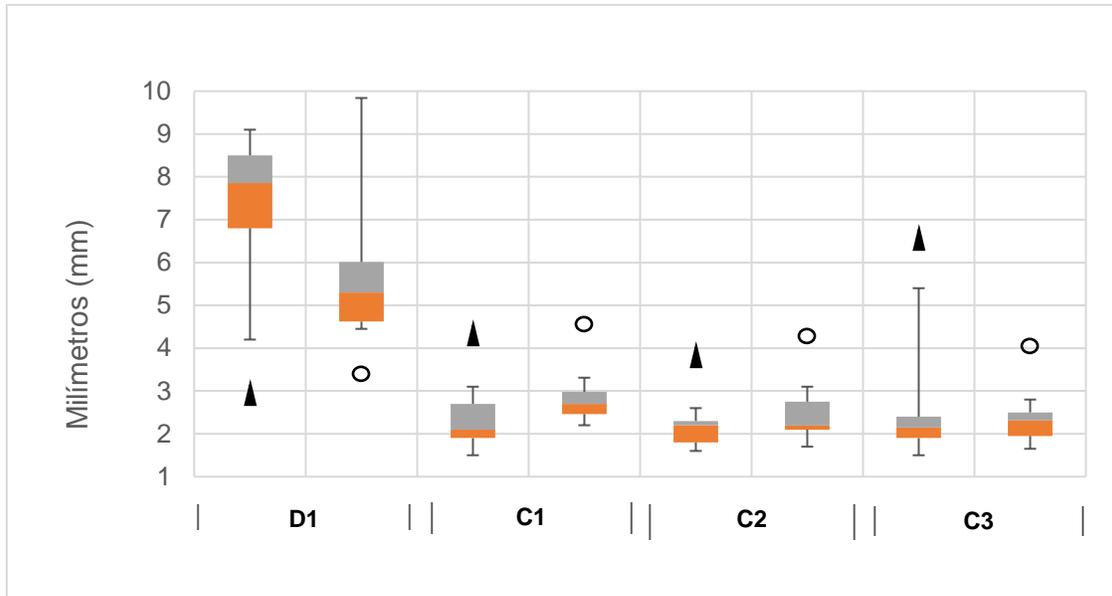


Gráfico 4. Medidas estadísticamente similares en miembros pélvicos, según la prueba de Wilcoxon.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 9), los bigotes los valores máximos y mínimos. Los valores de medidas ▲ ultrasonográficas y ○ cortes anatómicos.

En equinos vivos, las réplicas radiográficas de las medidas ultrasonográficas se reportaron en las tablas 12 y 13; los valores de las distancias B y S, se obtienen de 19 miembros torácicos y pélvicos, 8 del grupo 1 y 11 del grupo 2 (tabla 4). Las medidas, fueron obtenidas con los cuatro (4) miembros en apoyo.

Tabla 12. Medidas obtenidas de 16 cascos de miembros torácicos de equinos, a través de la radiografía digital y ultrasonografía, evaluados en la fase 2.

Variables	RD (mm)			US (mm)		
	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)
<b>Distancia A</b>	13,3 (12,8-14,75)	2,18	16	10,3 (9,85-11,3)	1,24	12
<b>Grosor total (G1)</b>	14,6 (13,6-15,7)	1,63	11	14,7 (14,2-15,15)	0,57	4
<b>Pared (P1)</b>	-	-	-	6,95 (6,55-7,25)	0,55	8
<b>Dermis (D1)</b>	6,3 (5,45-6,9)	1,04	17	7,8 (7,45-8,1)	0,58	7
<b>UDE (L1)</b>	-	-	-	5,05 (4,55-5,25) *	0,56	11
<b>Dermis sublamina (C1)</b>	-	-	-	2,6 (2,5-2,8) *	0,25	9
<b>Grosor total (G2)</b>	14,5 (13,75-15,1)	1,23	9	14,1 (13,85-14,55)	0,63	4
<b>Pared (P2)</b>	-	-	-	6,75 (6,55-7,05)	0,5	7
<b>Dermis (D2)</b>	6,2 (6,05-6,8)	0,83	13	7,55 (7,05-7,95)	0,61	8
<b>UDE (L2)</b>	-	-	-	4,95 (4,45-5,15) *	0,43	9
<b>Dermis sublamina (C2)</b>	-	-	-	2,55 (2,5-2,75) *	0,21	8
<b>Grosor total (G3)</b>	14,1 (13,65-14,6)	1	7	14,05 (13,5-14,4)	0,69	5
<b>Pared (P3)</b>	-	-	-	6,55 (6,3-6,75)	0,8	12
<b>Dermis (D3)</b>	6,7 (5,6-7,05)	0,87	13	7,35 (7,2-7,8)	0,58	8
<b>UDE (L3)</b>	-	-	-	5,15 (4,7-5,3) *	0,5	10
<b>Dermis sublamina (C3)</b>	-	-	-	2,5 (2,3-2,6) *	0,23	9
<b>Distancia B<sup>a</sup></b>	14,4 (13,6-14,9)	1,06	7	14,65 (13,6-15)	0,72	5
<b>Dermis solear (S)</b>	7,7 (6,55-8,6)	1,58	21	3,3 (2,7-3,6)	0,46	14
<b>Proporciones US</b>						
	Proximal		Medio		Distal	
	Valor	DE	Valor	DE	Valor	DE
<b>D : A</b>	73%	3	70%	3	70%	3
<b>L : D</b>	65%	1	65%	0,5	67%	1
<b>C : D</b>	34%	1	34%	0,5	33%	1
	Valor			DE		
<b>A : B</b>	<b>70%</b>			<b>2</b>		
<b>S : A</b>	32%			2		

Los resultados sin significancia estadística ( $p \geq 0,05$ ) son señalados con la letra <sup>a</sup>, (tabla 14). Las proporciones resaltadas se obtienen de al menos un dato sin significancia estadística.

Radiografía digital (RD). Ultrasonografía (US). Mediana (ME). Rango Inter cuartil (IQR). Desviación estándar (SD). Coeficiente de variación (CV). Ver figuras 17 y 20.

Tabla 13. Medidas obtenidas de 16 cascos de miembros pélvicos de equinos, a través de la radiografía digital y ultrasonografía, evaluados en la fase 2.

Variables	RD (mm)			US (mm)		
	Mediana (IQR)	DE	CV (%)	Mediana (IQR)	DE	CV (%)
<b>Distancia A</b>	13,3 (12,4-15,6)	1,91	14	10,75 (9,7-11,95)	1,31	12
<b>Grosor total (G1)</b>	14,35 (13,05-15,8)	2,6	18	14,25 (13,65-14,75)	0,76	5
<b>Pared (P1)</b>	-	-	-	6,55 (5,8-6,9)	0,96	15
<b>Dermis (D1)</b>	5,75 (5-6,9)	1,28	22	7,95 (7,05-8,7)	1,21	15
<b>UDE (L1)</b>	-	-	-	5,4 (4,5-5,9)	1,1	20
<b>Dermis sublaminar (C1)</b>	-	-	-	2,5 (2,4-2,7)	0,26	10
<b>Grosor total (G2)</b>	14,05 (12,85-15,15)	1,85	13	13,45 (13,1-14,1)	0,61	4
<b>Pared (P2)</b>	-	-	-	6,1 (5,1-6,95)	1,1	18
<b>Dermis (D2)</b>	5,3 (4,55-6,65)	1,1	20	7,2 (6,6-8,25)	1,14	15
<b>UDE (L2)</b>	-	-	-	4,8 (4,4-5,75)	0,86	17
<b>Dermis sublaminar (C2)</b>	-	-	-	2,35 (2,1-2,65)	0,32	14
<b>Grosor total (G3)</b>	13,85 (12,75-15)	1,54	11	13,5 (13,05-14,05)	0,64	5
<b>Pared (P3)</b>	-	-	-	6,2 (5,3-6,8)	0,89	15
<b>Dermis (D3)</b>	5,15 (4,5-6,35)	1,2	22	7,25 (6,6-7,85)	1,1	14
<b>UDE (L3)</b>	-	-	-	4,9 (4,25-5,4)	0,88	18
<b>Dermis sublaminar (C3)</b>	-	-	-	2,3 (2,15-2,45)	0,36	15
<b>Distancia B <sup>a</sup></b>	14,1 (13,3-15,3)	2,31	17	13,2 (12,8-13,6)	0,72	5
<b>Dermis solear (S)</b>	6,35 (5,5-7,7)	1,47	23	3,4 (2,3-3,5)	1,48	<b>45</b>
<b>Proporciones US</b>						
	Proximal		Medio		Distal	
	Valor	SD	Valor	SD	Valor	SD
<b>D : A</b>	73%	4	69%	4	69%	4
<b>L : D</b>	67%	1	68%	1	67%	1
<b>C : D</b>	32%	1	31%	1	32%	1
	Valor				DE	
<b>A : B</b>	<b>83%</b>				<b>3</b>	
<b>S : A</b>	30%				7	

Los resultados sin significancia estadística ( $p \geq 0,05$ ) son señalados con <sup>a</sup> (tabla 14). Las proporciones resaltadas se obtienen de al menos un dato sin significancia estadística.

Radiografía digital (RD). Ultrasonografía (US). Mediana (ME). Rango Inter cuartil (IQR). Desviación estándar (SD). Coeficiente de variación (CV). Ver figuras 17 y 20.

Para validar la técnica, en esta fase se compararon las medidas por medio de la prueba de Wilcoxon. Nuevamente, el estudio buscó coincidencias entre los métodos, es decir no estadísticamente significativas ( $p \geq 0,05$ ), conforme se resalta en la tabla 14.

Tabla 14. Comparación de medidas radiográficas y ultrasonográficas realizadas a los cascos de equinos, utilizados en la fase 2.

Variable	Miembro	Valor z	Valor p*
<b>Distancia A</b>	Torácico	3,46	0,001
	Pélvico	3,41	0,001
<b>Dermis (D1)</b>	Torácico	-3,39	0,001
	Pélvico	-3,52	0,0004
<b>Dermis (D2)</b>	Torácico	-3,41	0,001
	Pélvico	-3,36	0,001
<b>Dermis (D3)</b>	Torácico	-2,36	0,019
	Pélvico	-2,90	0,004
<b>Distancia B</b>	Torácico	0,12	<b>0,906</b>
	Pélvico	0,31	<b>0,755</b>
<b>Dermis solear (S)</b>	Torácico	2,55	0,011
	Pélvico	2,85	0,004

Los valores en negrilla son similares ( $p \geq 0,05$ ) en la prueba de Wilcoxon. Ver tablas 12 y 13.

Solo se analizaron, al igual que en la fase 1, las medidas D, A, B y S. La coincidencia (sin significancia estadística) por la prueba de Wilcoxon (tabla 14) es casi nula, encontrándose sólo en la medida inédita B. Los valores son demostrados en el gráfico 5.

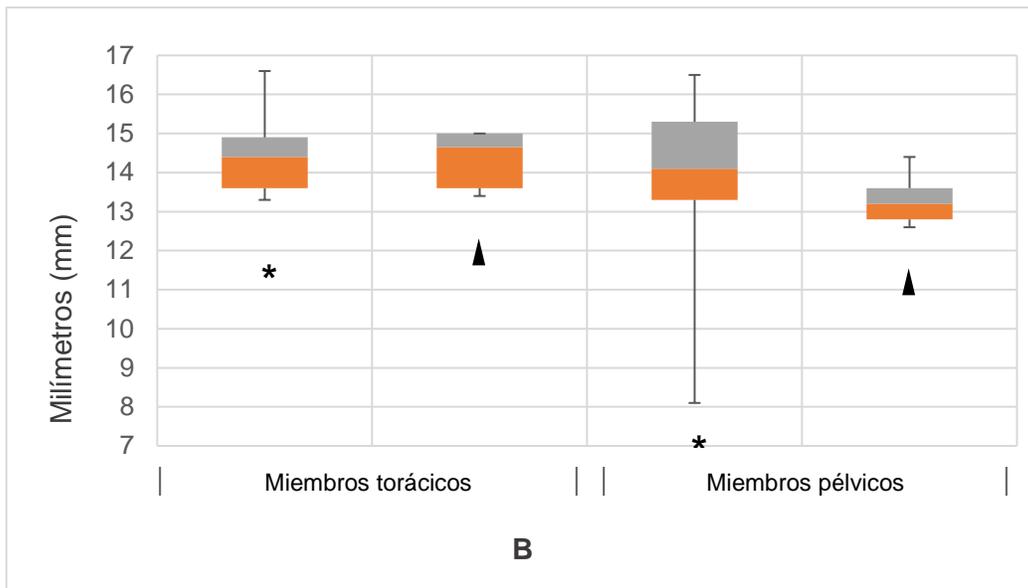


Gráfico 5. Medidas estadísticamente similares en miembros torácicos y pélvicos, según la prueba de Wilcoxon.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tablas 12 y 13), los bigotes los valores máximos y mínimos. Los valores de medidas \* radiográficas y ▲ ultrasonográficas.

En los equinos vivos, las medidas en el nivel distal son menores en comparación a las reportadas en proximal, este patrón se conserva en la mayoría de los valores asociados a la dermis y las capas que la componen. En piezas anatómicas, el grosor aproximado de la UDE (L:D) y la dermis sublaminaar (C:D) es del 68 - 70 y 28 - 30% de la dermis parietal, respectivamente, y en equinos vivos es del 65-67 y 32-34%, respectivamente. La distancia rodete coronario-proceso extensor representa el 74 - 84 y el 70 - 83% de la distancia ápice-pared (A:B) en piezas anatómicas y equinos vivos, respectivamente. La dermis solear representa el 36 - 44 y el 30 - 32% de la distancia rodete coronario-proceso extensor (S:A) en piezas anatómicas y equinos vivos, respectivamente. Con respecto a D:A, la dermis parietal corresponde, aproximadamente, entre el 66-71 y el 69-73% de la

distancia rodete coronario-proceso extensor en piezas anatómicas y equinos vivos, respectivamente.

Posterior a la evaluación ultrasonográfica (en ambas fases), se buscó evaluar la relación morfológica entre la dermis y la falange distal. Las capas D, L y C (tabla 8, 9, 12 y 13) fueron evaluadas en los tres niveles mediante la prueba de Friedman (tabla 15 y 16); se buscó coincidencia estadística ( $p \geq 0,05$ ), es decir son paralelas a la superficie parietal.

Tabla 15. Comparación de medidas ultrasonográficas evaluadas en los tres niveles de la superficie parietal de la tercera falange, en la fase 1.

Capa	Miembro	Valor Q	Valor p*
UDE (L)	Torácico	32,95	0,003
	Pélvico	17,07	<b>0,20</b>
Dermis sublamina (C)	Torácico	26,13	0,02
	Pélvico	27,62	0,01
Dermis (D)	Torácico	10,57	<b>0,59</b>
	Pélvico	13,2	<b>0,35</b>

Los valores en negrilla son similares ( $p \geq 0,05$ ) en la prueba de Friedman. Ver tablas 8 y 9.

En la fase 1, las distancias D en miembros torácicos y pélvicos, y L en los pélvicos, reportaron coincidencia (sin significancia estadística) en la prueba de Friedman (tabla 15); es decir, al menos dos de los niveles analizados, son paralelos. Los valores se demuestran en el gráfico 6.

Tabla 16. Comparación de medidas ultrasonográficas evaluadas en los tres niveles de la superficie parietal de la tercera falange, en la fase 2.

Capa	Miembro	Valor Q	Valor p $\leq 0,05$
UDE (L)	Torácico	29,35	<b>0,126</b>
	Pélvico	27,4	0,004
Dermis sublamina (C)	Torácico	19,64	<b>0,105</b>
	Pélvico	23,65	0,014
Dermis (D)	Torácico	22,38	<b>0,05</b>
	Pélvico	29,69	0,002

Los valores en negrilla son similares ( $p \geq 0,05$ ) en la prueba de Friedman. Ver tablas 12 y 13.

Por otro lado, las distancias L y C en miembros torácicos, reportaron coincidencia en la prueba de Friedman, con una tendencia similar en la dermis de dichos cascós. Los valores se demuestran en el gráfico 7. Sugiriendo que, en miembros torácicos con carga de peso, las medidas de las tres distancias son paralelas a la superficie parietal de la falange distal.

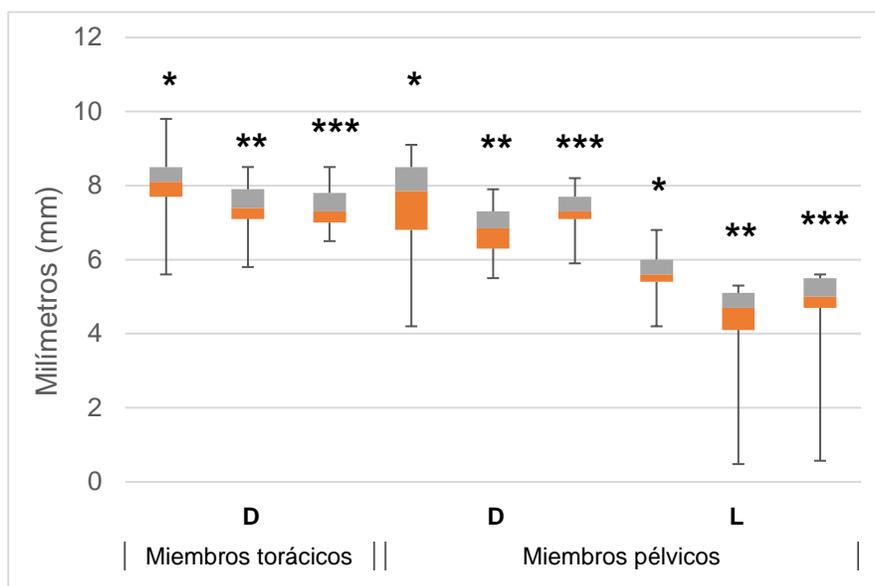


Gráfico 6. Medidas ultrasonográficas estadísticamente similares en los tres niveles, según la prueba de Friedman.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 18), los bigotes los valores máximos y mínimos. Los valores del nivel proximal \*, medio \*\* y distal \*\*\*.

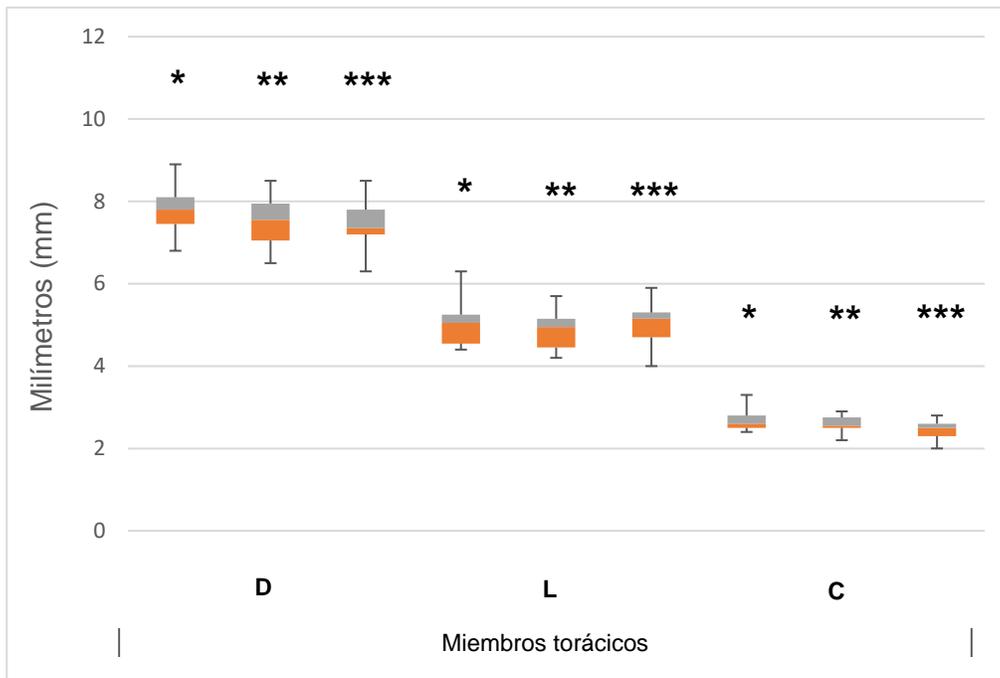


Gráfico 7. Medidas ultrasonográficas estadísticamente similares en los tres niveles, según la prueba de Friedman.

Las cajas demuestran la mediana y el IQR (tabla 19), los bigotes los valores máximos y mínimos. Los valores del nivel proximal \*, medio \*\* y distal \*\*\*.

## 7. Discusión

Los procedimientos realizados en este trabajo evidenciaron la utilidad de la ultrasonografía para evaluar las estructuras al interior del casco, caracterizar la apariencia y medida de los estratos que componen la superficie sagital del casco en miembros torácicos y pélvicos normales. Estudios previos han descrito diferentes abordajes del casco por medio del ultrasonido, evaluando la superficie dorsal de la articulación interfalángica distal (Sage & Turner, 2010; Dupays, *et al.*, 2012) y sus ligamentos colaterales (Sage & Turner, 2010; Denoix, *et al.*, 2011; Evrard, *et al.*, 2012); tejidos blandos y superficies óseas al interior del casco con los abordajes a través de los bulbos

de los talones (Hauser, *et al.*, 1982; Kristoffersen & Thoefner, 2010; Sage & Turner, 2010; Gallastegui, 2021), trans-cuneal y trans-solear (Busoni & Denoix, 2001; Olivier-Carstens, 2004; Kristoffersen & Thoefner, 2010; Sage & Turner, 2010; Gunkelman & Hammer, 2017; Gallastegui, 2021). Sin embargo, no existe evidencia de la evaluación sagital a través del tejido corneo de la muralla (estrato medio de la epidermis), y aún no está reportado en literatura actual (Gallastegui, 2021).

Dentro las estructuras internas del casco visualizadas, se destaca la región laminar (nominada UDE), una vez que su caracterización normal, permitirá interpretar cambios o alteraciones en patologías como la laminitis en fase prodrómica o de desarrollo (Hood, 1999; Coleman, 2015), que son poco evidenciadas con ayudas diagnósticas de rutina (Dyson, *et al.*, 2003; Arble, *et al.*, 2009). Por esta condición, se podría plantear la ultrasonografía a través de la muralla, como un potencial biomarcador físico (Aronson & Ferner, 2017) para esta condición médica. Sin embargo, se requiere su aplicación en casos naturales o experimentales de laminitis para su validación.

La muestra de las piezas anatómicas fue escogida según el número de piezas reportado en los estudios de Murray, *et al.*, (2003), Arble, *et al.* (2009) y Denoix, *et al.*, (1993); la de los equinos vivos fue escogida a conveniencia, según lo reportado por García-García, *et al.*, (2013) para un estudio piloto. La razón de haber incluido miembros torácicos y pélvicos, es la respuesta invariable ante eventos inflamatorios sistémicos (Leise, *et al.*, 2012), a pesar de la diferencia en la distribución de peso entre estos (Van Eps & Burns, 2019). Este patrón de inclusión también fue reportado en un estudio radiográfico previo (Cripps & Eustace, 1999a).

El presente estudio, evidenció mejoras en la ventana ultrasonográfica transmural al sumergir el casco. Hidratar el casco, ha sido implementado para la ejecución de estudios

ultrasonográficos trans-solear y trans-cuneal (Busoni & Denoix, 2001; Olivier-Carstens, 2004; Kristoffersen & Thoenner, 2010; Sage & Turner, 2010; Carstens & Smith, 2014; Gunkelman & Hammer, 2017); una vez que la hidratación altera las cadenas de polímeros de la matriz de queratina, ocasionando mayor libertad y menor rigidez (Bertram & Gosline, 1987), permitiendo mayor accesibilidad de las ondas de ultrasonido, por tanto, mejorando la calidad de imagen y la obtención de la totalidad de las medidas reportadas.

El uso del agua con hielo como medio de conducción, se fundamentó en las ventajas preventivas y terapéuticas de la crioterapia en condiciones clínicas que comprometen la UDE en fases tempranas y agudas de la laminitis (van Eps & Pollitt, 2004; Divers, 2010; Kullmann, *et al.*, 2014; Van Eps & Orsini, 2016; Parks, *et al.*, 2017; Luethy, 2021). Al igual que el estudio de Pollitt & Van Eps (2010), donde realizaron crioterapias por 48 horas continuas, no se presentó alteraciones en las constantes fisiológicas ni en el patrón de consumo de los sujetos analizados. Las complicaciones de la crioterapia digital aumentan a la par del tiempo de inmersión, siendo mayores posterior a 72 horas de inmersión (Luethy, 2021), y según el método utilizado (Proctor-Brown, *et al.*, 2018). Indicando que el procedimiento es seguro y, por ende, ampliamente usado en la rutina clínica. En este sentido, la evaluación ultrasonográfica transmural ofrece ventajas en pacientes con cuadros clínicos que comprometan las estructuras internas como la UDE.

## **7.1 Discusión de resultados cualitativos**

La técnica ultrasonográfica transmural evidenció las papilas de la corona (figuras 22), estructuras que fueron observadas por Keller, *et al.*, (2006) utilizando RM de alta resolución (magneto 4,6T y 7,1T), por Claerhoudt, *et al.*, (2014) utilizando tomografía computarizada (TC), y por Parks & Belknap (2017) a través de radiografía digital con ajuste de contraste, donde el rodete coronario puede ser localizado siguiendo el tejido radio denso queratinizado hasta la unión con la piel o con el periople. Las papilas son

estrechas e inclinadas paralelamente a la superficie parietal de la falange distal (Keller *et al.*, 2006), lo que determina el formato de desarrollo del estrato medio del casco. El cambio de inclinación, observado en la figura 22-b, fue producto de la dificultad en mantener el contacto por la forma del rodete coronario, también descrito por Evrard, *et al.*, (2012) en la evaluación ultrasonográfica de los ligamentos colaterales de la articulación interfalángica distal. La configuración de estas estructuras se compromete en casos de hundimiento o “sinking” de la falange distal, generando cambios en la dirección de crecimiento de los túbulos en la corona del casco (Pollitt, 1998). Por tanto, la observación de estos cambios, con métodos diagnósticos no invasivos como la RM y la ultrasonografía transmural, aportarían información valiosa en casos de laminitis crónica.

Una vez localizado el transductor sobre la superficie de la muralla, solo fue posible observar el estrato externo de la epidermis, o periople, adyacente al rodete coronario (figura 22-a y b), debido al desgaste y su notoria disminución a medida que desciende hacia la parte distal del casco (Bertram & Gosline, 1987; Budras, *et al.*, 2012; Parks, 2017). En el caso del estrato medio, denominado pared del casco (P) se mostró con apariencia heterogénea (figuras 22 y 23), ya que los túbulos de la pared del casco se ordenan por zonas según la densidad de túbulos (Reilly, *et al.*, 1996; Pollitt, 2004). Es decir, la capa externa es la más rígida (alta densidad de túbulos) y la capa interna es la más flexible (baja densidad de túbulos) (Kasapi & Gosline, 1997). Además, el gradiente en densidad tubular refleja el gradiente en contenido de agua a través de la pared del casco, donde la capa menos hidratada es la más externa y la más hidratada es la interna (Bertram & Gosline, 1987). Todo lo anterior explica las zonas de mayor ecogenicidad y anecogenicidad, entre la capa más externa y la más interna del estrato medio de la epidermis (figura 23). Los túbulos del estrato medio también han sido descritos con RM y TC, pero sin diferenciación de sus capas (Keller *et al.*, 2006; Claerhoudt *et al.*, 2014).

El corion o dermis parietal se compone por las láminas dérmicas primarias y secundarias, y por la dermis vascular sublaminaar (Gerard, 2021). La última está conformada por una

matriz densa de tejido conectivo que contiene arterias, venas, nervios sensitivos y vasomotores (Pollitt, 2004; Budras, *et al.*, 2012), que se interceptan con la membrana basal de la UDE a los forámenes de la superficie parietal de la falange distal; suspendiéndola dentro de la pared del casco (Pollitt, 2010; Parks, 2017). La apariencia ultrasonográfica de la falange distal no refleja la hiperecogenicidad característica (figuras 22 y 23), una vez que es desprovista de periostio y en reemplazo posee una placa de fibrocartílago modificado parcialmente calcificado (Budras, *et al.*, 2012).

A través de la ventana transmural y posterior al proceso de inmersión, fue posible observar la transición entre la UDE (L) y la dermis vascular sublaminaar (C), tras diferenciar la pared de los vasos sanguíneos sublaminaares (figuras 22 y 23). El espacio L, contiene las láminas dérmicas primarias y secundarias que se entrelazan con sus homólogas ubicadas en la epidermis (Pollitt, 2004; Pollitt, 2010; Parks, 2017). Sin embargo, fue imposible diferenciar las láminas dérmicas y epidérmicas, a pesar de la composición córnea de las segundas, y la composición vascular de las primeras (Molyneux, *et al.*, 1994; Pollitt, 2010); generando una apariencia anecogénica. Adicionalmente, se necesitan estudios histológicos para visualizarlas (Black, *et al.*, 2006; Asplin, *et al.*, 2007; Hanly, *et al.*, 2009; Faleiros, *et al.*, 2011; Laskoski, *et al.*, 2016; Leise, *et al.*, 2011; Ribeiro, *et al.*, 2017), y los vasos sanguíneos contenidos en las láminas dérmicas son pequeños, en el orden de los micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) (Pollitt & Molyneux, 1990), siendo imposible visualizarlos en ultrasonografía.

La evaluación ultrasonográfica del espacio C, reportó evidencia de los vasos de mayor calibre (figura 22 y 23), similar a lo reportado con RM, TC y venografía digital (Pollitt, 2004; Keller, *et al.*, 2006; Arble, *et al.*, 2009; Rucker, 2<sup>a</sup>10a; Rucker, 2010b; Parks & Belknap, 2011; Eastman, *et al.*, 2012; Coleman, 2015). Dándole una apariencia ultrasonográfica heterogénea. Sin embargo, con el transductor lineal para tendones y el

uso de ultrasonografía Doppler, no fue posible observar el flujo sanguíneo. Es posible que las ondas de ultrasonido incidieran a un ángulo de  $90^\circ$  (ángulo Doppler) sobre la superficie parietal, en ultrasonografía Doppler la velocidad sanguínea (objeto en movimiento) es igual a la velocidad actual de la sangre multiplicada por el coseno (cos) del ángulo Doppler, siendo el cos de  $90^\circ = \text{cero (0)}$ , por tanto, no se detecta el flujo (Bushberg, *et al.*, 2012a). Posiblemente con el uso de la almohadilla de gel (standoff pad) la inclinación del transductor y el ángulo Doppler hubiesen variado, permitiendo detectar el flujo sanguíneo, o el uso del transductor matriz de fase (phased-array), específico para la técnica Doppler (Bushberg, *et al.*, 2012b), los vasos sanguíneos posiblemente se hubieran visualizado.

En cuanto a las papilas soleares, desde el punto de vista anatómico, su inclinación sigue el patrón de crecimiento de la suela (epidermis solear) del casco y, al igual que en las papilas de la corona, los túbulos córneos están unidos a las papilas (Gerard, 2021); lo cual explica la apariencia anecogénica interrumpida (figura 23-b); hallazgos no descritos en otros métodos de imagen diagnóstica. La limitante al apreciar la arteria circunfleja o vénula, pudo generarse por el artefacto de refracción, en ultrasonido, los artefactos surgen por exposición incorrecta de la anatomía o ruido durante la imagen, y la anatomía puede ser no alcanzada o dislocarse de la posición original (Bushberg, *et al.*, 2012c).

La RM es superior a la radiografía digital en la determinación de los tejidos blandos de la pared del casco, pues diferencia la UDE y la dermis vascular sublaminaar (Keller, *et al.*, 2006; Arble, *et al.*, 2009; Gallastegui, 2021), al igual que la ultrasonografía transmural utilizada en este estudio. Teniendo en cuenta que las proyecciones radiográficas de piezas anatómicas y de los equinos, solo detallan la capa radiográfica profunda, nominándola dermis (Goulet, *et al.*, 2015; Grundmann, *et al.*, 2015; Andrew, 2017a), sin diferenciar la UDE y la dermis sublaminaar. Sin embargo, la radiografía digital fue utilizada

para evaluar la normalidad espacial entre la tercera falange y el casco, determinar la configuración y, la anatomía normal de la falange distal y de los tejidos asociados (Cripps & Eustace, 1999a; Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015; Cardona, *et al.*, 2021), dando cumplimiento a los criterios de inclusión de las unidades experimentales del estudio.

La ejecución y hallazgos de la técnica ultrasonográfica transmural son inéditos y, superiores a la evaluación radiográfica digital en cuanto a la caracterización de las papilas de la corona, papilas soleares y estratos del casco, a su vez, fue equiparable a lo reportado por Arble, *et al.*, (2009) y Keller, *et al.*, (2006) con RM. La comparación entre RM y ultrasonografía, ha sido mencionada por Evrard, *et al.*, (2021) y Maleas, *et al.*, (2020), en los hallazgos obtenidos tras evaluar lesiones en el tendón flexor digital profundo (TFDP), encontrando mayor sensibilidad en el ultrasonido de lesiones en el receso proximal de la bursa del navicular, y la misma exactitud (RM Vs ultrasonografía) al detectar adherencias del TFDP al interior del casco. Buscando aumentar la fiabilidad de la técnica transmural, se recomienda en estudios futuros, contrastar los hallazgos normales con otras ayudas como la resonancia magnética y, en casos naturales o experimentales de laminitis en fase prodrómica y aguda.

## **7.2 Discusión de los resultados cuantitativos**

La calidad de las imágenes ultrasonográficas fue variable entre las fases del estudio. En el caso de las piezas anatómicas, se obtuvieron imágenes de buena calidad en el 46,7%, posiblemente el estado de congelación de los cascos influyó en el ingreso del ultrasonido, al aumentar la densidad de los tejidos; siendo más crítico en agua con hielo, donde la tasa de descongelamiento y la calidad en las imágenes fue menor para los miembros torácicos y pélvicos (tabla 4); pero el estudio no permitió una asociación clara. Por otro lado, la estratificación por capas del casco, determina diferencias en la capacidad de

absorber humedad (Bertram & Gosline, 1987) y de descongelamiento, lo que podría afectar la calidad de imagen. Lo anterior, indica que el uso de piezas preservadas por congelación requiere de un tiempo mayor de descongelación, para que los remanentes de hielo no afecten el ingreso del ultrasonido.

Con el uso de las piezas anatómicas congeladas a  $-21^{\circ}\text{C}$ , aunque hubo diferencia en la temperatura entre grupos (medios de inmersión), los tiempos de inmersión para lograr el proceso de descongelación del casco y alcanzar la humedad necesaria para la obtención de imágenes ultrasonográficas de calidad (tabla 5), fueron muy similares. Fue necesario un tiempo medio de inmersión de 16 horas (12 – 18 horas) para los cascos torácicos como pélvicos, siendo menor a las 18 a 24 horas de descongelación a temperatura ambiente reportadas por Grundmann, *et al.*, (2015) para evaluar piezas, previamente congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , con RM.

Por el contrario, en el 61,3% de los cascos de equinos vivos se obtuvieron imágenes ultrasonográficas de buena calidad, cifra mayor a la obtenida en las piezas anatómicas. Por el uso de tejidos in vivo, los mecanismos de hidratación del casco se encuentran intactos (Bertram & Gosline, 1987). La mayor parte de las imágenes de calidad (57,9 %) se obtienen de los cascos sumergidos en agua con hielo (tabla 4), posiblemente, en estos se activaron los mecanismos de termorregulación del dígito (Pollitt & molyneux, 1990; Pollitt, 2004). La función normal de las AVA's es mantener la temperatura del casco por encima del punto de congelación (más o menos  $-1^{\circ}\text{C}$ ), para que esto ocurra, debe existir una doble circulación: una lenta que aporta nutrientes para mantener el metabolismo del tejido laminar y, una circulación AVA rápida que periódicamente suministra sangre arterial caliente a la dermis del casco cuando alcanza temperaturas críticamente bajas (Pollitt & Davies, 1998). Estos mecanismos, pudieron aumentar el grado de humedad y temperatura de la dermis del casco, posiblemente, contribuyendo de manera positiva a la calidad de imagen (tabla 4). Aunque el estudio no permitió dilucidarlo completamente (tablas 6 y 7), pues la temperatura fue medida en la superficie del estrato medio de la

epidermis y, no se controló la temperatura del medio de inmersión. La actividad de estos mecanismos de termorregulación se tradujo en dificultad de mantener estable la temperatura de los cascos sumergidos en agua con hielo, reflejado en un alto coeficiente de variación (tabla 5).

Estas razones, explican porque los cascos de la fase 2 (cascos de equinos vivos), requirieron siete (7) horas de inmersión para obtener imágenes ultrasonográficas de calidad. Siendo 56,25% menor que el tiempo empleado en las piezas anatómicas. Otro factor, fue la variación en la hidratación de la pared del casco, en condiciones normales, esta se produce por los líquidos que se originan desde el rodete coronario y la dermis por debajo de la pared epidermal (Bertram & Gosline, 1987).

La evidencia del mejoramiento de las imágenes ultrasonográficas al hidratar el casco fue corroborado al determinarse asociación positiva entre la calidad de imagen y el tiempo de inmersión de los cascos de equinos vivos en agua (tabla 7), y una tendencia similar en las piezas anatómicas (tabla 6). Por tanto, el grado de humedad alcanzado en la pared del casco dependen del tiempo de inmersión, es decir depende del tiempo de hidratación. Las imágenes ultrasonográficas de calidad y la caracterización de las capas evaluadas fueron obtenidas en cascos de ambas fases, e independiente del medio de inmersión; indicando que ambos medios de instrumentación son eficaces para la aplicación de la técnica. Estimar el delta de la temperatura y humedad, entre el tiempo cero y el tiempo al cuál se obtuvo imágenes de calidad, tal vez, hubiese aportado una mejor asociación (tablas 6 y 7).

La diferencia de las medidas obtenidas entre los métodos de evaluación, encontrada en ambas fases, también fue reportada en estudios previos, desarrollados sólo en miembros torácicos. El estudio de Goulet, *et al.*, (2015), identificó los estratos que componen la pared del casco que son visibles en radiografía digital, con medidas anatómicas

macroscópicas (regla milimetrada) de cortes anatómicos sagitales en fresco y, determinaron las medidas de estos y en equinos vivos sin claudicación. Mientras que Grundmann, *et al.*, (2015) compararon las capas del casco visibles en radiografía digital, con RM en piezas anatómicas. Ambos estudios, reportaron mayor dimensión en las medidas radiográficas. Encontrando un patrón similar al presente trabajo, donde sólo las medidas ultrasonográficas de la dermis parietal son mayores, tanto en piezas anatómicas como en equinos vivos.

En las piezas anatómicas, se debe tener presente, que los cascos estaban congelados en su totalidad cuando se realizó el estudio radiográfico, al igual que en el estudio de Grundmann, *et al.*, (2015). Pero las medidas ultrasonográficas se estimaron posterior a un promedio de 16 horas de inmersión y, estos cascos fueron congelados de nuevo, previo a los cortes sagitales. La conservación (a -21°C) pudo limitar la capacidad de la radiografía digital para diferenciar los estratos medio (pared) e interno (laminar) de la epidermis. Una vez que las piezas anatómicas fueron sumergidas, se descongelaron e hidrataron, permitiendo que los estratos recuperaran su configuración normal. Tras identificar la transición entre el estrato medio e interno de la epidermis (figuras 22 y 23), se logró diferenciar con mayor objetividad la dermis parietal. Adicionalmente, el contenido relativamente alto en agua de la capa más interna del estrato medio del casco y su baja densidad de túbulos (Gosline, 1986; Bertram & Gosline, 1987; Kasapi & Gosline, 1997), también facilitó dicha diferenciación. Por tanto, fue posible inferir que los procesos de inmersión e hidratación en los cascos de equinos vivos también permitieron diferenciar la transición entre el estrato medio e interno de la epidermis, por ende, de la dermis parietal.

Es posible que los resultados obtenidos al comparar estadísticamente la dermis parietal y las capas que la componen, entre la ultrasonografía y los cortes anatómicos,

obedecieron a factores relacionados con el manejo de las piezas anatómicas. Los cortes anatómicos fueron realizados en piezas congeladas, no empacadas en bolsas plásticas para prevenir la desecación (Grundmann, *et al.*, 2015). Por otro lado, el material pasó por procesos de congelación y descongelación para el desarrollo de los demás procedimientos, conducta que predispone el daño de los tejidos (Scott, *et al.*, 2011; White, 2015). Adicionalmente, los cortes pueden no haber sido perfectamente sagitales, generando factores de distorsión al alterarse la configuración de los límites anatómicos entre las capas (Goulet, *et al.*, 2015).

Se sugiere realizar los cortes anatómicos, inmediatamente, posterior a la evaluación ultrasonográfica, para evitar cambios en los tejidos por procesos de descongelación y congelación. Por otro lado, el uso del estereomicroscopio fue poco eficiente para la determinar cambios en la configuración de los tejidos e impidió encontrar las referencias de las capas evaluadas con ultrasonografía. La implementación de cortes histológicos mejoraría estos aspectos y confirmaría alteraciones o normalidad de la dermis parietal (D) y las capas que la componen (L y C) (Arble, *et al.*, 2009; Hanly, *et al.*, 2009; Grundmann, *et al.*, 2015; Ribeiro, *et al.*, 2017). Lo anterior se configuró como una limitante del presente estudio.

En piezas anatómicas y en equinos vivos, la medida de la dermis solear (S), fue menor al comparar la ultrasonografía con la radiografía digital o los cortes anatómicos; esto pudo generarlo el fenómeno de refracción. En ultrasonido, los artefactos surgen por exposición incorrecta de la anatomía o ruido durante la imagen, uno de estos es la refracción, el ultrasonido es refractado cuando el haz no es perpendicular a los límites del tejido, durante el examen, la anatomía puede ser no alcanzada o dislocarse de la posición original (Bushberg, *et al.*, 2012c).

Debido al posicionamiento del transductor en la técnica transmural, y la interacción del ultrasonido con la falange distal, surge, como una limitante del estudio, la imposibilidad de estimar ángulos (Cripps & Eustace, 1999a; Parks & Belknap, 2011; Xavier, et al., 2014; Coleman, 2015; Magalhães, et al., 2019; Cardona, et al., 2021) y proporciones como las asociadas a la longitud cortical palmar (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015; Grundmann, et al., 2015; Mullard, et al., 2020). Adicional a las medidas de los estratos del casco, se determinaron medidas inéditas como: la UDE y la dermis vascular sublamina, la disposición oblicua entre el rodete coronario y el proceso extensor, y de la dermis solear, determinadas en radiografía digital y RM por una línea perpendicular al suelo (Parks & Belknap, 2011; Coleman, 2015; Grundmann, *et al.*, 2015). Las distancias A y B; al igual que las proporciones D:A, A:B, S:A, L:D y C:D a nivel proximal, medio y distal, logrando determinar la posición de la falange al interior del casco y, la relación espacial entre tejidos blandos y falange distal. Goulet, *et al.*, (2015), describen proporciones radiográficas para determinar normalidad en miembros torácicos de sujetos vivos, pero entre tejidos blandos y queratinizados. Grundmann, *et al.*, (2015) también determinaron proporciones entre la dermis dorsal y solear y la longitud cortical palmar, en radiografía digital y RM. Es de aclarar, no es necesario hidratar el casco para obtener la distancia A.

Las proporciones de la dermis parietal y las capas que la componen (L:D y C:D), aumentarían en casos de desplazamiento distal simétrico o hundimiento (*sinking*) (Parks & Belknap, 2011; Sherlock & Parks, 2013; Parks & Belknap, 2017); en casos de rotación capsular o rotación falángica (Parks & Belknap, 2011; Parks & Belknap, 2017) serían mayor en distal. Sumado a lo anterior, existiría una disminución de A:B y S:A, la inexistencia de la última indicarían un cuadro más severo. Existiendo una combinación de estos resultados en el caso de un desplazamiento dorsal y distal simultáneos. Con respecto a D:A, la proporción aumentaría en casos de rotación, pero puede mantenerse en casos de hundimiento, por tanto, cada medida se debe interpretar individualmente y correlacionarse con las proporciones citadas.

Al comparar las distancias A y B, siendo esta la única medida compuesta por el estrato medio (tejido córneo) del casco. Se debe considerar que el tejido córneo puede variar por factores externos como raza y tamaño, alteraciones por el herraje, condiciones ambientales, mala conformación y corrección deficiente de aplomos (Kummer, *et al.*, 2006; Sherlock & Parks, 2013; Grundmann, *et al.*, 2015; Mullard, *et al.*, 2020). Además de la variación en el eje falángico asociado a deformidades flexurales de la articulación interfalángica distal (Parks & Belknap, 2017). Pero, las distancias mencionadas, son inéditas del estudio; aunque el foco de atención fueron los tejidos blandos, incluyendo la disposición inédita de las distancias A y S.

## **8. Conclusiones**

Con el uso de la técnica ultrasonográfica transmural se encontró correlación entre las imágenes de calidad y la inmersión de los cascos de equinos vivos en agua. Sin embargo, son obtenidas con independencia del medio de inmersión (agua o agua con hielo). Logrando caracterizar la apariencia normal del estrato medio de la epidermis, la región laminar (UDE) y la dermis vascular sublaminar, y los referentes para una evaluación objetiva que permite determinar la relación ultrasonográfica normal, casco - falange distal, y comparar los resultados con radiografía digital y cortes anatómicos. Por tanto, el desarrollo y descripción de la ultrasonografía transmural puede potenciar el uso de esta ayuda de imagen diagnóstica y, a conocimiento del autor, los hallazgos de este estudio no han sido reportados en la literatura.

Para aumentar la fiabilidad es necesario contrastar los hallazgos con otras ayudas como la resonancia magnética (ambas diferencian los componentes de la dermis y epidermis del casco), y evaluar la técnica transmural en casos naturales o experimentales de laminitis para determinar la aplicabilidad en el cuadro clínico.

## Anexos



Vicerrectoría de Investigación



Medellín, 02 de septiembre de 2020

Investigador

**Andrés Felipe Castro Mesa**  
Grupo de investigación "CENTAURO"  
Universidad de Antioquia

**Proyecto:** "Evaluación Ultrasonográfica de la Junción Dermo-Epidermal (JDE) Como Predictor en Fase Prodrómica de Laminitis: Estudio Piloto"

**Resultado de la revisión:** Otorgar aval<sup>1</sup>

Cordial saludo.

Luego de estudiada su solicitud al proyecto de la referencia, el **Comité de Ética para la Experimentación con Animales** expresa que, de forma expedita se otorga el aval ético solicitado, tal y como constará en la siguiente acta de sesión, la N° 135.

Con toda atención.

**JOSÉ IGNACIO CALLE POSADA**

Coordinador

Comité de Ética para la Experimentación con Animales  
Universidad de Antioquia

<sup>1</sup> El aval otorgado hace referencia única y exclusivamente al proyecto y/o a los procedimientos que se mencionan, además será válido solamente por el tiempo que dure (n) este (os).

Página 1 de 1

Comité de Ética para la Experimentación con Animales (CEEA) | [57+4] 2196612 |

Correo electrónico: [cicuanimal@udea.edu.co](mailto:cicuanimal@udea.edu.co)

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN

Recepción de correspondencia: Calle 62 No. 52-59, Edificio SIU | Apartado Aéreo 1226 | Dirección: calle 67 No. 53 – 108. Bloque 16-210

Comitador: [57+4] 219 8332 | Teléfono [57+4] 2195190 | Correo electrónico: [viceinvestigacion@udea.edu.co](mailto:viceinvestigacion@udea.edu.co) | NIT 890980040-8 |

<http://www.udea.edu.co/investigacion> • Medellín - Colombia

**Anexo 1.** Aval del Comité de Ética para la Experimentación con Animales (CEEA) de la Universidad de Antioquia.



<b>Casco #:</b>		<b>Hallazgos ultrasonográficos</b>						
<b>Fase:</b> (Si es Fase 2, consignar # del equino)	<b>Grupo:</b>		<b>Conclusión:</b> Mejor imagen alcanzada en el Tiempo ____, humedad ____, temperatura: ____ y Calibración: ____.					
	<b>Estuche córneo</b>		<b>Medidas</b> (Milímetros, serán determinadas en el tiempo en el cual se logra la imagen de mejor calidad)			<b>Descripción</b> (Incluir la calibración "settings" utilizada en el equipo para obtener la imagen)		
<b>Tiempo</b>			<b>Vista Eje Sagital</b>					
	<b>Humedad (%)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Nivel</b>	<b>P</b>	<b>L</b>		<b>C</b>	<b>D</b>
Enumerados desde el tiempo 0 al 12. Cada uno representa un intervalo de 2 horas.			<b>Prox</b>					
			<b>Med</b>					
			<b>Dist</b>					
			<b>Distancia A</b>					
			<b>Distancia B</b>					
			<b>Distancia S</b>					

**Anexo 3.** Formato para registrar las medidas y hallazgos en la ejecución de la técnica transmural.

## Hallazgos incidentales

El diseño del estudio no buscó comparar los hallazgos normales de la técnica transmural con el cuadro de laminitis. Para justificar el desarrollo de la propuesta, se evaluaron cascos en piezas anatómicas y, los cascos de un equino vivo; buscando determinar que el ultrasonido ingresaba a través de la muralla (piloto).

En dicho proceso se evaluó una pieza con laminitis crónica, encontrando cambios en la relación pared - UDE - fibrocartílago de la falange distal. Adicionalmente se evaluaron los cascos torácicos de un (1) paciente con laminitis aguda en crioterapia, encontrando diferencias en la configuración de la UDE.

Estos son hallazgos Incidentales. Aunque muy pocos, pueden ser la puerta de entrada para implementar la técnica en casos de laminitis, y, posiblemente, contrastarla con resonancia magnética (ambas diferencian la UDE y la dermis sublaminar).

Con el uso de RM se han detectado cambios tempranos en casos de laminitis en fase prodrómica o de desarrollo, por ende, sin alteraciones radiográficas, pero con alta correlación con hallazgos histológicos (Arble, *et al.*, 2009), una vez que esta condición médica afecta las estructuras blandas contenidas entre la superficie parietal de la falange distal y el estrato medio de la epidermis (pared) del casco, en especial la UDE (Hood, 1999; Dyson, *et al.*, 2003; Coleman, 2015). Arble, *et al.*, (2009), reportaron como hallazgos tempranos, aumento de la intensidad de la señal a nivel de las láminas (capa L), y variaciones en la anatomía normal. Al utilizar la técnica transmural en los cascos torácicos de un paciente sometido a crioterapia digital por prescripción terapéutica (figura I); encontrando aumento de la ecogenicidad (figura I-a y b) en la UDE y, pérdida de la caracterización de la capa profunda de la pared, limitando la observación de las papilas soleares y de la transición entre los estratos medio e interno de la epidermis. Se observan hallazgos anormales en la configuración de la UDE, señalados por las flechas rojas abiertas (figura I), hallazgos sin correlación histológica.

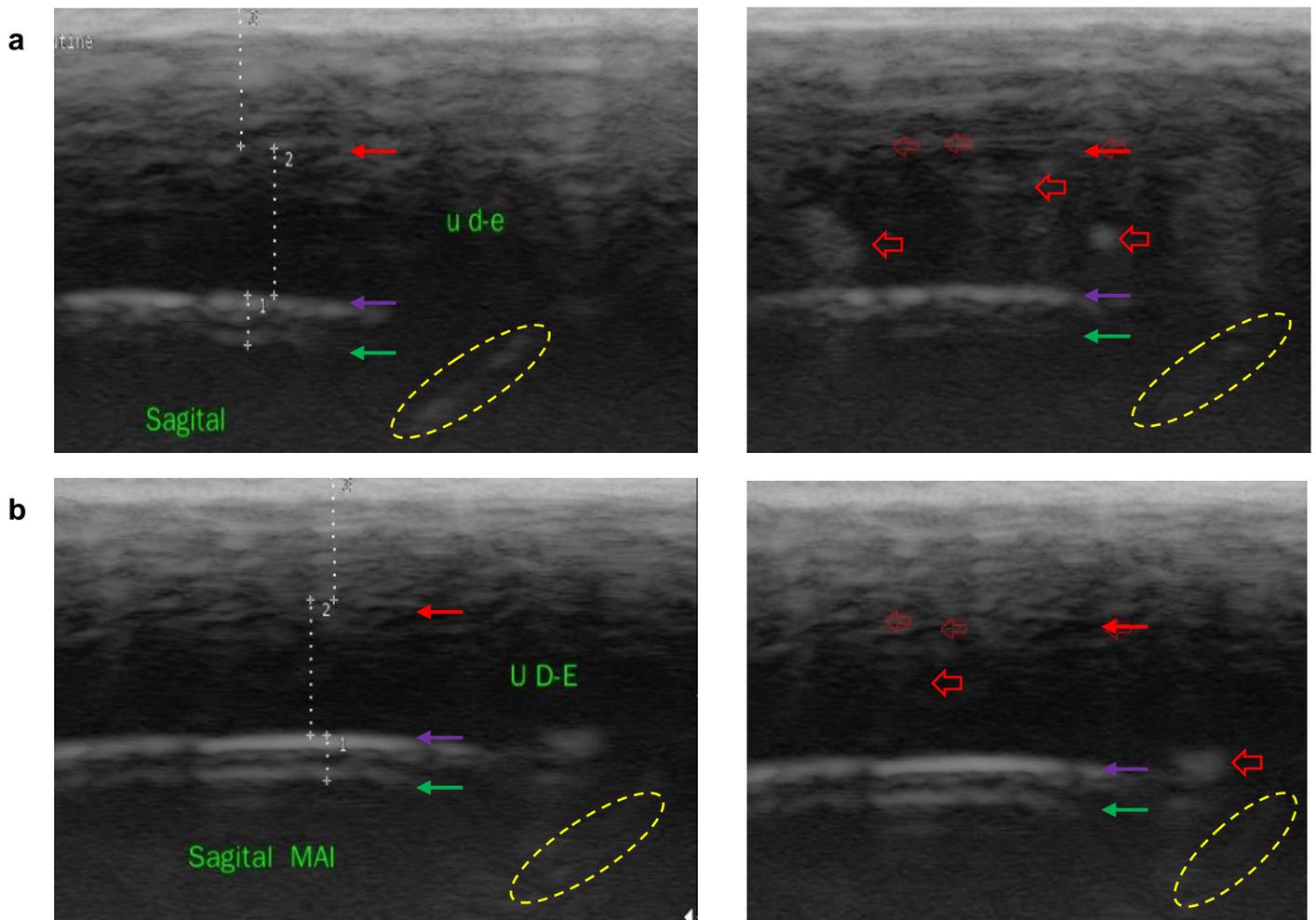


Figura I. Ultrasonografía transmural de miembros torácicos, posterior a 6 horas de inmersión en agua con hielo, crioterapia digital, de un paciente con laminitis en fase aguda. **a)** Miembro torácico derecho. **b)** Miembro torácico izquierdo. Papilas solares (ovalo amarillo punteado). Transición entre los estratos medio (pared) e interno (laminar) de la epidermis (flecha roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublaminar (flecha morada). Hallazgos anormales señalados por flechas rojas abiertas.

Adicionalmente se detectó cambios en la alineación de la falange distal en piezas con laminitis crónica (figura II-a), como el aumento hacia distal de la distancia UDE (L), soportado por la inclinación del fibrocartílago modificado (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal y de las zonas de transición al compararlas (figura II-b).

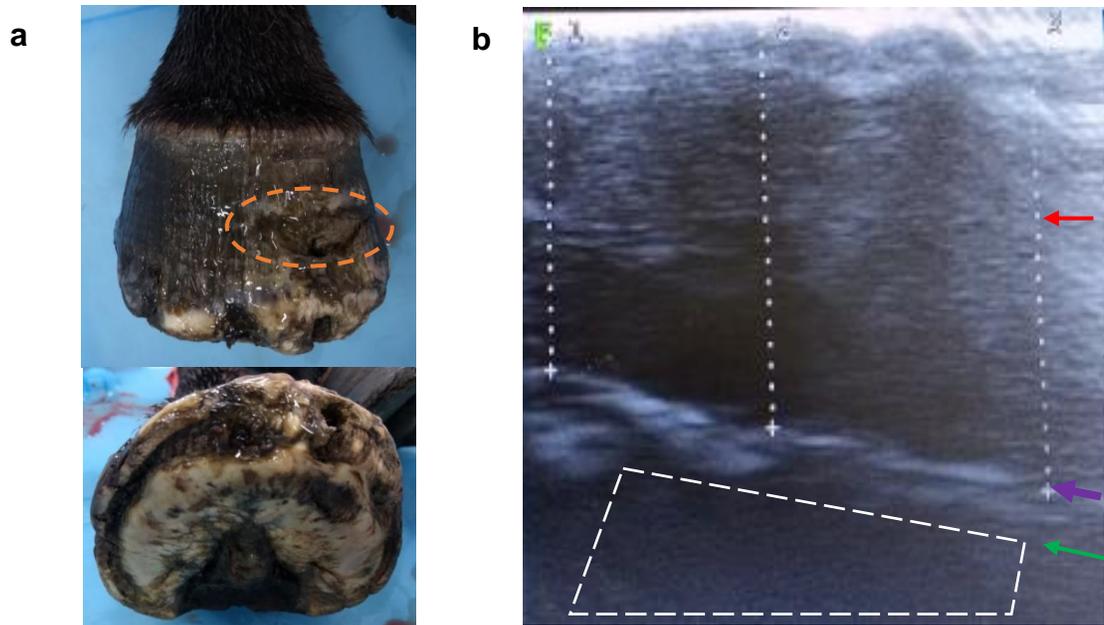


Figura II. Ultrasonografía transmural en laminitis crónica. **a)** Pieza anatómica de un casco con laminitis crónica. Irregularidad en la pared (círculo naranja interrumpido). **b)** Hallazgos ultrasonográficos, posterior a 18 horas de inmersión en agua. Proximal es a la izquierda. Transición entre los estratos medio (pared) e interno (laminar) de la epidermis (flecha roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublaminar (flecha morada). Fibrocartílago modificado “periostio” de la falange distal (flecha verde). Sombra acústica producto de la masa ósea de la falange distal (líneas blancas interrumpidas). A la derecha de la imagen se observan artefactos por la irregularidad de la pared.

Los cambios en la posición de la falange distal fueron mejor explicados con piezas anatómicas de miembros torácicos de un equino, sometido a eutanasia por razones médicas, con laminitis crónica por sobre carga (figura III). El aumento de la distancia A, la dermis parietal (y sus capas) hacia distal, la distancia B y, la inexistencia de la dermis solear al comparar ambos miembros torácicos (figura III-a y b), demuestran desplazamiento distal simétrico y rotación capsular, como es descrito por Cripps & Eustace (1999a), Cripps & Eustace (1999b), Parks & Belknap (2011) y Coleman (2015), en estudios radiográficos. Hallazgos descriptivos como: hundimiento o “sinking” (Parks & Belknap, 2011); colapso de las venas y arterias coronarias, reportados por (Murray, *et al.*, 2003) como alteraciones en el corion de la corona en RM; compresión de los tejidos a nivel de la corona y necrosis de la dermis solear (van Eps & Burns, 2019); cambios vasculares en la dermis sublaminaar, descritos en venografía digital (Rucker, 2010a; Eastman, *et al.*, 2012; Coleman, 2015; Kramer, *et al.*, 2020). Aunque no se realizó evaluación ultrasonográfica, es imposible descartar la capacidad de la técnica transmural para su detección, pues se describió la configuración anatómica y medidas normales de los tejidos implicados, al igual que lo reportado en laminitis aguda (figura I) y crónica (figura II).

Aunque el diagnóstico radiográfico es considerado la base para el desarrollo del factor pronóstico y evaluación de la severidad en los cuadros de laminitis, se han encontrado discrepancias entre los hallazgos clínicos y radiográficos, e información nula de los tejidos blandos (Orsini, 2011), demostrando limitaciones significativas de esta ayuda en el diagnóstico (Dyson, *et al.*, 2003). Lo que ha conllevado a la implementación de la RM y TC como mejores opciones (Orsini, 2011; Yamada, *et al.*, 2017), o el uso de medicina nuclear con la tomografía por emisión de positrones (PET), con la cual han logrado diferenciar casos agudos y crónicos de laminitis (Spriet, *et al.*, 2020). Sin embargo, se han descrito grandes limitantes que restringen sus usos y repetitividad en el ámbito clínico, como lo son el factor económico y disponibilidad del equipo (Barbee, *et al.*, 1987; Parks & Belknap, 2017).

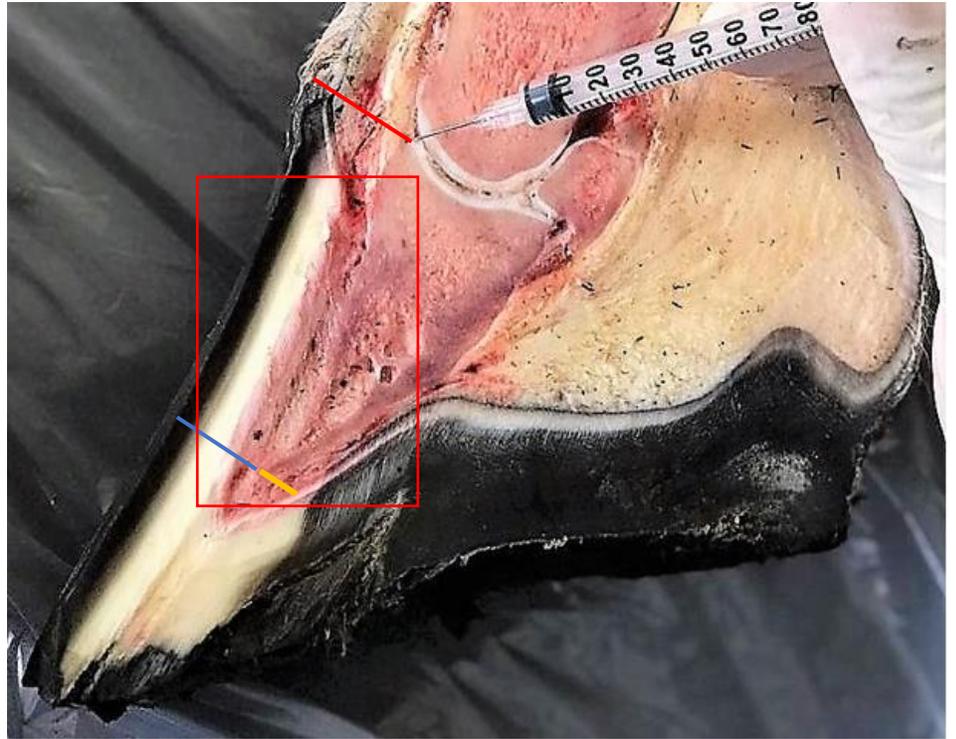


Figura III. Cortes anatómicos sagitales de miembros torácicos en una paciente con laminitis crónica por sobre carga. Vasos coronarios (círculo amarillo interrumpido). Distancia A (línea roja). Distancia B (línea azul). Dermis solear-S (línea/punto amarillo). Transición entre los estratos medio (pared) e interno (laminar) de la epidermis (flecha roja). Transición entre la dermis laminar y la dermis vascular sublaminar (flecha morada). Fibrocartílago modificado “periostio” (Budras, *et al.*, 2012) de la falange distal (flecha verde). **a)** Miembro torácico derecho sin sobrecarga. **b)** Miembro torácico izquierdo con laminitis crónica por sobrecarga, donde se observa: hundimiento o (sinker) (flecha negra), colapso de los vasos coronarios (cabezas de flechas negras), inclinación horizontal de la dermis vascular sublaminar (líneas moradas interrumpidas), pérdida (punto amarillo) y lesión de la dermis solear (cabezas de flecha blancas).

## Referencias

Arble, J. B., Mattoon, J. S., Drost, W. T., Weisbrode, S. E., Wassenaar, P. A., Pan, X., Belknap, J. K. (2009). Magnetic resonance imaging of the initial active stage of equine laminitis at 4.7 T. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 50(1), 3–12. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2008.01483.x>

Aronson, J. K., & Ferner, R. E. (2017). Biomarkers—a general review. *Current Protocols in Pharmacology*, 2017(March), 9.23.1-9.23.17. <https://doi.org/10.1002/cpph.19>

Asplin, K. E., Sillence, M. N., Pollitt, C. C., & McGowan, C. M. (2007). Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary Journal*, 174(3), 530–535. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.07.003>

Barbee, D. D., Allen, J. R., & Gavin, P. R. (1987). Computed tomography in horses: Technique. *Veterinary Radiology*, 28(5), 144–151. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1987.tb00043.x>

Belknap, J. K. (2010). The Pharmacologic Basis for the Treatment of Developmental and Acute Laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26(1), 115–124. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.01.003>

Belknap, James K. (2017). Laminitis: An Overview. In J. K. G. R. Belknap (Ed.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 11–12). John Wiley & Sons, Inc.

Bertram, J. E., & Gosline, J. M. (1987). Functional design of horse hoof keratin: the modulation of mechanical properties through hydration effects. *Journal of Experimental Biology*, 130, 121–136. <https://doi.org/10.1242/jeb.130.1.121>

- Black, S. J., Lunn, D. P., Yin, C., Hwang, M., Lenz, S. D., & Belknap, J. K. (2006). Leukocyte emigration in the early stages of laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 109(1–2), 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.08.017>
- Bras, R., & Morrison, S. (2021). Mechanical Principles of the Equine Foot. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 581–618. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.09.001>
- Budras, K. D., Sack, W. O., & Röck, S. (2012). Chapter 3: Pelvic limb. In *Anatomy of the horse* (5th ed., Vol. 170, pp. 26–29). <https://doi.org/10.1136/vr.e16>
- Busoni, V., & Denoix, J. M. (2001). Ultrasonography of the podotrochlear apparatus in the horse using a transcuneal approach: Technique and reference images. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 42(6), 534–540. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2001.tb00983.x>
- Cardona, G. A., Uribe, A., & Ortved, K. (2021). Determination of Positional Parameters of the Distal Phalanx Within the Hoof Capsule in Sound Colombian Paso Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2021.103434>
- Carstens, A., & Smith, R. K. W. (2014). Ultrasonography of the Foot and Pastern. In J. A. Kidd, K. G. Lu, & M. L. Frazer (Eds.). *Atlas of equine ultrasonography* (1st ed., pp. 26–37). John Wiley & Sons, Inc.
- Claerhoudt, S., Bergman, E. H. J., Saunders, J. H. (2014). Computed Tomographic Anatomy of the Equine Foot. *Anat. Histol. Embryol.* 43 (2014) 395–402. <https://doi.org/10.1111/ahe.12091>
- Clutterbuck, A. L., Harris, P., Allaway, D., & Mobasher, A. (2010). Matrix metalloproteinases in inflammatory pathologies of the horse. *Veterinary Journal*, 183 (1), 27–38. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.09.022>

Coleman, M. C. (2015). laminitis. In B. P. Smith (Ed.), *Large animal internal medicine* (5th ed., pp. 1119–1122). Elsevier mosby.

Cripps, P. J., & Eustace, R. A. (1999a). Radiological measurements from the feet of normal horses with relevance to laminitis. *Equine Veterinary Journal*, 31(5), 427–432. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb03844.x>

Cripps, P. J., & Eustace, R. A. (1999b). Factors involved in the prognosis of equine laminitis in the UK. *Equine Veterinary Journal*, 31(5), 433–442. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1999.tb03845.x>

de Laat, M. A., Sillence, M. N., McGowan, C. M., & Pollitt, C. C. (2012). Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *Veterinary Journal*, 191(3), 317–322. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.07.007>

Denoix, J. -M, Crevier, N., Roger, B., & Lebas, J. -F. (1993). Magnetic Resonance Imaging of the Equine Foot. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 34(6), 405–411. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.1993.tb02029.x>

Denoix, J. (2000). The Equine Distal Limb. *The Equine Distal Limb*. <https://doi.org/10.1201/b15219>

Denoix, J. M., Bertoni, L., Heitzmann, A. G., Werpy, N., & Audigié, F. (2011). Ultrasonographic examination of the collateral ligaments of the distal interphalangeal joint in horses: Part A: Technique and normal images. *Equine Veterinary Education*, 23(11), 574–580. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2011.00306.x>

Divers, T. J. (2010). Clinical application of current research findings toward the prevention and treatment of acute laminitis in horses with systemic inflammatory diseases: An internist's perspective. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30(9), 517–524. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.07.021>

Divers, T. J. (2017). Common Therapies: Anti-Inflammatory Therapy. In J. K. G. R. Belknap (Ed.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 277–283). John Wiley & Sons, Inc.

Dupays, A. G., Coudry, V., & Denoix, J. M. (2012). Ultrasonographic examination of the dorsal aspect of the distal interphalangeal joint of the horse. *Equine Veterinary Education*, 24(1), 38–44. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2011.00304.x>

Dyson, S., Murray, R., Schramme, M., & Branch, M. (2003). General Articles Magnetic resonance imaging of the equine foot : 15 horses. *Equine Veterinary Journal*, 35, 18–26.

Dyson, S. J. (2011). Navicular disease, Fracture of the navicular bone and congenital bipartite navicular bone, Primary lesions of the deep digital flexor tendon, The distal phalange and distal interphalangeal joint and Laminitis. In M. W. Ross & S. J. Dyson (Eds.), *Diagnosis and management of lameness in the horse* (2nd ed., pp. 324–386). Elsevier Saunders.

Eastman, S., Redden, R. F., & Williams, C. A. (2012). Venograms for Use in Laminitis Treatment. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(11), 757–759. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.02.020>

Evrard, L., Bolen, G., Maquet, N., & Busoni, V. (2012). Ultrasonography of the Collateral Ligaments of the Distal Interphalangeal Joint in Horses: Technique and Reference Images. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(9), 584–589. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2012.02.003>

Evrard, L., Joostens, Z., Vandersmissen, M., Audigié, F., & Busoni, V. (2021). Comparison Between Ultrasonographic and Standing Magnetic Resonance Imaging Findings in the Podotrochlear Apparatus of Horses With Foot Pain. *Frontiers in Veterinary Science*, 8(July), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.675180>

Faleiros, R. R., Johnson, P. J., Nuovo, G. J., Messer, N. T., Black, S. J., & Belknap, J. K. (2011). Lamellar Leukocyte Accumulation in Horses with Carbohydrate Overload-Induced Laminitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(1), 107–115. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2010.0650.x>

Faleiros, Rafael R., & Belknap, J. K. (2017). Leukocytes and Inflammatory Signaling in Laminitis: Leukocytes. In J. K. Belknap & R. Geor (Eds.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 91–101). John Wiley & Sons, Inc.

Gallastegui, A. (2021). Imaging the Equine Foot. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 563–579. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.07.003>

García-García, J. A., Reding-Bernal, A., & López-Alvarenga, J. C. (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investigación En Educación Médica*, 2(8), 217–224. [https://doi.org/10.1016/s2007-5057\(13\)72715-7](https://doi.org/10.1016/s2007-5057(13)72715-7)

Gerard, M. P. (2021). Anatomy and Physiology of the Equine Foot. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 529–548. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.07.002>

Goulet, C., Olive, J., Rossier, Y., & Beauchamp, G. (2015). Radiographic and anatomic characteristics of dorsal hoof wall layers in nonlaminitic horses. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 56(6), 589–594. <https://doi.org/10.1111/vru.12280>

Grenager, Nora S. (2021). Endocrinopathic laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37 (2021) 619–638. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.001>

Grundmann, I. N. M., Drost, W. T., Zekas, L. J., Belknap, J. K., Garabed, R. B., Weisbrode, S. E., ... Maierl, J. (2015). Quantitative assessment of the equine hoof using digital radiography and magnetic resonance imaging. *Equine Veterinary Journal*, 47(5), 542–547. <https://doi.org/10.1111/evj.12340>

Gunkelman, M. A., & Hammer, C. J. (2017). A Preliminary Study Examining the Digital Cushion in Horses. *Journal of Equine Veterinary Science*, 56, 6–8. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2017.03.006>

Hanly, B. K., Stokes, A. M., Bell, A. M., Johnson, J. R., Keowen, M. L., Paulsen, D. B., Moore, R. M. (2009). Use of serial lamellar tissue collection via biopsy in conscious healthy horses. *American Journal of Veterinary Research*, 70(6), 697–702. <https://doi.org/10.2460/ajvr.70.6.697>

Hauser, M. L., Rantanen, N. W., & Modransky, P. D. (1982). Ultrasound examination of distal interphalangeal joint, navicular bursa, navicular bone and deep digital tendon. *Journal of Equine Veterinary Science*, 2(3), 95–97. [https://doi.org/10.1016/S0737-0806\(82\)80012-9](https://doi.org/10.1016/S0737-0806(82)80012-9)

Henneke D.R., Potter G.D., Kreider J.L., Yeates B.F. 1983. Relationship between condition score, physical measurements and body fat percentage in mares. *Equine Veterinary Journal*, 15(4):371-372. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1983.tb01826.x>

Hood, D. M. (1999). Laminitis in the horse. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 15(2), 287–294. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30145-1](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30145-1)

J Bushberg, Jerrold T. Seibert, Anthony J. Leidhold JR, Edwim M. Boone, J. M. (2012a). Doppler Ultrasound. In *The Essential Physics of Medical Imaging* (3rd ed., pp. 542–554). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

J Bushberg, Jerrold T. Seibert, Anthony J. Leidhold JR, Edwim M. Boone, J. M. (2012b). Ultrasound Transducers. In *The Essential Physics of Medical Imaging* (3rd ed., pp. 513–519). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

J Bushberg, Jerrold T. Seibert, Anthony J. Leidhold JR, Edwim M. Boone, J. M. (2012c). Ultrasound Image Quality and Artifacts. In *The Essential Physics of Medical Imaging* (3rd ed., pp. 560–568). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.

- Kainer, R. A. (1989). Clinical anatomy of the equine foot. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 5(1), 1–27. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30601-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30601-6)
- Kasapi, M. A., & Gosline, J. M. (1997). *Design complexity and fracture control in the equine hoof wall*. 1659, 1639–1659.
- Keller, M. D., Galloway, G. J., & Pollitt, C. C. (2006). Magnetic resonance microscopy of the equine hoof wall: A study of resolution and potential. *Equine Veterinary Journal*, 38(5), 461–466. <https://doi.org/10.2746/042516406778400565>
- Kramer, J., Rucker, A., & Leise, B. (2020). Venographic evaluation of the circumflex vessels and lamellar circumflex junction in laminitic horses. *Equine Veterinary Education*, 32(7), 386–392. <https://doi.org/10.1111/eve.12982>
- Kristoffersen, M., & Thoefner, M. B. (2010). Ultrasonography of the navicular region in horses. *Equine Veterinary Education*, 15(3), 150–157. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2003.tb00234.x>
- Kullmann, A., Holcombe, S. J., Hurcombe, S. D., Roessner, H. A., Hauptman, J. G., Geor, R. J., & Belknap, J. (2014). Prophylactic digital cryotherapy is associated with decreased incidence of laminitis in horses diagnosed with colitis. *Equine Veterinary Journal*, 46(5), 554–559. <https://doi.org/10.1111/evj.12156>
- Kummer, M., Geyer, H., Imboden, I., Auer, J., & Lischer, C. (2006). The effect of hoof trimming on radiographic measurements of the front feet of normal Warmblood horses. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 172(1), 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2005.03.008>
- Kyaw-Tanner, M. T., Wattle, O., Van Eps, A. W., & Pollitt, C. C. (2008). Equine laminitis: Membrane type matrix metalloproteinase-1 (MMP-14) is involved in acute phase onset. *Equine Veterinary Journal*, 40(5), 482–487. <https://doi.org/10.2746/042516408X270353>

Laskoski, L. M., Locatelli, R. D., Araújo, C. A., Sperotto B. J., Brandão, Y., Brito, H., & Silva de Sousa, R. (2016). Oxidative stress in hoof lamellar tissue of horses with lethal gastrointestinal diseases. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 171 (2016) 66–72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2016.02.008>

Leise, B. S., Faleiros, R. R., Watts, M., Johnson, P. J., Black, S. J., & Belknap, J. K. (2011). Lamellar inflammatory gene expression in the carbohydrate overload model of equine laminitis. *Equine Veterinary Journal*, 43(1), 54–61. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.00122.x>

Leise, B. S., Faleiros, R. R., Watts, M., Johnson, P. J., Black, S. J., & Belknap, J. K. (2012). Hindlimb lamellar inflammatory response is similar to that present in forelimbs after carbohydrate overload in horses. *Equine Veterinary Journal*, 44(6), 633–639. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2011.00531.x>

Leise, B. S., & Fugler, L. A. (2021). Laminitis Updates: Sepsis/Systemic Inflammatory Response Syndrome–Associated Laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 639–656. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.003>

Luethy, D. (2021). Cryotherapy Techniques: Best Protocols to Support the Foot in Health and Disease. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 685–693. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.07.005>

Maleas, Grigorios. Mageed, Mahmoud. Gerlach, K. (2020). Comparison of ultrasound, bursography, MRI, and bursoscopy as diagnostic tools for navicular apparatus pathology in nine. Abstracts of the European Veterinary Diagnostic Imaging (EVDI) Congress, Basel, Switzerland, August 21–August 24, 2019. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 61(1), 85–118. <https://doi.org/10.1111/vru.12818>

- Magalhães, J. F., Lima, L. R., Paz, C. F. R., Rocha Júnior, S. S., Oliveira, A. P. L., Duarte, P. C., Faleiros, R. R. (2019). Spatial relationship between the hoof capsule and the distal phalanx in adult Campolina mares with and without obesity. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 71(6), 1773–1780. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10702>
- Menzies-Gow, N. J. (2011). Laminitis epidemiology data: Still severely lacking. *Veterinary Journal*, 189(3), 242. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.05.002>
- Mizgerd, J. P. (2002). Molecular mechanisms of neutrophil recruitment elicited by bacteria in the lungs. *Seminars in Immunology*, 14, 123–132. <https://doi.org/10.1006/smim.2001.0349>
- Molyneux, G. S., Haller, C. J., Mogg, K., & Pollitt, C. C. (1994). The structure, innervation and location of arteriovenous anastomoses in the equine foot. *Equine Veterinary Journal*, 26(4), 305–312. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1994.tb04391.x>
- Moore, R. M. (2008). Evidence-Based Treatment for Laminitis-What Works? *Journal of Equine Veterinary Science*, 28(3), 176–179. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.01.015>
- Mullard, J., Ireland, J., & Dyson, S. (2020). Radiographic assessment of the ratio of the hoof wall distal phalanx distance to palmar length of the distal phalanx in 415 front feet of 279 horses. *Equine Veterinary Education*, 32(S10), 2–10. <https://doi.org/10.1111/eve.13004>
- Murray, R. C., Dyson, S. J., Schramme, M. C., Branch, M., & Woods, S. (2003). Magnetic resonance imaging of the equine digit with chronic laminitis. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 44(6), 609–617. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2003.tb00519.x>
- O'Grady, S. E. (2015). Managing Acute Laminitis. In kim A. Sprayberry & R. N. Edward (Eds.), *Robinson's Current Therapy in Equine Medicine* (7th ed., pp. 862–868). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Olivier-Carstens, A. (2004). Ultrasonography of the solar aspect of the distal phalanx in the horse. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 45(5), 449–457. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2004.04078.x>

Orsini, James A. Divers, T. J. (2014). *Equine Emergencies Treatment and Procedures* (4th ed.; T. J. Orsini, James A. Divers, ed.). Elsevier Inc.

Orsini, J. A. (2011). A Fresh Look at the Process of Arriving at a Clinical Prognosis Part 1: Laminitis. *Journal of Equine Veterinary Science*, 31(4), 194–201. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.02.001>

Orsini, J., Galantino-Homer, H., & Pollitt, C. C. (2009). Laminitis in Horses: Through the Lens of Systems Theory. *Journal of Equine Veterinary Science*, 29(2), 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2008.12.009>

Parks, Andrew H. Belknap, J. K. (2017). Overview. In J. K. Belknap & R. Geor (Eds.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 226–239). John Wiley & Sons, Inc.

Parks, A., & Belknap, J. K. (2011). Laminitis. In G. M. Baxter (Ed.), *Adams and Stashak's lameness in horses* (6th ed., pp. 535–558). Iowa: John Wiley & Sons, Inc.

Parks, A.H. (2017). Anatomy and Function of the Equine Digit. In J. K. Belknap & R. Geor (Eds.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 13–21). Ames, Iowa: John Wiley & Sons, Inc.

Parks, Andrew H., & Belknap, J. K. (2017). Diagnostic Imaging. In J. K. G. R. Belknap (Ed.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 226–236). <https://doi.org/10.1002/9781119169239>

Patterson-Kane, J. C., Karikoski, N. P., & McGowan, C. M. (2018). Paradigm shifts in understanding equine laminitis. *Veterinary Journal*, 231, 33–40. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.11.011>

Pollitt, C. C., & Molyneux, G. S. (1990). A scanning electron microscopical study of the dermal microcirculation of the equine foot. *Equine Veterinary Journal*, 22(2), 79–87. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1990.tb04215.x>

Pollitt, C. C. (1994). The basement membrane at the equine hoof dermal epidermal junction. *Equine Veterinary Journal*, 26(5), 399–407. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1994.tb04410.x>

Pollitt, C. C., & Davies, C. T. (1998). Equine laminitis: its development coincides with increased sublamellar blood flow. *Equine Veterinary Journal. Supplement*, 30(26), 125–132. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb05131.x>

Pollitt, C. C. (1998). Infosura. In J. Álvarez Mendizábal (Ed.), *Atlas en color el pie del caballo* (1st ed., pp. 169–175). Madrid: Harcourt Brace de España, S.A.

Pollitt, C. C. (2004). Anatomy and physiology of the inner hoof wall. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3(1), 3–21. <https://doi.org/10.1053/j.ctep.2004.07.001>

Pollitt, C. C. (2010). The Anatomy and Physiology of the Suspensory Apparatus of the Distal Phalanx. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26(1), 29–49. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.01.005>

Pollitt, C. C., & Eps, A. W. (2010). Prolonged, continuous distal limb cryotherapy in the horse. *Equine Veterinary Journal*, 36(3), 216–220. <https://doi.org/10.2746/0425164044877152>

Proctor-Brown, L., Hicks, R., Colmer, S., Guilfoyle, D., Dallap-Schaer, B., Johnson, A. L., & Tomlinson, J. (2018). Distal limb pathologic conditions in horses treated with sleeve-style digital cryotherapy (285 cases). *Research in Veterinary Science*, 12 (September), 12–17. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.09.008>

Reilly, J. D., Cottrell, D. F., Martin, R. J., & Cuddeford, D. (1996). Tubule density in equine hoof horn. *Biomimetics*, 4(1), 23–35. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/251565789>

Ribeiro RM, Mendes HMF, Valadares RC, Paz CFR, de Oliveira AdPL, Junior OS, Faleiros RR, A Novel Equine Hoof Lamellar Tissue Biopsy Technique, *Journal of Equine Veterinary Science* (2016), doi: 10.1016/j.jevs.2016.10.007.

Rowan, C., Puggioni, A., Kearney, C., & Skelly, C. (2016). The effect of radioopaque markers to delineate the dorsal hoof wall on image quality in digital equine radiograph. Abstracts of the european veterinary diagnostic imaging (EVDI) congress, Wroclaw, Poland, August 31 to September 3, 2016. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 57(6), 646–669. <https://doi.org/10.1111/vru.12426>

Rucker, A. (2010a). Clinical applications of digital venography. *Journal of Equine Veterinary Science*, 30(9), 491–503. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2010.07.016>

Rucker, A. (2010b). Equine Venography and Its Clinical Application in North America. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26(1), 167–177. Sage, A. M., & Turner, T. A. (2010). Ultrasonography of the soft tissue structures of the equine foot. *Equine Veterinary Education*, 14(4), 221–224. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2002.tb00175.x>

Rucker, Amy. Orsini, J. A. (2014). Laminitis. In J. A. Orsini (Ed.), *Equine emergencies: treatment and procedures* (4th ed., pp. 709–710). Elsevier Saunders.

Sage, A. M., & Turner, T. A. (2010). Ultrasonography of the soft tissue structures of the equine foot. *Equine Veterinary Education*, 14(4), 221–224. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2002.tb00175.x>

Scott, Danny W. Miller Jr, W. H. (2011). Environmental Skin Diseases-Frostbite. In William H. Scott, Danny W. Miller Jr (Ed.), *Equine Dermatology* (2nd ed., p. 404). Missouri: Elsevier Inc.

Sherlock, C., & Parks, A. (2013). Radiographic and radiological assessment of laminitis. *Equine Veterinary Education*, 25(10), 524–535. <https://doi.org/10.1111/eve.12065>

Spriet, Mathieu. Cullen, Thomas. Espinosa, Pablo. Murphy, B., & Galuppo, L. (2020). 18F-FDG PET for assessment of the hoof lamina in normal, laminitic, and lame horses. Abstracts of the european veterinary diagnostic imaging (EVDI) congress, Basel, Switzerland, August 21–24, 2019. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, 61(1), 85–118. <https://doi.org/10.1111/vru.12818>

van Eps, A. (2010). Therapeutic hypothermia (cryotherapy) to prevent and treat acute laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26, 125-133.

van Eps, A. (2017). General clinical aspects of the laminitis case. In R. Belknap, James K. Geor (Ed.), *Equine laminitis* (1st ed., pp. 183–190). Ames, Iowa: John Wiley & Sons, Inc.

van Eps, A., Collins, S. N., & Pollitt, C. C. (2010). Supporting limb laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 26(2), 287–302. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2010.06.007>

van Eps, A. W., & Pollitt, C. C. (2004). Equine laminitis: Cryotherapy reduces the severity of the acute lesion. *Equine Veterinary Journal*, 36(3), 255–260. <https://doi.org/10.2746/0425164044877107>

van Eps, Andrew W., & Burns, T. A. (2019). Are There Shared Mechanisms in the Pathophysiology of Different Clinical Forms of Laminitis and What Are the Implications for Prevention and Treatment? *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 35(2), 379–398. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2019.04.001>

van Eps, A., Engiles, J., & Galantino-Homer, H. (2021). Supporting Limb Laminitis. *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 37(3), 657–668. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2021.08.002>

Wagner, I. P., & Heymering, H. (1999). Historical perspectives on laminitis. *The Veterinary Clinics of North America. Equine Practice*, 15(2), 295–309. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30146-3](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30146-3)

Watts, M. R., Hegedus, O. C., Eades, S. C., Belknap, J. K., & Burns, T. A. (2019). Association of sustained supraphysiologic hyperinsulinemia and inflammatory signaling within the digital lamellae in light-breed horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(3), 1483–1492. <https://doi.org/10.1111/jvim.15480>

White, S. D. (2015). Environmental Diseases - Frostbite. In B. P. Smith (Ed.), *Large animal internal medicine* (5th ed., p. 1217). St. Louis, Missouri: elsevier mosby.

Woessner, J. F. (1991). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue remodeling. *The FASEB Journal*, 5(8), 2145–2154. <https://doi.org/10.1096/fasebj.5.8.1850705>

Xavier, V. F., Lima, I. R., Marval, C. A. D., Silveira, D., Vieira, R. A. M., Castro, T. D. C., Faleiros, R. R. (2014). Estudo radiográfico do posicionamento da falange distal e suas possíveis correlações com obesidade em equinos de patrulhamento da Polícia Militar do Estado de Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinaria e Zootecnia*, 66(3), 672–680. <https://doi.org/10.1590/1678-41626006>

Yamada, K., Inui, T., Itoh, M., Yanagawa, M., Sato, F., Tominari, M., Sasaki, N. (2017). Characteristic findings of magnetic resonance imaging (MRI) and computed tomography (CT) for severe chronic laminitis in a thoroughbred horse. *Journal of Equine Science*, 28(3), 105–110. <https://doi.org/10.1294/jes.28.105>