



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y LA SALUD ANIMAL

“EFECTOS EN LA RAMA PROFUNDA DEL NERVIOS PLANTAR LATERAL A  
CAUSA DE UNA LESIÓN CREADA EXPERIMENTALMENTE EN EL  
ASPECTO PROXIMAL DEL LIGAMENTO SUSPENSOR DEL MENUDILLO  
EN EL MIEMBRO PÉLVICO DE CABALLOS”

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA:  
RAMÉS II SALCEDO JIMÉNEZ

TUTOR: PhD. LAURA ROMERO ROMERO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM  
COMITÉ TUTORAL: MSc. ALEJANDRO RODRÍGUEZ MONTERDE  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA UNAM  
MSc. JAMES SCHUMACHER  
MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y LA SALUD ANIMAL

MÉXICO, D.F. JUNIO 2014



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## DEDICATORIA

A mis padres.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Laura Romero, Dr. Alejandro Rodríguez y al Dr. James Schumacher, por toda la orientación y apoyo que me brindaron durante la maestría.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización de este proyecto.



## **Resumen**

### **Efectos en la rama profunda del nervio plantar lateral a causa de una lesión creada experimentalmente en el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo en el miembro pélvico de caballos.**

MVZ Ramés II Salcedo Jiménez, MVZ PhD Laura Romero Romero

MVZ MSc Alejandro Rodríguez Monterde DVM MSc James Schumacher

La inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo en los miembros pélvicos, es una causa común de claudicación en caballos. A pesar de recibir diferentes tratamientos, los caballos diagnosticados con desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo (DPLSM) permanecen claudicando. Existe evidencia clínica de que la neurectomía de la rama profunda del nervio plantar lateral (RPNPL) ha dado buenos resultados como tratamiento de la DPLSM. El objetivo de este estudio es confirmar que la inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo en los miembros pélvicos, resulta en daño a la RPNPL. Se indujo DPLSM en uno de los miembros pélvicos de 6 caballos por medio de la infiltración de 1500 UI de colagenasa; los ligamentos infiltrados y los ligamentos control fueron evaluados con ultrasonido los días 0, 21 y 41 después de la infiltración. Seis semanas después de la infiltración se realizó la neurectomía de la RPNPL, se retiró una porción de este nervio y se examinó histopatológicamente. No se observaron cambios microscópicos significativos en los nervios.

**PALABRAS CLAVE:** desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo, caballos, histopatología, rama profunda del nervio plantar lateral, colagenasa

## **Abstract**

**The effects of an experimentally-created lesion in the proximal aspect of the suspensory ligament of the pelvic limb of horses on the deep branch of the lateral plantar nerve.**

MVZ Ramés II Salcedo Jiménez, MVZ PhD Laura Romero Romero

MVZ MSc Alejandro Rodríguez Monterde DVM MSc James Schumacher

Inflammation of the proximal portion of the suspensory ligament of the pelvic limb is a common cause of lameness in the horse. Despite receiving different treatments, horses with proximal suspensory desmitis (PSD) remain lame. There is clinical evidence that transection of the deep branch of the lateral plantar nerve has been performed with good results in horses diagnosed with PSD. The aim of this study is to confirm that damage of the proximal aspect of the suspensory ligament of the pelvic limb results in degeneration of the deep branch of the lateral plantar nerve. Proximal suspensory desmitis was induced in one of the pelvic limbs of 6 horses by injecting 1500 IU of collagenase, treated and control ligaments were evaluated with ultrasound at days 0, 21 and 41 after the injection. Six weeks after the injection the deep branch of the lateral plantar nerve was harvested and examined histologically. No significant abnormalities were microscopically observed.

**KEYWORDS:** proximal suspensory desmitis, horses, histopathology, deep branch of the lateral plantar nerve, collagenase

## CONTENIDO

	Página
Dedicatoria	II
Agradecimientos	III
Resumen	IV
Abstract	V
Índice	VI
1. Introducción	1
2. Revisión de literatura	2
2.1 Anatomía funcional	2
2.1.1 Ligamento suspensor del menudillo	2
2.1.2 Nervios periféricos	4
2.1.3 Rama profunda del nervio plantar lateral	4
2.2 Desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo	5
2.3 Neurectomía de la rama profunda del nervio plantar lateral	6
2.4 Neuropatías por atrapamiento	7
2.4.1 Clasificación de la lesión	8
2.4.2 Patofisiología	8
2.4.3 Histopatología	9
2.5 Colagenasa como agente para inducir una lesión	10
2.5.1 Modelos en caballos	11
3. Justificación	13
4. Objetivo	13
5. Hipótesis	14
6. Material y métodos	14
6.1 Fase de campo	14
6.1.1 Examen ultrasonográfico	15
6.1.2 Infiltración de colagenasa	15
6.1.3 Evaluación de la claudicación	16
6.1.4 Cirugía	17
6.2 Fase de laboratorio	18
6.3 Análisis estadístico	18
7. Resultados	19
8. Discusión y Conclusiones	22
9. Literatura citada	29
10. Figuras	36
11. Cuadros	49

## 1. INTRODUCCIÓN

La inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo o tercer músculo interóseo en los miembros pélvicos es una causa común de claudicación y por lo tanto de disminución del rendimiento en caballos deportivos o causa de retiro de su actividad deportiva.<sup>1</sup> El aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo se encuentra inervado por la rama profunda del nervio plantar lateral (RPNPL), estas dos estructuras se localizan confinadas en un espacio delimitado por la superficie plantar del metatarso III, y el borde axial de los metatarsos II y IV cubiertos por la fascia plantar.<sup>2,3</sup>

Existen varios tratamientos para la desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo (DPLSM), tales como: la inyección intralesional de corticosteroides, células madre, plasma rico en plaquetas y glicosaminoglicanos, ejercicio controlado y terapia de ondas de choque.<sup>4,5,6,7</sup> Sin embargo, a pesar de recibir uno o varios de estos tratamientos, el caballo continúa claudicando en la mayoría de los casos.<sup>1,7</sup>

Existe evidencia de que la neurectomía de la RPNPL con y sin la fasciotomía plantar ha dado buenos resultados en caballos que claudicaban a causa de una DPLSM.<sup>3,8,9,10</sup>

Se postula que la claudicación pueda ser por algún daño en la RPNPL, la cual puede llegar a ser comprimida cuando el ligamento se inflama en su aspecto proximal y ocasiona un síndrome compartamental,<sup>1,3</sup> entendiéndose por síndrome compartamental el conjunto de signos secundarios al aumento de

la presión por encima de límites normales en un espacio osteofibroso inextensible, con disminución de la presión de perfusión capilar comprometiendo la viabilidad de los tejidos allí contenidos.<sup>11</sup> Dichos cambios se han observado en caballos que claudicaban a causa de una DPLSM; los cambios histopatológicos que presentaba la RPNPL fueron similares a los observados en neuropatías por atrapamiento en humanos.<sup>3</sup> El propósito de este estudio es confirmar que la inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, resulta en un daño de la rama profunda del nervio plantar lateral.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 ANATOMÍA FUNCIONAL**

#### **2.1.1 LIGAMENTO SUSPENSOR DEL MENUDILLO**

El ligamento suspensor del menudillo, también llamado músculo interóseo III, se divide para su estudio en tres partes: origen, cuerpo y ramas. El origen del ligamento suspensor del menudillo se encuentra en el aspecto proximal y plantar del metatarso III<sup>1,2</sup> y en menor medida en la fila distal de los huesos del tarso (Figura 1).<sup>12</sup> Tiene un ligamento accesorio que se origina proximalmente en el aspecto plantar del tarso IV y se continúa hacia lo distal con el ligamento suspensor del menudillo.<sup>2</sup>

En los miembros pélvicos, el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo está delimitado rígidamente por los tejidos adyacentes: la superficie plantar del metatarso III, los bordes axiales del metatarso II y IV y la fascia

plantar del *retinaculum flexorum* que va del metatarso II al IV,<sup>3,13</sup> con sus fibras orientadas horizontalmente.<sup>1</sup>

El aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo y los nervios plantares lateral y medial, se encuentran contiguos a la bolsa plantar de la articulación tarsometatarsiana.<sup>12</sup>

El ligamento suspensor del menudillo contiene una cantidad variable de tejido muscular (2% a 11%), el cual es bilateralmente simétrico. La cantidad de músculo puede variar entre caballos y entre razas,<sup>14,15</sup> de las fibras musculares, el 95% son de tipo I (de contracción lenta) y no existe una diferencia significativa entre potros y adultos en cuanto a la cantidad de fibras musculares.<sup>16,17</sup>

La función principal del ligamento suspensor del menudillo es la de prevenir una excesiva extensión (dorso flexión) de la articulación metatarsofalángica. Cuando el metatarso III es sometido a una compresión en su corteza dorsal y tensión en su corteza plantar, el ligamento suspensor del menudillo y los tendones flexores juegan un papel importante al limitar la sobreflexión del metatarso III; balanceando el estrés al que está sometido el hueso en sus diferentes partes para evitarle daños.<sup>18</sup>

Funcionalmente, el ligamento suspensor del menudillo se continúa con dos estructuras adicionales: dos ligamentos sesamoideos distales oblicuos y el ligamento sesamoideo recto; con una contribución menor están los ligamentos sesamoideos distales cruzados y cortos y las ramas extensoras del ligamento suspensor del menudillo; todas estas estructuras forman parte del aparato suspensor.<sup>17,18</sup>

## 2.1.2 NERVIOS PERIFÉRICOS

Los nervios periféricos pueden tener como componentes fibras sensitivas, fibras motoras y fibras simpáticas rodeadas por capas de tejido conectivo. Las fibras mielinizadas están rodeadas por células de Shwann a lo largo del axón, cada célula de Shwann está interrumpida por un espacio no mielinizado llamado nodo de Ranvier. A diferencia de las fibras mielinizadas, las fibras no mielinizadas están asociadas solamente a una célula de Shwann.<sup>19, 20, 21</sup>

Las fibras mielinizadas y las no mielinizadas están acomodadas dentro de fascículos los cuales están rodeados por una capa de células perineurales y tejido conectivo, que a su vez forman el perineuro. La matriz de tejido conectivo junto con los fascículos se denomina endoneuro; rodeando todos los fascículos de determinado nervio está el epineuro y alrededor de éste está el mesoneuro (Figura 2).<sup>19, 22</sup>

## 2.1.3 RAMA PROFUNDA DEL NERVIO PLANTAR LATERAL

La inervación de las estructuras del aspecto proximal y plantar de la región del metatarso está dada por los nervios plantares medial y lateral respectivamente; estos son ramas del nervio tibial el cual es una continuación directa del nervio ciático. La inervación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo está dada por la RPNPL (*Ramus profundus del N. lateralis plantaris*).<sup>17, 23, 24</sup> El músculo dentro del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, recibe su inervación motora de la RPNPL (Figura 3).<sup>25</sup>

## 2.2 DESMITIS PROXIMAL DEL LIGAMENTO SUSPENSOR DEL MENUDILLO (DPLSM)

La inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo es una causa común de claudicación, se diagnostica en todo tipo de caballos deportivos, especialmente en adiestramiento, en una edad de 4 a 10 años.<sup>1,2</sup>

Es una patología que resulta en una claudicación ligera a severa, puede ser unilateral o bilateral. Cuando la presentación es aguda se puede palpar un aumento de tamaño, de temperatura y dolor al aplicar presión al ligamento, pero en la mayoría de los casos, no se observan estos signos.<sup>1,2</sup>

La claudicación se caracteriza por ser crónica y persistente,<sup>10</sup> se observa una reducción en el arco del vuelo y hay una disminución en la extensión de la articulación metatarsofalángica; la fase craneal puede estar disminuida y se incrementa con las pruebas de flexión de menudillo y de corvejón.<sup>1,2</sup>

Se llega al diagnóstico utilizando una combinación de bloqueos nerviosos y técnicas de imagenología.<sup>10</sup> La claudicación mejora cuando se realiza el bloqueo de la RPNPL. Una mejoría en el 85% de la claudicación al bloqueo de la RPNPL, se asocia con una DPLSM<sup>2</sup> o con un daño en la RPNPL, como lo postula Toth (2008).<sup>8</sup>

En el examen ultrasonográfico es raro observar zonas anecóicas en los miembros pélvicos; lo que se observa comúnmente es un aumento de volumen del ligamento, poca delimitación de sus bordes y una reducción en la ecogenicidad de las fibras. En el examen radiográfico, los cambios que se pueden observar son la esclerosis del aspecto proximal del metatarso III,



alteración en el patrón trabecular y enteseofitos, sin embargo; en muchos casos no se presentan cambios radiográficos.<sup>1,2,10</sup> La resonancia magnética tiene una excelente resolución de contraste y detalle anatómico, por lo que se le considera el método ideal para el diagnóstico de la DPLSM.<sup>12,13</sup>

El pronóstico generalmente es reservado, existen varios tratamientos para la DPLSM, como la inyección intralesional de corticosteroides, células madre, plasma rico en plaquetas y glicosaminoglicanos, ejercicio controlado y terapia de ondas de choque.<sup>4,5,6,7</sup> A pesar de recibir uno o varios tratamientos el caballo, continua claudicando.<sup>1,7</sup> Como tratamiento quirúrgico se ha descrito la neurectomía del nervio tibial con sólo un reporte,<sup>2</sup> y la neurectomía de la RPNPL con varios reportes exitosos.<sup>3,8,9,10</sup>

### 2.3 NEURECTOMÍA DE LA RPNPL

La neurectomía de la RPNPL con la fasciotomía plantar se describió por primera vez por Bathe en el año 2001, se ha utilizado como tratamiento en caballos que claudican de uno o ambos miembros pélvicos a causa de una DPLSM con buenos resultados. Bathe (2003) reportó que esta técnica permitió regresar a su nivel de actividad previo a la lesión a 19 de 20 caballos (95%), con 1 solo caballo que continuó claudicando.<sup>8</sup> Kelly (2007) reportó a 78 de 84 caballos (91%) con neurectomía sin fasciotomía regresando a su actividad deportiva, sin mencionar que ocurrió con los 6 caballos que no regresaron a su actividad.<sup>9</sup> Toth et al. (2008) realizaron la neurectomía sin fasciotomía, 10 de los 16 caballos (62.5%) tratados dejaron de claudicar, los otros 6 caballos tuvieron reincidencia de la claudicación.<sup>3</sup> Dyson (2011) reportó un estudio retrospectivo evaluando el resultado a largo plazo de la

neurectomía con fasciotomía, en el grupo de caballos que sólo presentaban DPLSM, 70 de 90 caballos (77.8%) tuvieron un resultado exitoso, definiendo éxito como mantener al caballo trabajando en el mismo nivel deportivo que realizaban antes de padecer la lesión por más de un año posterior al procedimiento quirúrgico, los 20 caballos restantes tuvieron una claudicación persistente o recurrente.<sup>10</sup>

## 2.4 NEUROPATÍAS POR ATRAPAMIENTO

Las neuropatías por atrapamiento o compresión involucran la disfunción de nervios periféricos como resultado de una interferencia en la función microvascular, que puede ser interrumpida debido a un daño estructural en el nervio o tejidos adyacentes.<sup>19,20</sup> El ejemplo más común de esta patología en humanos es el síndrome del túnel carpiano, que es la compresión del nervio mediano cuando pasa por la muñeca dentro del túnel carpiano.<sup>19,21</sup> Estos síndromes ocurren en sitios donde los nervios pasan por canales osteofibrosos; otros ejemplos en humanos son el del nervio ulnar cuando pasa por la muñeca o codo, y los nervios espinales cuando pasan por los forámenes vertebrales.<sup>19</sup>

En humanos, si se realiza un corte transversal de la muñeca se observa un túnel estrecho compuesto por nueve tendones, el nervio mediano, sinovia y las paredes del túnel formadas por los huesos carpianos y el *retinaculum flexor*.<sup>21</sup> Una situación similar ocurre en el miembro pélvico de los caballos, donde el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo junto con la RPNPL se encuentran confinados por la superficie plantar del metatarso III,

el borde axial de los metatarsos II y IV, y las fascia plantar que cubre al ligamento suspensor.<sup>3</sup>

#### 2.4.1 CLASIFICACIÓN DE LA LESIÓN

Seddon (1942) describe tres diferentes tipos de disfunción: La primera es la neurapraxia, la cuál es un bloqueo en la conducción pero sin ruptura del axón o perineuro. La segunda es la axonotmesis, en la cuál ocurre una degeneración Walleriana y se pierde la conducción distal; el perineuro y el endoneuro se encuentran intactos. La tercera es la neurotmesis, la cual ocurre cuando el nervio es seccionado, no hay recuperación a menos de que el nervio sea reparado quirúrgicamente (Figura 4).<sup>22, 26,27</sup>

Sunderland (1978) describe cinco diferentes grados de lesión: el primer grado es el equivalente a la neurapraxia, donde hay una desmielinización segmental; el segundo grado es el equivalente a la axonotmesis donde el axón está afectado, pero el endoneuro está intacto; en el tercer grado hay una pérdida de la continuidad del endoneuro, pero el perineuro está intacto; en el cuarto grado hay pérdida de continuidad del axón, endoneuro y perineuro, pero el epineuro está intacto; el quinto grado es el equivalente a la neurotmesis, donde hay pérdida de continuidad de todo el nervio (Figura 5).<sup>22,26,27</sup>

#### 2.4.2 PATOFISIOLOGÍA

Una de las teorías de las neuropatías por atrapamiento es que la compresión sobre el nervio ocasiona isquemia, esto lleva a la formación de

edema en el subendoneuro y sinovia, lo que eventualmente ocasiona fibrosis.<sup>21</sup>

Los cambios iniciales son la ruptura de la barrera hemato-nerviosa con la subsecuente formación de edema. Esto continúa con un engrosamiento del epineuro y perineuro. Las fibras mielinizadas sufren desmielinización, mientras que las fibras no mielinizadas muestran evidencia de degeneración y regeneración. Estos cambios inicialmente son localizados, posteriormente pueden observarse en todo el nervio. Con mayores grados de compresión ocurrirá una lesión al axón y se puede llegar a observar degeneración Walleriana (Figura 6).<sup>22</sup>

#### 2.4.3 HISTOPATOLOGÍA

Hay muy pocos estudios de histopatología en neuropatías por compresión en humanos, dado que una biopsia ocasionaría una disfunción permanente del nervio.<sup>19</sup> Los nervios que se han logrado estudiar mostraron cambios degenerativos y regenerativos de las fibras no mielinizadas, al mismo tiempo la desmielinización segmentaria es el hallazgo predominante en las fibras mielinizadas.<sup>20,21</sup> La desmielinización segmentaria varía dentro y entre fascículos, y es el hallazgo predominante en las neuropatías por compresión en humanos, sin embargo, la degeneración Walleriana también puede llegar a observarse, esto se observó con microscopía de luz y microscopía electrónica.<sup>22</sup>

La fibrosis en el espacio subperineural se asocia con el desarrollo de cuerpos de Renaut, también se observa engrosamiento del epineuro interno y externo.<sup>23,28</sup> Los cuerpos de Renaut son estructuras desorganizadas en forma

de espiral de tejido conectivo que se encuentran en el espacio subperineural de los nervios periféricos, se describieron por primera vez por Renaut en 1881; la observación de estos cuerpos sugiere una predilección por sitios donde hay una compresión del nervio, lo que implica factores mecánicos en su formación (Figura 7).<sup>28,29,30</sup>

Toth *et al.* (2008) retiraron la RPNPL de 16 caballos que claudicaban a causa de una DPLSM, los cambios histológicos observados con microscopía de luz fueron una expansión del subperineuro por una matriz mixoide, cuerpos de Renaut, hinchazón del axón y necrosis con degeneración de la mielina (Figura 8). Estos cambios sugieren que la compresión de la RPNPL, puede ser en parte responsable de la claudicación asociada a la desmitis.<sup>3</sup>

## 2.5 COLAGENASA COMO AGENTE PARA PRODUCIR UNA LESIÓN

*Clostridium histolyticum* produce múltiples formas de colagenasas, siete diferentes han sido aisladas de su cultivo (alfa, beta, gamma, delta, épsilon, dseta, eta). Todas son metaloproteinasas (MMPs) zinc y calcio dependientes cuya única función es la hidrólisis de moléculas de colágeno vía enlaces peptídicos en la unión entre Gly – Pro y el residuo X de la unidad repetida de tripéptidos.<sup>31,32,33</sup>

Las siete colagenasas se dividen en dos diferentes clases o tipos; tipo I y tipo II, las cuales son clasificadas basándose en su gen de origen colG y colH respectivamente, y en el punto donde se lleva a cabo la hidrólisis de la molécula de colágeno. Las enzimas tipo I actúan en el locus central del final de la triple hélice de colágeno mientras las tipo II actúan en la parte interna (Figura 9).<sup>32,33</sup>

Algunas de las propiedades bioquímicas de las colagenasas de *Clostridium histolyticum* son: habilidad para permanecer activas en un amplio rango de pH, un alto grado de especificidad de substrato con degradación de solo los componentes de colágeno de los tejidos conectivos, buena actividad enzimática a temperatura del cuerpo y que no se digieren a si mismas.<sup>32</sup>

Las colagenasas de *Clostridium histolyticum* son dependientes de la presencia de iones de calcio, por lo que previo a su utilización tienen que ser diluidas en soluciones buffer que contengan calcio.<sup>32,34</sup>

La clasificación de las MMPs de vertebrados no aplica a las colagenasas bacterianas, esto es porque las MMPs de vertebrados tienen una diferencia esencial en la estructura de sus proteínas, además, se han realizado muy pocos estudios elaborados de análisis molecular de colagenasas bacterianas.<sup>34</sup>

### 2.5.1 MODELOS EN CABALLOS

Caminoto *et al.* (2005) crearon una desmitis del ligamento suspensor del menudillo en ambos miembros pélvicos por medio de la administración de dos infiltraciones de colagenasa con un lapso de dos semanas entre si. Las infiltraciones se realizaron guiadas con ultrasonido en el cuerpo del ligamento suspensor (20 cm distal a la punta del corvejón). La primera infiltración contenía 1.25 mg de colagenasa y la segunda infiltración contenía 2.5 mg de colagenasa.<sup>35</sup>

MaClure y Evans (2002) crearon lesiones en ambos miembros torácicos en el cuerpo del ligamento suspensor, 12 cm distal al carpo accesorio con la

infiltración de 4,000 U de colagenasa. Los ligamentos fueron evaluadas con ultrasonido tres semanas después de la infiltración, las lesiones se observaban estables en tamaño y forma.<sup>36</sup>

Williams (1984) infiltró 0.5 ml de una solución con colagenasa, sin mencionar la concentración, en la parte central del tendón flexor digital superficial entre las articulaciones del carpo y metacarpo, la aguja se introdujo con una angulación de 45° hacia el carpo. Dos infiltraciones similares se realizaron 1 cm proximal y 1 cm distal al primer sitio. Las cantidades usadas produjeron una inflamación significativa en el tendón, las cantidades se extrapolaron de estudios en conejos.<sup>37</sup>

Redding *et al.* (1999) infiltraron 4,000 U de colagenasa en un volumen de 1.5 ml dentro del tendón flexor digital superficial, 10 cm distal al carpo accesorio. La infiltración inicial fue con 0.5 ml en la línea media. Dos infiltraciones se realizaron 1 cm proximal y 1 cm distal al inicial.<sup>38</sup>

Foland *et al.* (1992) indujeron tendinitis del flexor digital superficial en los miembros torácicos, infiltrando 4,000 U de colagenasa en la región media del metacarpo. Las 4,000 unidades de colagenasa se diluyeron en 1.5 ml de agua estéril, esta solución se dividió en tres partes iguales, para ser infiltradas en 3 diferentes sitios del tendón.<sup>39</sup>

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Desde el año 2001 la neurectomía de la RPNPL ha sido utilizada como tratamiento de la desmitis del ligamento suspensor del menudillo en su aspecto proximal. Se sugiere como teoría que la claudicación ocasionada por la desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo podría ser en parte por el daño de la rama que inerva el ligamento suspensor del menudillo, sin haber comprobado esta teoría.<sup>1,3</sup>

Toth y colaboradores (2008) observaron cortes histológicos de la RPNPL de caballos que claudicaban a causa de una desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo, observando cambios histológicos sugerentes de una neuropatía por atrapamiento.<sup>3</sup>

Bajo esta tesis se pretende justificar la neurectomía de la RPNPL como tratamiento para la desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo, así como demostrar que la RPNPL después de estar comprimida a causa de una inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, presentará cambios histológicos como los observados en neuropatías por atrapamiento.

### **4. OBJETIVO**

Corroborar que la lesión creada en el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo en los miembros pélvicos ocasiona un síndrome compartamental, el cuál resulta en un daño a la RPNPL.



## 5. HIPÓTESIS

La lesión creada a causa de la infiltración de colagenasa en el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo resultará en cambios histológicos de la RPNPL.

## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

La fase de campo de este estudio se realizó en el Hospital para Équidos de la FMVZ-UNAM y la fase de laboratorio en el Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM. Se utilizaron 6 caballos clínicamente sanos y que no claudicaran clínicamente, la distribución de las razas de los caballos fue la siguiente, 1 Pura Sangre Inglés y 5 Criollos, los 6 caballos presentaron un peso promedio de 353 kg con una desviación estándar de +/- 69 kg (rango 248 – 455 kg) y una edad promedio de 8.8 años con una desviación estándar +/- 3 años (rango 5 – 13 años), 3 hembras, 2 machos castrados y 1 macho entero (Cuadro 1). Los caballos se colocaron en una caballeriza y fueron alimentados con heno de avena y agua *ad-libitum* durante todo el estudio. El protocolo de investigación fue aprobado por el Subcomité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales en Experimentación (SICUAE).

### 6.1 FASE DE CAMPO

Para comprobar que los caballos estuvieran clínicamente sanos se les realizó un examen físico, donde se evaluaron las siguientes constantes fisiológicas: frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal, tiempo de llenado capilar, mucosas, auscultación de campos

pulmonares y sonidos abdominales. Para evaluar que no claudicaran, se les realizó un examen de aparato locomotor, en estática y en dinámica.

#### 6.1.1 EXAMEN ULTRASONOGRÁFICO

En esta fase se realizó un examen ultrasonográfico a los 6 caballos dónde se evaluó el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, usando un equipo GE (Logic Book XP) con un transductor lineal a una frecuencia de 10MHz con los caballos sedados con clorhidrato de xilacina (0.5 mg/kg).

Se realizaron 3 exámenes ultrasonográficos para comparar el tamaño de los ligamentos, éstos se llevaron a cabo los días 0, 21 y 41 después de la infiltración con colagenasa (Figura 10).

#### 6.1.2 INFILTRACIÓN DE COLAGENASA

Para esta fase del estudio se eligió de forma aleatoria simple un miembro pélvico de cada caballo para usarlo como tratamiento y el opuesto como control. Los miembros pélvicos fueron rasurados con peine No. 40 de la mitad del metatarso III hacia lo proximal hasta el calcáneo en su aspecto plantar. Posteriormente el caballo fue sedado mediante la administración de clorhidrato de xilacina (0.75 mg/kg) y se anestesió la piel y subcutáneo mediante la administración de 1 ml de lidocaína al 2%, esto 4 cm distal a la articulación tarsometatarsiana.

La zona donde se administró la lidocaína se preparó quirúrgicamente con yodopovidona espuma y alcohol al 70%. Vía ultrasonido usando un transductor lineal de 7.5 MHz con una frecuencia de 10 MHz se localizó el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, con el miembro en

flexión y guiados por ultrasonido, en la parte central del ligamento suspensor del menudillo con aguja de calibre 22 y de 1 ¼ pulgadas de largo se infiltraron de manera estéril 1500 U de colagenasa (Collagenase type I, Sigma-Aldrich Corp. St Louis, Mo.) diluida en agua estéril en un volumen de 0.3 ml (comunicación personal Chad Marsh; Figura 11).

Posterior a la infiltración los caballos recibieron la administración de Fenilbutazona (2.2 mg/kg) SID I.V.<sup>35</sup> durante tres días. Los caballos permanecieron en caballeriza durante las siguientes 6 semanas, caminando de mano 15 minutos 1 vez al día.

### 6.1.3 EVALUACIÓN DE LA CLAUDICACIÓN

En esta fase se evaluó la claudicación cada semana después de la infiltración con colagenasa, se utilizó el sistema establecido por la Asociación Americana de Practicantes en Equinos (AAEP por sus siglas en inglés), que tiene 5 diferentes grados para clasificar las claudicaciones:

- 1/5 claudicación difícil de observar, y no consistente bajo ciertas circunstancias (superficies duras, a la cuerda, con jinete).
- 2/5 claudicación difícil de observar al paso o al trote en línea recta pero es consistente bajo ciertas circunstancias (superficies duras, a la cuerda, con jinete).
- 3/5 claudicación evidente al trote en línea recta.
- 4/5 claudicación obvia, con un marcado movimiento de cabeza o pelvis y disminución de las fases anteriores o posteriores.
- 5/5 no apoyan el miembro afectado estando en movimiento o reposo, incapacidad para moverse.<sup>2</sup>

#### 6.1.4 CIRUGÍA

Seis semanas después de la inyección, se realizó la neurectomía de la RPNPL en ambos miembros pélvicos (tratamiento y control) de los 6 caballos, como la describe Kaneps con algunas modificaciones.<sup>40</sup> La cirugía se realizó bajo anestesia general, la inducción se realizó con xilacina (0.75 mg/kg), gliceril guayacol éter (5%), ketamina (2.2 mg/kg) y el mantenimiento con isofluorano. Se rasuró de la mitad del metatarso III hacia lo proximal hasta el calcáneo. La zona se preparó quirúrgicamente con yodopovidona espuma y alcohol al 70%.

Se realizó una incisión con bisturí No. 20 de aproximadamente 8 cm centrando la incisión en la articulación tarsometatarsiana entre el metatarso IV y los tendones flexores. Se localizó la fascia superficial y se realizó un corte con bisturí para posteriormente extender la incisión en la fascia con tijeras Metzenbaum rectas. Con pinzas Kelly curvas se realizó la disección de los tejidos blandos para localizar el nervio plantar lateral, el cual fue referido con una sutura de nylon No. 0 en lugar de un drén (Penrose) como lo reportan otros cirujanos.<sup>3,40</sup> Con la ayuda de separadores de Farabeuf se continuó la disección hacia lo dorsal hasta localizar la RPNPL, donde después de elongar el nervio, se retiró un segmento de aproximadamente 3 cm, haciendo un corte con bisturí No. 20, esto en cada miembro. Los doce nervios fueron identificados y colocados en tubos de ensaye con formol buferado al 10%. La fascia superficial se suturó con un patrón simple continuo utilizando poliglactina 910 No. 2-0, el subcutáneo con un patrón continuo de Cushing con poliglactina 910 No. 2-0 y la piel con puntos simples discontinuos utilizando nylon No. 0 (Figura 12).

Se colocó un vendaje con apósito estéril, huata y venda autoadherible (Vetrap Bandaging tape 3M US) sobre los miembros. Como tratamiento post quirúrgico se administró Fenilbutazona (4.4 mg/kg) SID I.V. durante 5 días, Gentamicina (6.6 mg/kg) SID I.V. durante 3 días, Penicilina procaínica (22,000UI/kg) SID I.M. durante 3 días y cambio de vendaje cada tercer día.

Las suturas se retiraron 15 días después de la cirugía.

## 6.2 FASE DE LABORATORIO

El tejido fue fijado en formol buferado al 10% durante 24 h, se incluyeron en el procesador automatizado de tejidos (LEICA TP 1020) para luego elaborar los bloques de parafina, a partir de los cuales se realizaron cortes de 4 $\mu$  de espesor mediante el uso del microtomo (LEICA RM2125). Los cortes microscópicos se colocaron en portaobjetos, se desparafinaron en la estufa y se procedió a realizar la coloración con Hematoxilina & Eosina y Azul Alciano. Cada corte de tejido se observó en toda su extensión en un microscopio óptico (Leica DME<sup>R</sup>).<sup>41</sup>

## 6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Tanto las calificaciones en las evaluaciones de claudicación como las tres mediciones de los ligamentos que se realizaron mediante el ultrasonido (la longitudinal en cm, la transversal en cm<sup>2</sup>), fueron analizadas mediante el procedimiento del modelo lineal general (GLM por sus siglas en inglés) del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis Software), bajo el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

En donde  $Y_{ij}$  representa la longitud o área del ligamento (ambas en los tres momentos) y la calificación en claudicación que se realizó durante las 6 semanas posteriores a la infiltración de colagenasa.

$\mu$  representa la media de la variable en cada análisis (Y)

$T_i$  representa el efecto del tratamiento (infiltración de colagenasa)

$e_{ij}$  representa el error experimental

## 7. RESULTADOS

En el primer examen clínico del aparato locomotor, ninguno de los caballos presentó claudicación. En el examen en estática no se observó ningún aumento de volumen en la región del corvejón. En el examen físico general todas las constantes fisiológicas evaluadas se encontraban dentro de rangos fisiológicos normales (Cuadro 2).

En el primer examen de ultrasonido que se realizó antes de iniciar el experimento, ninguno de los caballos presentaba áreas hipoecóicas, incrementos o decrementos en la ecogenicidad, ni bordes irregulares del metatarso III en sus ligamentos suspensores del menudillo.

La infiltración con colagenasa se realizó de forma exitosa en los 6 ligamentos suspensores del menudillo seleccionados como tratamiento.

Doce horas después de la infiltración se observó un incremento de temperatura, el cuál estuvo presente en los 6 caballos; Este incremento se mantuvo en los caballos No. 2, 3, 5, y 6 hasta el tercer día, y en los caballos 1 y 4 se observó hasta el cuarto día. El dolor a la palpación estuvo presente

en los 6 caballos; en los caballos No. 3, 5 y 6 hasta el tercer día, en el caballo 2 hasta el cuarto día y en los caballos 1 y 4 hasta el quinto día.

Los seis caballos presentaron claudicación del miembro pélvico infiltrado con colagenasa. El promedio del grado de la claudicación de los seis caballos durante las seis semanas del estudio para el miembro pélvico seleccionado como tratamiento fue 2.5/5 con una desviación estándar de +/- 0.5 (rango 2/5 – 3/5). Durante las primeras 3 semanas la claudicación promedio fue 3/5. Las siguientes 3 semanas presentaron una claudicación promedio de 2/5. La diferencia de los promedios de las claudicaciones para el miembro tratado (2.5/5) y control (0/5) resultó estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) durante las 6 semanas del estudio (Cuadro 3).

En la evaluación ultrasonográfica se observó una diferencia en el tamaño del ligamento suspensor del menudillo de 0.37 cm entre los grupos control y tratamiento en la medición longitudinal, en la medición transversal la diferencia de tamaño fue de 0.46 cm<sup>2</sup>. La diferencia del promedio en la medición longitudinal en el grupo tratamiento [1.48 cm con una desviación estándar de +/- 0.08 (rango 1.38 – 1.55 cm)] resultó estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) con respecto al grupo control [1.11 cm con una desviación estándar de +/- 0.03 (rango 1.08 – 1.16 cm)]. La diferencia del promedio en la medición transversal en el grupo tratamiento [1.65 cm<sup>2</sup> con una desviación estándar de +/- 0.1 en un (rango 1.49 – 1.79 cm<sup>2</sup>)] resultó estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) con respecto al grupo control [1.14 cm<sup>2</sup> con una desviación estándar de +/- 0.14 (rango de 0.96 – 1.38 cm<sup>2</sup>)] (Cuadro 4 y 5).

La neurectomía de la rama profunda del nervio plantar lateral se realizó conforme a lo planeado en material y métodos. Se retiró una porción de nervio de no menos de 1.5 cm y no más de 2.5 cm de longitud de cada miembro pélvico, obteniendo un total de 12 fragmentos de nervios.

Siete días después de la cirugía se observó un aumento de volumen en la incisión del miembro seleccionado como control del caballo No.1. Se retiraron tres puntos de sutura en el aspecto distal de la incisión para permitir la salida del exudado. La infección se controló y la parte distal de la incisión cicatrizó por segunda intención.

El promedio para el grado de las claudicaciones tres semanas después de la cirugía fue de 0/5 para el grupo con tratamiento y 0.5/5 para el grupo control con una desviación estándar de +/- 1.22 (rango 0/5 – 3/5) siendo de este grupo el caballo No. 1, al cuál se le infectó la incisión (Cuadro 6).

Seis pares de porciones de la RPNPL fueron examinados con microscopía de luz para buscar lesiones relacionadas a la compresión de los nervios, tales como: expansión subepineural con matriz mixomatosa, infiltrado linfoplasmocítico epineural, cuerpos de Renaut, engrosamiento y fibrosis del epineuro y perineuro, hinchazón axonal y necrosis con degeneración de mielina; en ninguno de los nervios se observaron estas anomalías histológicas ni ninguna otra (Figura 13).



## 8. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este estudio se utilizó la infiltración de colagenasa para crear una desmitis del ligamento suspensor del menudillo y determinar si se desarrollaban cambios histológicos en la RPNPL, la cual fue retirada mediante la neurectomía de la misma.

El modelo de colagenasa para crear lesiones (tendinitis y desmitis) en caballos ha sido descrito previamente,<sup>35,36,37,38,39,42</sup> en este caso se utilizó para inducir desmitis del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo.

En el estudio, después de la infiltración de colagenasa, usando una dosis de 1500 U en 0.3 ml se detectó un aumento de temperatura y dolor a la palpación, que desaparecieron durante la primera semana. Se reportan resultados similares cuando se infiltraron 4,000 U de colagenasa en 0.1 ml para lesionar el cuerpo del ligamento suspensor del menudillo y evaluar la terapia de ondas de choque como tratamiento, y observaron dolor en la zona de la infiltración hasta 1 semana después de la misma.<sup>35</sup> En otro estudio refieren que cuando infiltraron 4,000 U de colagenasa en 1.5 ml en el tendón flexor digital superficial para evaluar el efecto de los glicosaminoglicanos como tratamiento, observaron un aumento de volumen y dolor a la palpación a las 24 horas después de la infiltración; no se menciona por cuánto tiempo se presentaron estos signos.<sup>38</sup> Cuando Marsh (2012) infiltró el aspecto proximal del ligamento suspensor detectó un aumento de temperatura y dolor a la palpación, sin mencionar por cuanto tiempo se presentaron estos signos.<sup>42</sup>

La claudicación ocasionada por la inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor se evaluó durante las 6 semanas previas a la cirugía, ésta inició a las 12 horas después de la infiltración y fue disminuyendo gradualmente sin dejar de estar presente en todo el periodo. En un estudio, cuando se infiltró 0.5 ml de colagenasa (no reportan las unidades) en el tendón flexor digital superficial para estudiar la patogénesis de la tendinitis, observaron que 24 h después de la infiltración, los caballos no apoyaban el miembro infiltrado; durante la primera semana los caballos se observaban claudicando al paso y a los dos meses reportan que ya no observaban claudicación.<sup>36</sup> En otro estudio infiltraron 4,000 U de colagenasa en 1.5 ml para evaluar el efecto del ácido hialurónico intralesional, los caballos claudicaban al paso 24 horas después de la infiltración, durante la primera semana tuvieron un rango en la claudicación de 1/5 a 3/5, a la doceava semana los rangos fueron de 0/5 a 1/5.<sup>38</sup> Por otro lado McClure (2004) cuando infiltró 4,000 U de colagenasa en 0.1 ml, observó que después de la segunda semana de haber infiltrado la colagenasa no había claudicación.<sup>37</sup>

Hasta la fecha el único estudio que reporta la infiltración del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo es el de Marsh (2012), y con base en esto y en la diferencia de resultados de los diferentes estudios en cuanto al aumento de temperatura, dolor a la palpación y claudicación, se decidió utilizar la misma dosis y concentración de colagenasa (1500 U en 0.3 ml).<sup>42</sup>

Similar a lo reportado en otros estudios, en la evaluación ultrasonográfica se observó en promedio un incremento de volumen de 38 % en la proyección

transversal en los ligamentos infiltrados del día de la infiltración a la a la sexta semana.<sup>35,36,38</sup>

El promedio en la medición transversal de los ligamentos de nuestro estudio fue de 1.64 cm<sup>2</sup>. Reef (1998) menciona que la mayoría de los ligamentos suspensores miden entre 1.2 y 1.5 cm<sup>2</sup> en su proyección transversal.<sup>43</sup> Basado en esta información, Toth (2008) en su estudio clínico sobre desmitis del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, define un ligamento aumentado de volumen cuando mide más de 1.5 cm<sup>2</sup>. Es importante mencionar que los caballos utilizados en este estudio eran de menor talla y con un peso promedio de 353 kg (rango 248 - 455) que los utilizados por Reef (1998), los cuales eran de razas más grandes, como Pura Sangre Inglés y Standardbreds.<sup>43,44,45</sup> En otro estudio, caballos que dejaban de claudicar al bloquear la RPNPL presentaron un promedio de 1.93 cm<sup>2</sup> en la medición transversal, estos caballos en su mayoría eran de tipo Warmblood.<sup>46</sup>

En el presente trabajo, la porción de la RPNPL que se examinó histológicamente no presentó cambios. Se seccionó de 3 a 4 cm proximal al sitio de infiltración de la colagenasa (sitio de compresión); en su estudio, Toth (2008) postula que los cambios histológicos observados en la RPNPL (expansión del subperineuro, cuerpos de Renaut, hinchazón axonal, y necrosis con degeneración de mielina) de caballos clínicamente afectados con desmitis del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo, reflejan cambios más severos en la porción distal del nervio, en dónde el nervio se encuentra confinado entre el ligamento, los huesos metatarsianos y la fascia profunda.<sup>3</sup>

Resultados semejantes se reportaron cuando crearon experimentalmente la compresión del nervio ciático de hámsters, y observaron con microscopía electrónica y microscopia de luz cambios relacionados a la compresión (edema, engrosamiento del endoneurio y perineurio y cuerpos de Renault) en el sitio de la compresión, aunque también se observaron cambios menos severos proximalmente a este sitio.<sup>47</sup> En cadáveres humanos reportan haber observado macroscópicamente aumento de grosor del nervio en 2 de 5 nervios medianos y 3 de 5 nervios interóseos, y microscópicamente con microscopía de luz engrosamiento del epineuro y cuerpos de Renault proximal al sitio del atrapamiento, pero estos presentaban dichos cambios con mayor consistencia y severidad en el sitio de la compresión, concluyendo que estos cambios macroscópicos y microscópicos son ocasionados por la compresión en el sitio del atrapamiento y se propagan hacia proximal.<sup>48</sup>

Es posible que la porción de la RPNPL que evaluamos histológicamente no presentara cambios significativos relacionados con neuropatía por atrapamiento, debido a que el grado de compresión haya sido insuficiente para propagar los cambios hacia la porción proximal de la RPNPL, por lo que se sugiere evaluar dichos nervios en su sitio de atrapamiento.

Por otro lado, también es posible que no se observaran cambios histológicos en dichos nervios por no haber sufrido el atrapamiento durante más tiempo, ya que la neurectomía se realizó solamente 6 semanas después de la infiltración; en el estudio clínico reportado por Toth (2008) la claudicación era crónica con un rango de duración de 3 meses a 1 año.<sup>3</sup> Sin embargo, en un estudio donde se indujo una neuropatía por atrapamiento en hámsters, la cual provocaron al colocar quirúrgicamente una banda de silicón

sobre el nervio ciático, observaron cambios histológicos relacionados a la compresión (edema del endoneuro, engrosamiento del endoneuro y cuerpos de Renaut) a las 5 semanas después de inducir dicha compresión,<sup>49</sup> razón por la cual en este estudio se decidió remover el nervio a la sexta semana.

De las diferentes técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la DPLSM, se reporta la neurectomía con porcentajes de éxito de 91%<sup>9</sup> y 62.4%,<sup>3</sup> la neurectomía con fasciotomía con porcentajes de éxito de 95%<sup>8</sup> y 77.8%,<sup>10</sup> la fasciotomía con desmoplastia con porcentaje de éxito de 85%<sup>7</sup> y fasciotomía con la inyección de algún biológico (células madre, plasma rico en plaquetas), con un porcentaje de éxito de 82%<sup>50</sup>; no existen reportes del uso de fasciotomía sola, siendo todos los reportes a corto plazo, con excepción de Dyson (2011) quien realizó la neurectomía con fasciotomía y evalúa resultados a largo plazo y define éxito como mantener al caballo durante más de un año después de la cirugía sin presentar claudicación.<sup>10</sup> En el estudio observamos que 5 semanas después de la remoción quirúrgica de la RPNPL, ninguno de los caballos presentaba claudicación.

Aunque en el estudio se observó un aumento de volumen significativo del ligamento suspensor del menudillo después de la infiltración de colagenasa, debido a la degradación del colágeno dentro del mismo,<sup>37</sup> no se midió la presión causada por el incremento de volumen. Una sugerencia para futuros estudios podría ser la medición de la presión a la que se encuentran expuestos los nervios, como lo refieren en un estudio realizado en el nervio ciático de ratas, donde observaron degeneración axonal cuando la presión era de 40 Kpa y en los casos de menor presión no se observaron cambios.<sup>51</sup>

Con base en lo reportado sobre la atrofia neurogénica del ligamento suspensor del menudillo,<sup>25</sup> se sugiere dar seguimiento con ultrasonido a los ligamentos para comparar los resultados de las mediciones antes y después de la cirugía; con base en el reporte anecdótico<sup>10</sup> de lesiones catastróficas de ruptura del ligamento suspensor del menudillo se sugiere en estudio futuros evaluar histológicamente el ligamento suspensor del menudillo; de la misma forma podría sugerirse la evaluación de la claudicación a largo plazo para determinar si hay formación de neuromas como complicación de la neurectomía.<sup>52</sup>

Posterior a la infiltración con colagenasa, se administró fenilbutazona (2.2 mg/kg) a todos los caballos con la finalidad de reducir el grado de dolor en la zona de infiltración, existe la ligera posibilidad de que la administración de un antiinflamatorio no esterooidal pudiera haber limitado el grado de inflamación en la región.

En el estudio, los caballos se caminaron de mano una vez al día, en el estudio clínico de Toth (2008), los caballos realizaban su actividad deportiva normal, esto pudo no haber incrementado el daño a la región y por lo tanto el grado de compresión a la RPNPL, por esta razón es posible que no se presentaran cambios histológicos.

En el presente estudio, la dosis utilizada de colagenasa ocasionó un aumento de volumen del ligamento suspensor del menudillo y una claudicación del miembro pélvico infiltrado; pero no se presentaron los cambios histológicos observados en caballos diagnosticados con DPLSM, sin embargo, después de la cirugía ya no se observó la claudicación del miembro

pélvico infiltrado con colagenasa. Con base en esto, se sugiere evaluar la RPNPL con un mayor tiempo de exposición a la compresión y/o una dosis mayor de colagenasa.

## 9. LITERATURA CITADA

1. DYSON SJ. Proximal suspensory desmitis in the hind limb. WEVA Proceedings 2006; 9: 36-40
2. DYSON SJ, GENOVESE RL. The suspensory apparatus. In: ROSS MW, DYSON S. Diagnosis and Management of Lameness in the Horse. Philadelphia. Saunders, 2002: 654-672
3. TOTH F. SCHUMACHER J. SCHRAMME M. HOLDER T. ADAIR S. DONNELL R. Compressive damage to the deep branch of the lateral plantar nerve associated with lameness caused by proximal suspensory desmitis. Vet. Surg, 2008; 37:328-335
4. HERTHEL DJ. Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cells and other bone marrow components. AAEP Proceedings 2001; 47: 319-321
5. DYSON DJ. Proximal suspensory desmitis in the fore limb and the hind limb. AAEP Proceedings 2000; 46:137-142
6. CROWE OM. DYSON SJ. WRIGHT IM. SCHRAMME M. SMITH RW. Treatment of chronic or recurrent proximal suspensory desmitis using radial pressure wave therapy in the horse. Equine Vet. J. 2004; 36(4):313-316
7. HEWES CA. WHITE NA. Outcome of desmoplasty and fasciotomy for desmitis involving the origin of the suspensory ligament in horses: 27 cases (1995-2004). J. Am. Vet. Med. Ass. 2006; 229(3):407-412
8. BATHE A. Plantar metatarsal neurectomy and fasciotomy for treatment of hind limb proximal suspensory desmitis. ACVS Proceedings 2003; 13: CD ROM



9. KELLY G. Results of neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve for treatment of proximal suspensory desmitis. *ECVS Proceedings* 2007; 16:130-134
10. DYSON S. MURRAY R. Management of hind limb proximal suspensory desmopathy by neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve and plantar fasciotomy: 155 horses (2003-2008). *Equine Vet. J.* 2011; 44(3):361-367
11. KALYANI BS. FISHER BE. ROBERTS CS. GIANNUDIS PV. Compartment syndrome of the forearm: a systematic review. *J Hand Surg* 2011; 36A: 535 - 543
12. GIBSON KT. STEEL CM. Conditions of the suspensory ligament causing lameness in horses. *Equine Vet. Educ.* 2002; 14(1):39-50
13. SCHRAMME M. JOSSON A. LINDER K. Characterization of the origin and body of the normal equine rear suspensory ligament using ultrasonography, magnetic resonance imaging, and histology. *Vet. Radiol. Ultrasound* 2012; 53(3):318-328
14. DYSON S. The suspensory apparatus. In: RANTANEN N, McKINNON A. *Equine diagnostic ultrasonography*. Baltimore. Williams & Wilkins. 1998: 454
15. WILSON DA, BAKER GJ, PIJANOWSKI GJ. BOERO MJ. BADERTSCHER RR. Composition and morphologic features of the interosseous muscle in Standardbreds and Thoroughbreds. *Am J Vet Res.* 1991; 52:133-139
16. SOFFLER C. HERMANSON JW. Muscular design in the equine interosseus muscle. *J Morphol* 2006: 267;696-704

17. BUDRAS K, SACK WO, ROCK S. Anatomy of the horse, an illustrated text 2nd ed. Mosby Wolf London 1994: 113-114
18. DENOIX JM. Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes). Vet Clin N Amer: Equine Practice 1994; 10(2):273-319
19. REMPEL D. DAHLIN L. LUNDBORG G. Pathophysiology of nerve compression syndromes: Response of Peripherals nerves to loading. J Bone Joint Surg 1999; 81-A(11):1600-1610
20. KIER JP. REMPEL MD. Pathomechanics of peripheral nerve loading. Evidence in carpal tunnel syndrome. J Hand Ther 2005; 18(2):259-269
21. REMPEL MD, DIAO E. Entrapment neuropathies: pathophysiology and pathogenesis. J Electromyogr Kinesiol 2004; 14:71-75
22. MACKINNON ES. Pathophysiology of nerve compression. Hand Clin 2002; 18:231-241
23. HUGHES TK. ELIASHAR E. SMITH RK. In vitro evaluation of a single injection technique for diagnostic analgesia of the proximal suspensory ligament of the equine pelvic limb. Vet Surg. 2007; 36:760-764
24. SISSON S. Syndesmology. In: SISSON AND GROSSMAN'S The anatomy of the domestic mammals. Philadelphia Saunders. 349 – 375
25. PAWELS F. SCHUMACHER J. MAYHEW J. VAN SICKLE D. Neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve can cause neurogenic atrophy of the muscle fibres in the proximal suspensory ligament (M. interosseous medius). Equine Vet. J. 2009; 41:508-510

26. MARTINS RS, BASTOS D, SIQUEIRA M, HEISE C, TEIXEIRA M. Traumatic injuries of Peripherals nerves: a review with emphasis on surgical indication. *Arq Neuropsiquiatr* 2013; 71(10): 811 - 814
27. CAMPBELL WW. Evaluation and Management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiology*. 2008; 119:1951-1965
28. SOMMER C. GALBRATH AJ. HECKMANN MH. MYERS RR. Pathology of experimental compression neuropathy producing hyperesthesia. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1993; 52(3):223-233
29. MACKINNON SE. DELLON AL. HUDSON AR. HUNTER DA. Chronic human nerve compression – a histological assessment. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1986; 12:547-565
30. ORTMAN AJ. SAHENK AJ. MENDEL JR. The experimental production of renaud bodies. *J Neurol Sci*. 1983; 62:233-241
31. WATANABE K. Collagenolytic proteases from bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 2004; 63:520-526
32. THOMAS A. BAYAT A. The emerging role of Clostridium histolyticum collagens in the treatment of Dupuytren disease. *Ther Clini Risk Manag*. 2010; 6:557-572
33. MOOKHTIAR KA. VAN WARTH HE. Clostridium histolyticum collagenase: A new look at some old enzymes. *Matrix Suppl* 1992; 1:116-126
34. MATSUSHITA O. JUNG CM. MINAMI J. KATAYAMA S. NISHI N. OKABE A. atsushita O. Et al. A study of the collagen-binding domain of a 116-kD a Clostridium histolyticum collagenase. *J Biol Chemi* 1998; 273(6):3643-3648

35. CAMINOTO EH. ALVES G. AMORIM RL. THOMASSIAN A. HUSSNI AC. NICOLETTI M. Ultrastructural and immunocytochemical evaluation of the effects of extracorporeal shock wave treatment in the hind limbs of horses with experimentally induced suspensory desmitis. *Am J Vet Res.* 2005; 66:892-896
36. McCLURE S. VANSICKLE D. EVANS R. REINERTSON EL. MORAN L. The effects of extracorporeal shock-wave therapy on the ultrasonographic and histologic appearance of collagenase-induced equine forelimb suspensory ligament desmitis. *Ultrasound in Med. & Biol.* 2004; 30(4):461-467
37. WILLIAMS IF. Studies on the pathogenesis of equine tendinitis following collagenase injury. *Res Vet Sci.* 1984; 36:326-338
38. REDDING WR. BOOTH LC. POOL RR. The effects of polysulphated glycosaminoglycan on the healing of collagenase induced tendinitis. *Vet Comp Orthop Traumatol* 1999; 12:48-55
39. FOLAND JW. TROTTER GW. POWERS BE. WRIGLEY RH. SMITH FW. Effect of sodium hyaluronate in collagenase-induced superficial digital flexor tendinitis in horses. *Am J Vet Res.* 1992; 53:2371-2376
40. KANEPS AJ. Surgical options for treating tendon and ligament injuries. *Clin Tech Equine Pract.* 2007; 6:209-216
41. THOMAS A. Hematoxilina y Eosina. Métodos Histotecnológicos. Registro de Patología de los Estados Unidos de América (ARP) y el Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). 1995: 55 - 58

42. MARSH C. SCHNEIDER RK. FRISBIE DD. ROBERTS GD. NEELIS D. YIANNIKOURIS S. et al. Evaluation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells as a treatment for collagenase-induced desmitis of the proximal suspensory ligament in horses. AAEP Proceedings 2012; 58:54-55
43. REEF V. Musculoskeletal ultrasonography In: REEF V. Equine diagnostic ultrasound. Philadelphia WB Saunders. 1998: 61-62
44. STANIAR WB. KRONFELD DS. TREIBER KH. SPLAN RK. HARRIS PA. Growth rate consists of baseline and systematic deviation components in Thoroughbreds. J Anim Sci. 2004; 82:1107-1015
45. PADALINO B. ZACCAGNINO P. CELI P. The effect of different types of physical exercise on the behavioural and physiological parameters of standardbred horse housed in single stalls. Vet Med Int. 2014; 2014:1-8
46. LABENS R. SCHRAMME M. ROBERTSON ID. THRALL DE. REDDING WR. Clinical, magnetic resonance, and sonographic imaging findings in horses with proximal plantar metatarsal pain. Vet Radiol. Ultrasound 2010; 51(1):11-18
47. PRINZ AD. NAKAMURA-PEREIRA M. DE-ARY-PIRES B. FERNANDES D. FABIAO-GOMES B. MARTINEZ AM. et al. Axonal and extracellular matrix responses to experimental chronic nerve entrapment. Brain. Res. 2005; 1044: 164-175
48. HILL S. HALL S. Microscopic anatomy of the posterior interosseous and median nerves at sites of potential entrapment in the forearm. J Hand Surg. 1999; 24B(2):170-176

49. PRINZ AD. NAKAMURA-PEREIRA M. DE-ARY-PIRES B. FERNANDES D. FABIAO-GOMES B. MARTINEZ AM. et al. Experimental chronic entrapment of the sciatic nerve in adult hamsters: an ultrastructural and morphometric study. *Braz J Med Biol Res.* 2003; 36(9):1241-1245
50. JUDY C. Surgical management of suspensory ligament injuries. *ACVS Proceedings 2009: CD ROM*
51. MYERS RR. MIZISIN AP. POWELL HC. LAMPERT PW. Reduced nerve blood flow in hexachlorophene neuropathy: relationship to elevated endoneurial fluid pressure. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1982; 41(4):391-399
52. JACKMAN BR. BAXTER GM. DORAM RE. ALLEN D. PARKS AH. Palmar digital neurectomy in horses. 57 cases (1984-1990). *Vet Surg.* 1993; 22(4):285-288
53. FERRARO GL. STOVER SM. WHITCOMB MB. Suspensory ligament injuries in horses. *Center of Equine Health UC Davis*
54. WALDRAM M. Peripheral nerve injuries. *Trauma.* 2003; 5:79-96
55. MOYER W. SCHUMACHER J. SCHUMACHER J. A guide to equine joint injection and regional anesthesia. *Academic Veterinary Solutions* 2011; 53
56. ELCOCK LE. STUART BP. HOSS HE. CRABB K. MILLARD D. MUELLER RE. Renault bodies in the sciatic nerve of beagle dogs. *Exp Toxic Pathol.* 2001; 53:19-24

## 10. FIGURAS

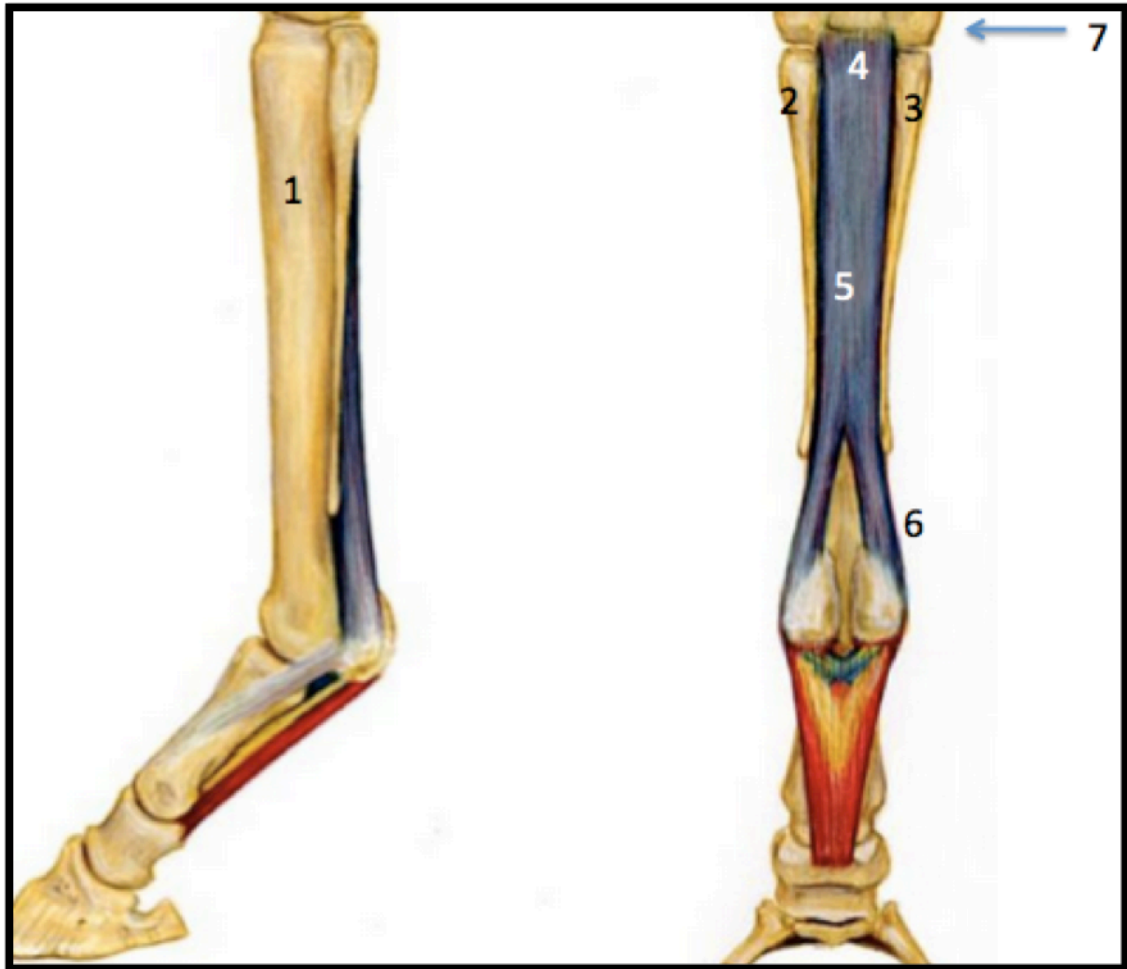


FIGURA 1. Disposición anatómica del ligamento suspensor del menudillo y estructuras adyacentes

1. Metatarso III 2. Metatarso II 3. Metatarso IV 4. Origen 5. Cuerpo 6. Ramas  
7. Fila distal de los huesos del tarso

Tomado de: FERRARO GL. STOVER SM. WHITCOMB MB. Suspensory ligamento injuries in horses. Center of Equine Health UC Davis<sup>53</sup>

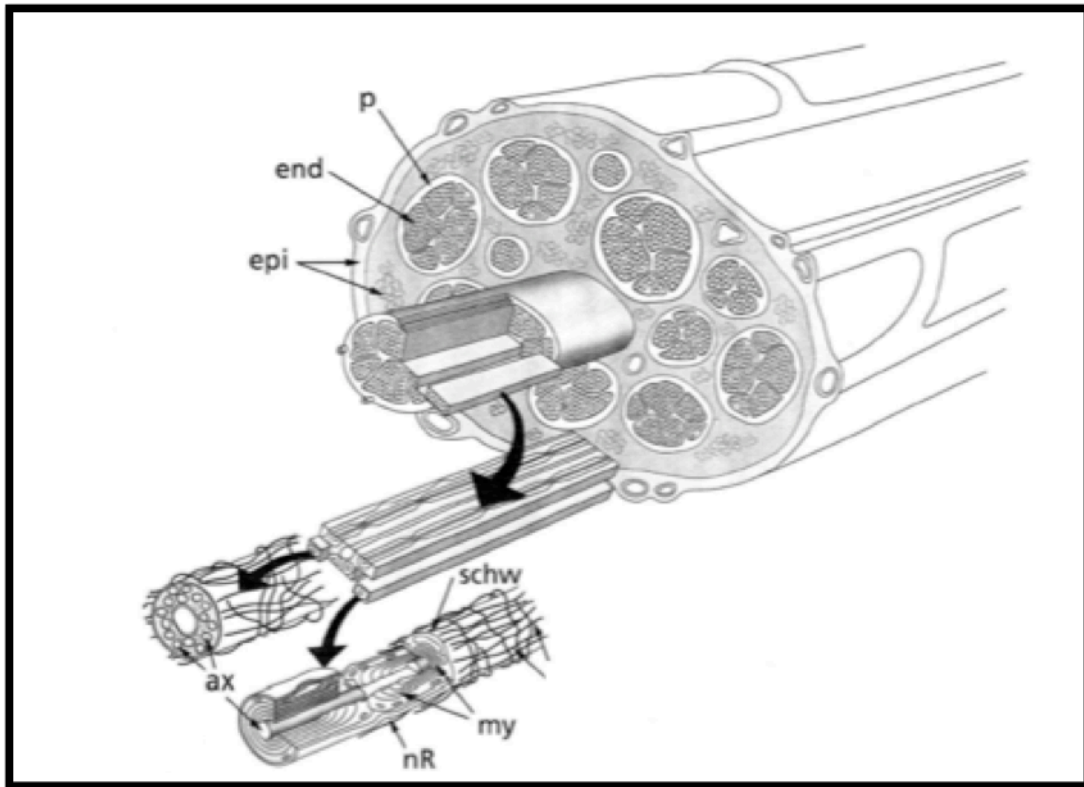


Figura 2. Esquema de la anatomía de los nervios periféricos

P = perineuro, end = endoneuro, epi = epineuro, ax = axón, nR = Nodo de Ranvier, my = mielina, schw = células de Schwann.

Tomado de: WALDRAM M. Peripheral nerve injuries. Trauma. 2003; 5:79-96<sup>54</sup>



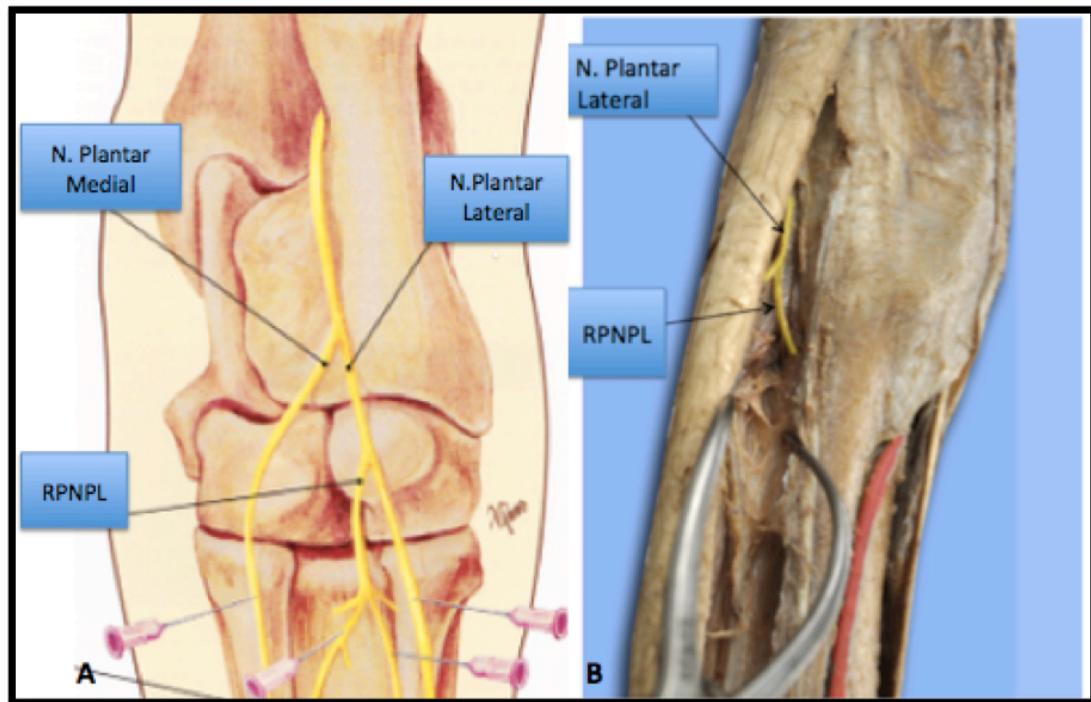


Figura 3. A. Esquema de la inervación del aspecto proximal de la región del metatarso. B. Disección mostrando el nervio platar lateral y la RPNPL.

Modificado de: MOYER W. SCHUMACHER J. SCHUMACHER J. A guide to equine joint injection and regional anesthesia. Academic Veterinary Solutions 2011; 53<sup>55</sup>

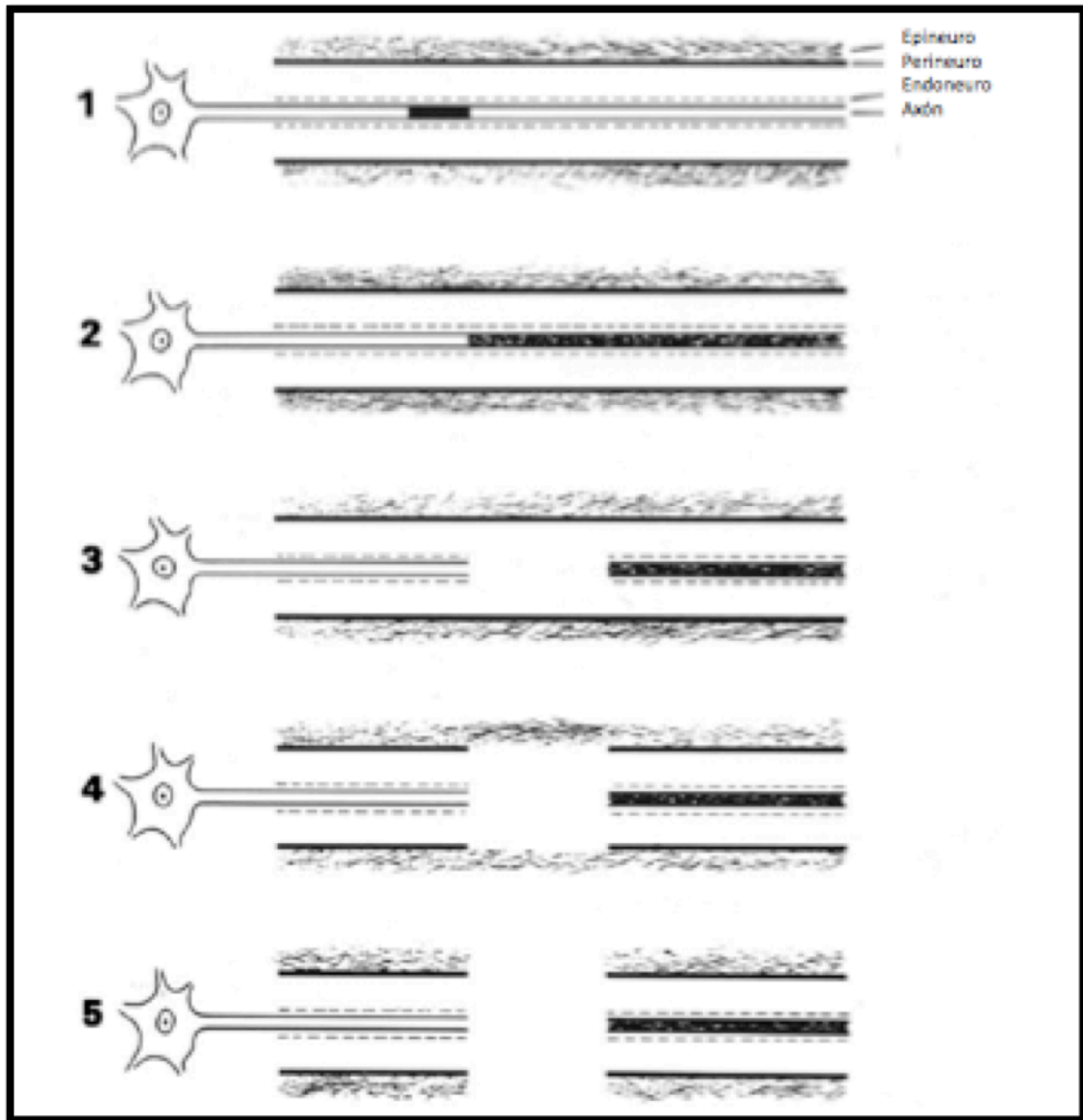


Figura 4. Diagrama de la clasificación de Sunderland 1 = primer grado de lesión, 2 = segundo grado de lesión, 3 = tercer grado de lesión, 4 = cuarto grado de lesión, 5 = quinto grado de lesión.

Modificado de: CAMPBELL WW. Evaluation and Management of peripheral nerve injury. Clin Neurophysiology. 2008; 119:1951-1965<sup>27</sup>

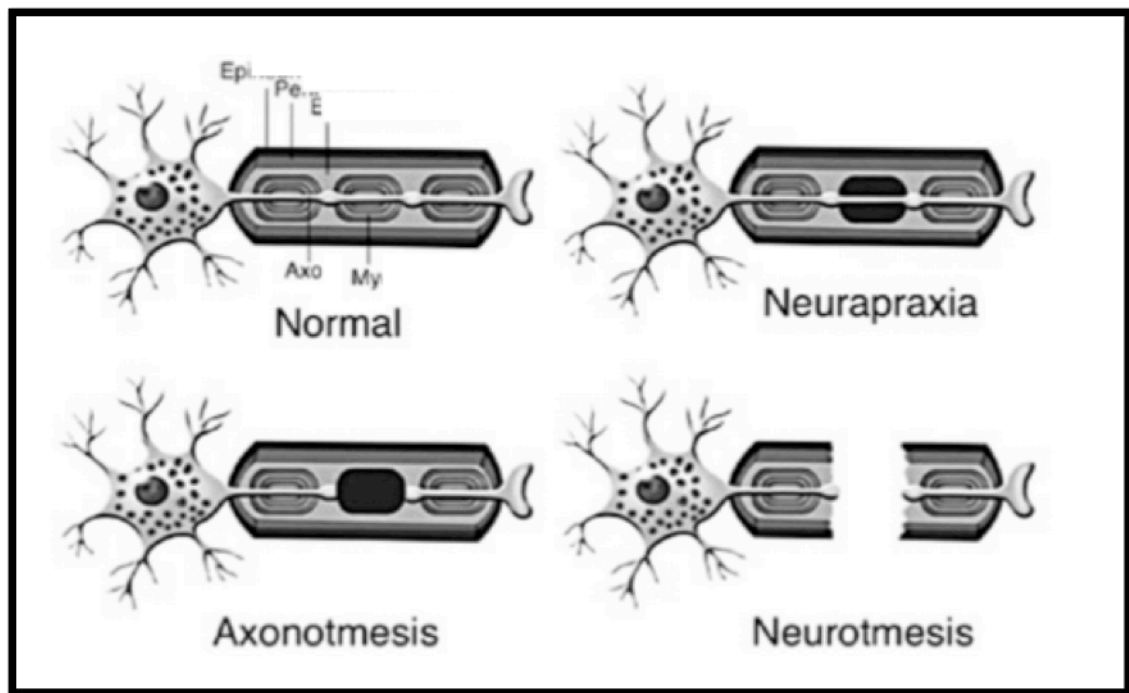


Figura 5. Diagrama de la clasificación de Seddon.

Epi = epineuro, Pe = perineuro, E = endoneuro, Axo = axón, My = mielina

Modificado de: MARTINS RS, BASTOS D, SIQUEIRA M, HEISE C, TEIXEIRA M. Traumatic injuries of Peripherals nerves: a review with emphasis on surgical indication. Arq Neuropsiquiatr 2013; 71(10): 811 – 814<sup>23</sup>

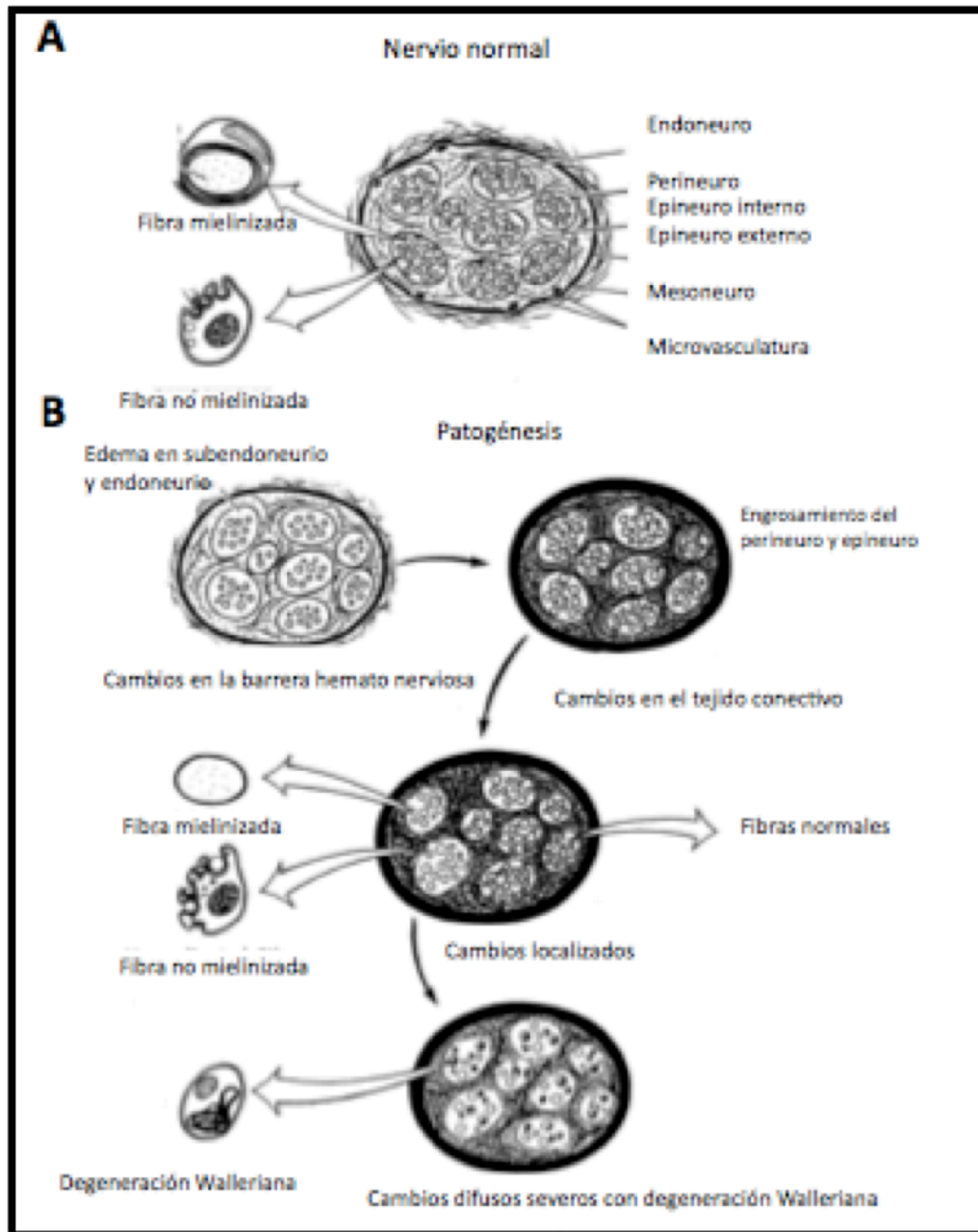


Figura 6. Patogénesis de la compresión de los nervios

Modificado de: MACKINNON ES. Pathophysiology of nerve compression.

Hand Clin 2002; 18:231-241<sup>22</sup>

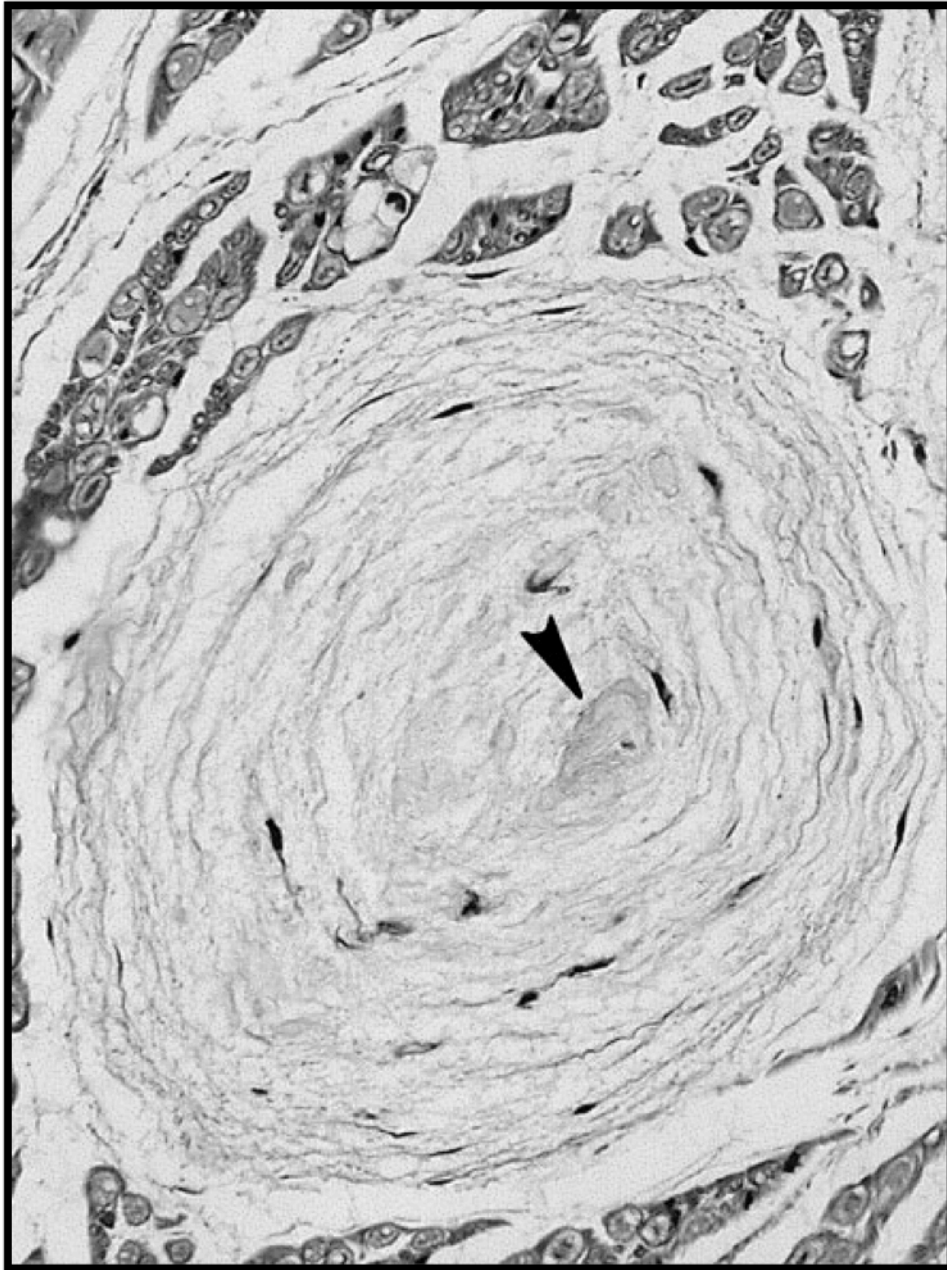


Figura 7. Cuerpo de Renaut en la rama tibial del nervio ciático de un perro Beagle. Tinción H&E x25 Flecha negra: parte central del Cuerpo de Renaut

Tomado de: ELCOCK LE. STUART BP. HOSS HE. CRABB K. MILLARD D. MUELLER RE. Renaut bodies in the sciatic nerve of beagle dogs. *Exp Toxic Pathol.* 2001; 53:19-24<sup>56</sup>

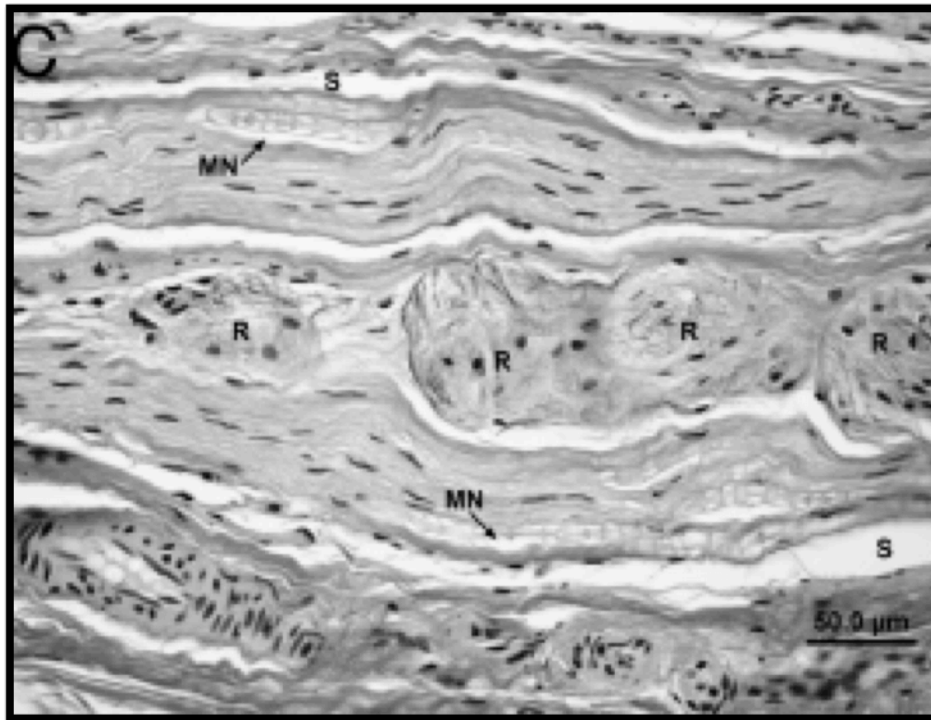


Figura 8. Fotomicrografía de un corte longitudinal de un fascículo de una rama profunda del nervio plantar lateral de caballo diagnosticado con DPLSM. S = subperineuro MN = fibras mielinizadas normales R = Cuerpos de Renaut. Tinción H&E x40

Tomado de: TOTH F. SCHUMACHER J. SCHRAMME M. HOLDER T. ADAIR S. DONNELL R. Compressive damage to the deep branch of the lateral plantar nerve associated with lameness caused by proximal suspensory desmitis. *Vet. Surg*, 2008; 37:328-335<sup>3</sup>

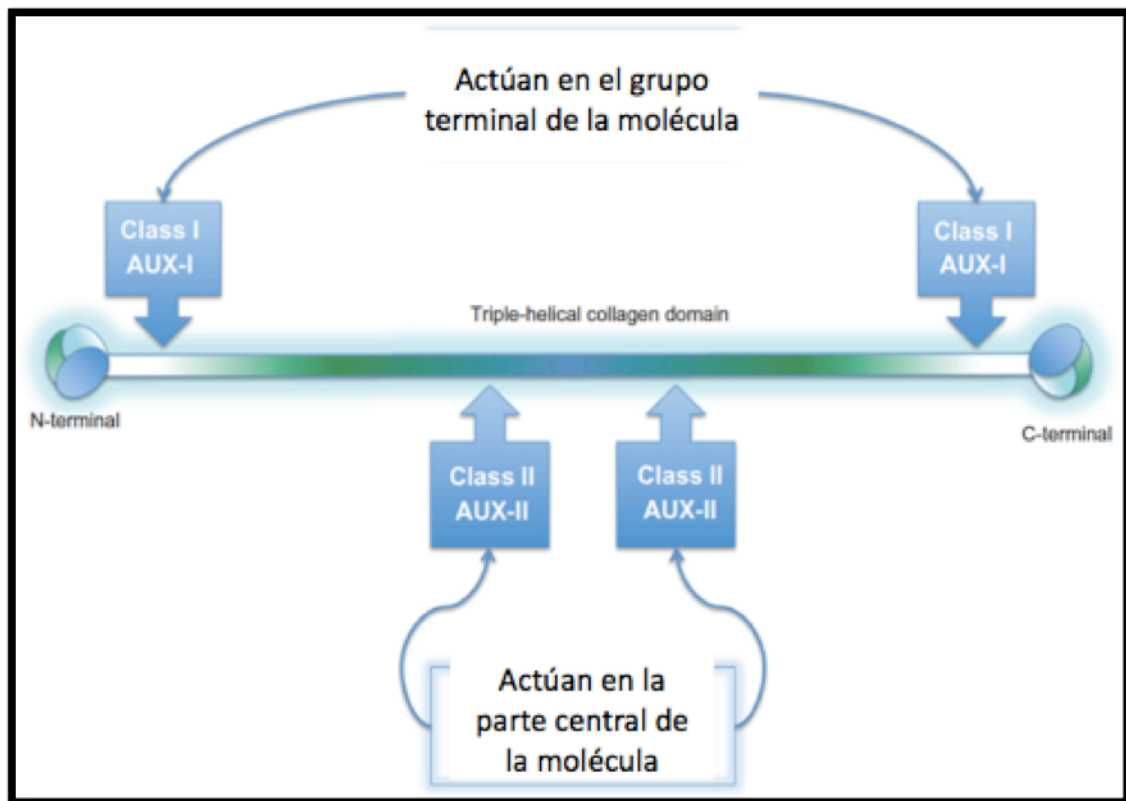


Figura 9. Ilustración del sitio de acción de las diferentes clases de collagenasa en la molécula de colágeno. Class I = Clase I, Class 2 = Clase 2 Triple-helical collagen domain = Triple helice de colágeno

Modificado de: THOMAS A. BAYAT A. The emerging role of *Clostridium histolyticum* collagens in the treatment of Dupuytren disease. Ther Clini Risk Manag. 2010; 6:557-572<sup>32</sup>



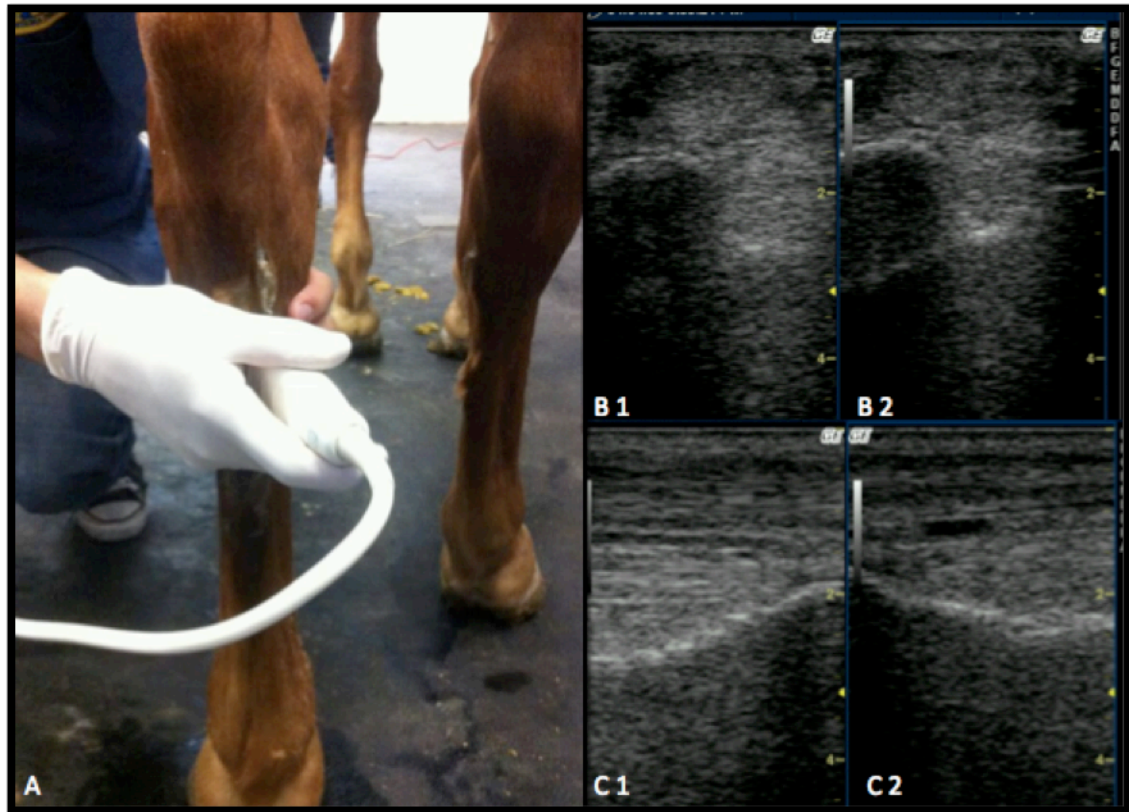


Figura 10. A. Examen ultrasonográfico del ligamento suspensor del menudillo. B 1. Proyección transversal del ligamento suspensor del menudillo seleccionado como tratamiento. B 2. Proyección transversal del ligamento suspensor del menudillo seleccionado como control. C 1. Proyección longitudinal del ligamento suspensor del menudillo seleccionado como tratamiento. C 2. Proyección longitudinal del ligamento suspensor del menudillo seleccionado como control.



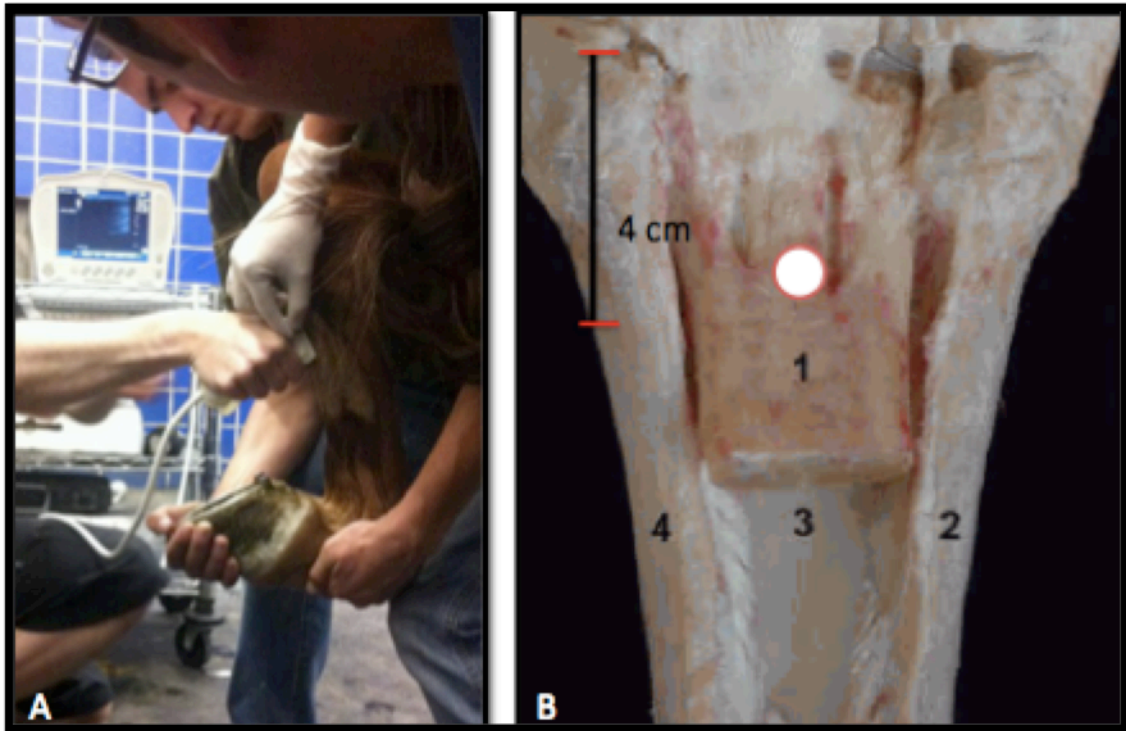


Figura 11. A. Sitio de la infiltración de collagenasa B. Espécimen mostrando el sitio de infiltración de la collagenasa. 1. Aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo 2. Metatarso II 3. Metatarso III 4. Metatarso IV. Círculo Blanco = Sitio donde se infiltró la collagenasa

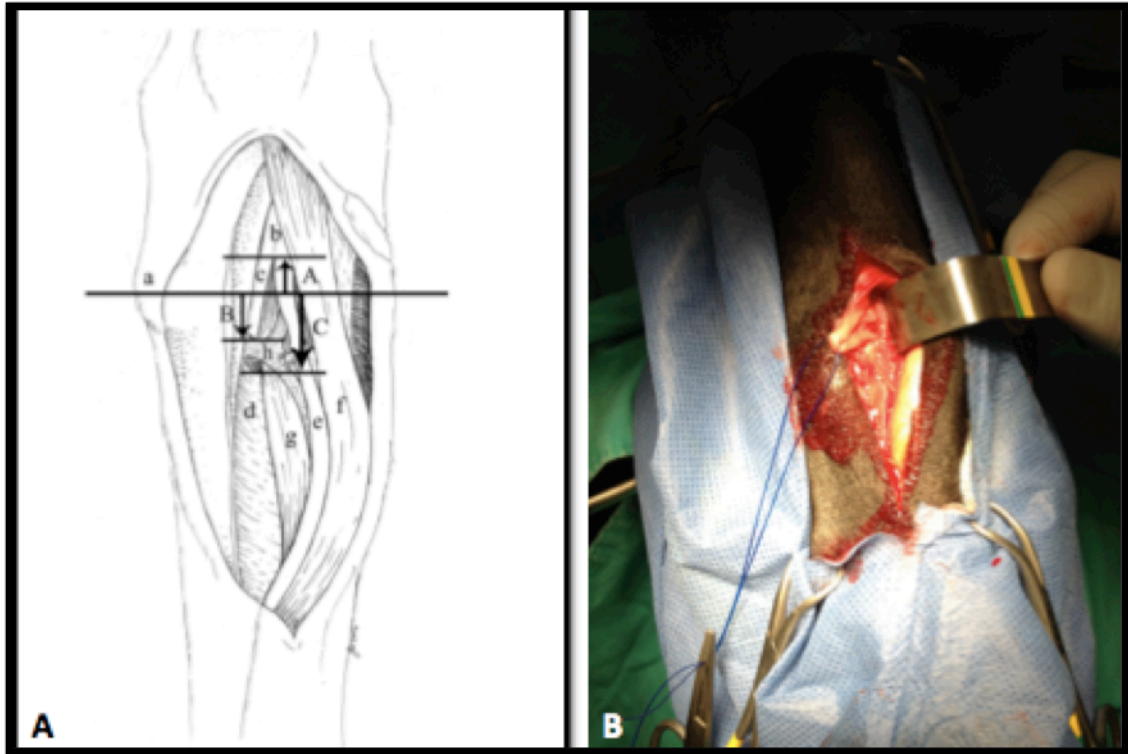


Figura 12. A. Diagrama de la disección del nervio plantar lateral y de la rama profunda del nervio plantar lateral. a = cabeza del metatarso IV, b = bifurcación de la RPNPL del nervio plantar lateral, c = RPNPL, d = fascia plantar, e = nervio plantar lateral, f = tendón flexor digital superficial, g = tendón flexor digital profundo. B. Foto de la neurectomía de la RPNPL, el nervio plantar lateral está siendo retraído por una sutura.

Tomado de: HUGHES TK. ELIASHAR E. SMITH RK. In vitro evaluation of a single injection technique for diagnostic analgesia of the proximal suspensory ligament of the equine pelvic limb. *Vet surg.* 2007; 36:760-764<sup>23</sup>

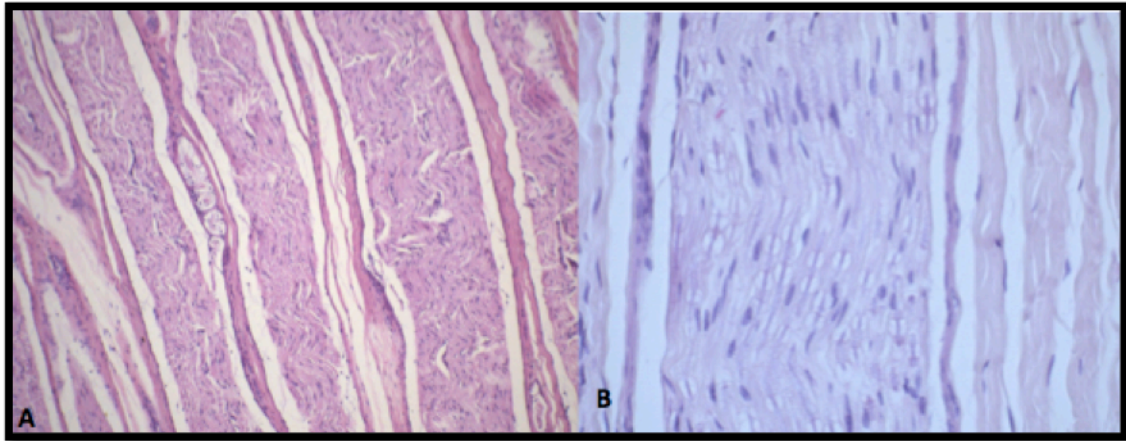


Figura 13. A. Fotomicrografía de un corte longitudinal de un fascículo de una RPNPL del caballo No. 2 del miembro pélvico seleccionado como tratamiento. Tinción H&E x10. B. Fotomicrografía de un corte longitudinal de un fascículo de una RPBPL del caballo No. 1 del miembro pélvico seleccionado como control. Tinción H&E x40.

## 11. CUADROS

Cuadro 1. Características de los caballos y miembro pélvico seleccionado como tratamiento

Caballo	Peso (kg)	Edad (años)	Raza	Sexo	Tratamiento
No. 1	455	12	PSI	yegua	derecho
No. 2	248	13	criollo	yegua	izquierdo
No. 3	349	5	criollo	macho castrado	izquierdo
No. 4	388	8	criollo	macho castrado	derecho
No. 5	317	8	criollo	macho entero	izquierdo
No. 6	363	7	criollo	yegua	derecho

Cuadro 2. Examen físico general

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6
FC	32	34	32	36	34	32
FR	14	12	12	14	12	14
T	37.6	37.9	38	38.1	37.9	38
Tllc	< 2 seg	< 2 seg	< 2 seg	< 2 seg	< 2 seg	< 2 seg
CMM	rosas	rosas	rosas	rosas	rosas	rosas
SI	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes	presentes
AP	SCPA	SCPA	SCPA	SCPA	SCPA	SCPA

FC: frecuencia cardiaca, FR: frecuencia respiratoria, T: temperatura, Tllc: tiempo de llenado capilar, CMM: color de mucosas, SI: sonidos intestinales, AP: auscultación de campos pulmonares. SCPA: sin cambios patológicos aparentes.

Cuadro 3. Claudicación después de la infiltración con colagenasa

Caballo		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6
No. 1	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
No. 2	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
No. 3	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
No. 4	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
No. 5	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
No. 6	Tx	3/5	3/5	3/5	2/5	2/5	2/5
	Ct	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Promedios							
<b>Tratamiento</b>		<b>3/5</b>	<b>3/5</b>	<b>3/5</b>	<b>2/5</b>	<b>2/5</b>	<b>2/5</b>
<b>Control</b>		<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>

Cuadro 4. Medición en la proyección transversal con ultrasonido

	DIA 0		DIA 21		DIA 41		DIFERENCIA EN %	
	TRATAMIENTO	CONTROL	TRATAMIENTO	CONTROL	TRATAMIENTO	CONTROL	TRATAMIENTO	CONTROL
	1.17	1.00	1.59	0.95	1.69	1.05	44.40	5.00
	1.13	1.10	1.50	0.90	1.49	0.96	31.80	12.70
	1.18	1.12	1.70	1.10	1.79	1.17	51.60	4.40
	1.17	1.12	1.77	1.03	1.66	1.31	41.80	16.90
	1.13	1.10	1.62	1.09	1.62	1.10	43.36	0.00
	1.29	1.27	1.66	1.33	1.64	1.38	27.13	8.60

Diferencia en porcentaje del tamaño del ligamento suspensor del menudillo del día 0 al día 41 en los ligamentos seleccionados como tratamiento y en los seleccionados como control.

Cuadro 5. Medición en la proyección longitudinal con ultrasonido

	<b>DIA 0</b>		<b>DIA 21</b>		<b>DIA 41</b>		DIFERENCIA	EN %
	<b>CONTROL</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>CONTROL</b>	<b>TRATAMIENTO</b>	<b>DIA 0 VS</b>	<b>DIA 41</b>
<i>TRATAMIENTO</i>	<i>CONTROL</i>	<i>TRATAMIENTO</i>	<i>CONTROL</i>	<i>TRATAMIENTO</i>	<i>CONTROL</i>	<i>TRATAMIENTO</i>	<i>CONTROL</i>	
1.04	1.06	1.36	1.10	1.40	1.08	34.62	1.80	
1.15	1.18	1.43	1.21	1.38	1.11	20.00	5.90	
1.07	1.00	1.49	1.11	1.57	1.08	46.73	8.00	
1.14	1.13	1.55	1.09	1.50	1.10	31.58	2.60	
0.99	0.98	1.47	1.07	1.50	1.11	51.52	13.20	
1.12	1.12	1.41	1.14	1.55	1.16	38.39	3.50	

Diferencia en porcentaje del tamaño del ligamento suspensor del menudillo del día 0 al día 41 en los ligamentos seleccionados como tratamiento y en los seleccionados como control.

Cuadro 6. Claudicación después de la neurectomía de la RPNPL

Caballo		Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
No. 1	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	3/5	3/5	2/5
No. 2	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	2/5	0/5	0/5
No. 3	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	2/5	0/5	0/5
No. 4	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	2/5	0/5	0/5
No. 5	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	2/5	0/5	0/5
No. 6	Tx	3/5	2/5	0/5	0/5
	Ct	3/5	2/5	0/5	0/5
Promedios					
<b>Tratamiento</b>		<b>3/5</b>	<b>2/5</b>	<b>0/5</b>	<b>0/5</b>
<b>Control</b>		<b>3/5</b>	<b>2.1/5</b>	<b>0.5/5</b>	<b>0.3/5</b>