



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD Y LA PRODUCCIÓN ANIMAL

“EFECTOS PRODUCIDOS POR LA NEURECTOMIA DE LA RAMA PROFUNDA DEL NERVIO PALMAR LATERAL, SOBRE LAS FIBRAS MUSCULARES EN LA PARTE PROXIMAL DEL LIGAMENTO SUSPENSOR (M. INTEROSEO MEDIO) EN CABALLOS CON DESMITIS INDUCIDA”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCION Y DE LA SALUD ANIMAL

PRESENTA:

LUZ GABRIELA LÓPEZ NAVARRO

TUTOR: DR. FRANCISCO J. TRIGO TAVERA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM.

COMITÉ TUTORAL:

DRA. DINORAH VARGAS ESTRADA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, UNAM

DR. GABRIEL GUTIÉRREZ OSPINA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. , ENERO 2017.



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.

RESUMEN:

**“EFECTOS PRODUCIDOS POR LA NEURECTOMIA DE LA RAMA PROFUNDA DEL NERVIO PALMAR LATERAL (RPNPaL), SOBRE LAS FIBRAS MUSCULARES EN LA PARTE PROXIMAL DEL LIGAMENTO SUSPENSOR (M. INTEROSEO MEDIO) EN CABALLOS CON DESMITIS INDUCIDA”**

Lopez NG <sup>1</sup>, Trigo TF<sup>1</sup>, Rodriguez MA<sup>1</sup>, Ospina GG,<sup>1</sup> Vargas ED<sup>1</sup>, Schumacher J <sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNAM, <sup>2</sup>Auburn University.

**Introducción.** La desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo (DPLSM) es una causa común de claudicación en los caballos, tanto en miembros torácicos como en los miembros pélvicos. Existe evidencia clínica de que la neurectomía de la rama profunda del nervio plantar lateral (RPNPL) ha dado buenos resultados y se ha convertido en una opción común para el tratamiento de DPLSM en miembros pélvicos de caballos, encontrándose evidencia de neuropatía por compresión. En miembros torácicos no existen estudios, por lo que el propósito de este proyecto es determinar si la DPLSM en miembros torácicos puede inducir neuropatía por compresión y si la neurectomía de la rama profunda del nervio palmar lateral (RPNPaL) puede utilizarse como una opción de tratamiento en casos de DPLSM en miembros torácicos de caballos.

**Objetivo.** Determinar los cambios histológicos que produce la DPLSM en la RPNPaL y en las fibras musculares en el origen del ligamento suspensor después de la neurectomía de la rama profunda del nervio palmar lateral en miembros torácicos en caballos con lesión inducida mediante colagenasa comparados con el grupo control.

**Material y Métodos.** Se utilizaron 16 caballos de diferentes razas y edades, clínica y biomecánicamente sanos y sin evidencia de DPLSM. Posteriormente se les indujo desmitis mediante el uso de colagenasa, guiada con ecografía, en uno de los dos miembros torácicos aleatoriamente. Ocho semanas después fueron sometidos a neurectomía de la RPNPaL donde 2 cm de nervio fueron removidos para su evaluación histológica. Los caballos fueron evaluados biomecánicamente buscando la presencia de claudicación. Posteriormente los caballos fueron sometidos a Eutanasia y la porción proximal del ligamento suspensor fue evaluada histológicamente.

**Resultados.** Todos los ligamentos suspensores en su porción proximal presentaron evidencia de atrofia muscular después de la neurectomía de la RPNPaL. Los miembros donde se indujo la desmitis presentaron mayor cantidad de fibras musculares atrofiadas así como reemplazo por tejido adiposo de las mismas, comparados con el control. Los nervios de los miembros torácicos donde se indujo desmitis mediante colagenasa presentaron cambios sugestivos de neuropatía por compresión, tales como: proliferación de la matriz mixomatosa del endoneuro, degeneración de la mielina y cuerpos de Renaut.

**Discusión.** Las claudicaciones persistentes en miembros torácicos en caballos con DPLSM pueden estar causadas por compresión de la RPNPaL, la cual inerva la porción proximal del ligamento

suspensor, pudiendo ser la causa de dolor que se presenta en caballos con claudicaciones persistentes y refractarias a tratamientos médicos.

**Conclusión.** La neurectomía de la RNPAL produjo atrofia de las fibras musculares de la porción proximal del ligamento suspensor, siendo más pronunciada en los ligamentos donde se indujo la desmitis, comparados con los controles. La neuropatía por compresión puede ser la causa de dolor en caballos con claudicaciones crónicas que presentan DPLSM.

**Palabras clave:** Neurectomía, rama profunda nervio palmar lateral, caballos, histopatología, desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo, atrofia muscular, degeneración nerviosa.

**“COMPARATIVE STUDY OF HISTOLOGICAL CHANGES IN THE DEEP BRANCH OF THE LATERAL PALMAR NERVE (DBLPaN) IN HORSES WITH INDUCED PROXIMAL SUSPENSORY DESMITIS (PSD) AND IN THE PROXIMAL SUSPENSORY LIGAMENT (PSL) AFTER NEURECTOMY OF THE DBLPaN.”**

Lopez NG<sup>1</sup>, Trigo TF<sup>1</sup>, Rodriguez MA<sup>1</sup>, Ospina GG,<sup>1</sup> Vargas ED<sup>1</sup>, Schumacher J<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UNAM, <sup>2</sup>Auburn University.

**Introduction.** The aim of this study was to determine if the DBLPaN has lesions that suggest compression neuropathy as a source of pain in horses that have PSD. Histologic features of the DBLPaN and the PSL of the lame thoracic limb of horses with collagen-induced PSD were compared with those controls.

**Objective.** To compare histological features in the DBLPaN and in the PSL of horses with induced proximal suspensory desmitis of a thoracic limb with histological features of this nerve and in the PSL in the contralateral control limb.

**Methods.** Adult mixed breed horses (n=16) with no evidence of PSD. Desmitis was induced randomly in a thoracic limb by ultrasound-guided injection of collagenase. Eight weeks later a 2 cm portion of the deep branch of the (DBLPaN) was removed from both thoracic limbs and horses were evaluate for the presence of lameness. Eight weeks later horses were euthanized and all PSL were histologically evaluated.

**Results.** All 24 PSL has gross evidence of atrophy after the neurectomy of the (DBLPaN). Collagenase treated ligaments had a higher incidence of atrophied muscle fibers and fatty replacement of muscle than did the un-injected control ligaments. The DBPaLNs of horses with collagen-induced desmitis had evidence of degenerative nerve compression such as: proliferation of endoneural myxomatous matrix, Renault bodies and myelin degeneration.

**Discussion** Persistence of thoracic limb lameness in horses with PSD may be caused by compression of the DBPaLN, which innervates the proximal aspect of the suspensory ligament and may be the cause of pain causing lameness rather than pain originating within the proximal aspect

of the suspensory ligament.

### **Conclusions**

After neurectomy of the DBPaLN muscular atrophy in PSL is more pronounced in the ligaments injected with collagenase than in untreated ligaments. Chronic lameness in horses affected with PSD is caused by compression neuropathy.

The protocol was approved by the FMVZ-UNAM Institutional Animal Care and Use Committee. (CICUA)

Key Words: Neurectomy of the deep branch of the lateral palmar nerve, horses, histopathology, proximal suspensory desmitis, muscle atrophy, nerve degeneration.

## Contenido

1. Introducción	6
2. Revisión de la Literatura	7
2.1 Anatomía de la Región	8
2.2 Desmitis proximal del ligamento suspensor del menudillo	9
2.3 Neurectomía de la rama profunda del nervio plantar lateral (RPNPL).	10
2.4 Neuropatías por atrapamiento	11
2.4.1 Grados de lesión nerviosa	12
2.4.2 Patofisiología	12
2.4.3 Histopatología	13
2.5 Colagenasa como agente para producir una lesión.	13
2.5 Modelo en caballos	13
3. Justificación del Proyecto	14
4. Objetivo	15
6. Hipótesis	16
7. Material y Métodos	16
7.1 Fase de Campo	17
7.2 Examen ecográfico	17
7.3 Inyección de Colagenasas.	18
7.4 Evaluación de la claudicación.	19
7.5 Neurectomía de la Rama Profunda del Nervio Palmar Lateral (RPNPaL).	19
7.6 Fase de Laboratorio	20
7.6.1 Procedimiento de Tinción.	21
7.7 Histopatología	21
7.8 Técnica de Citocromo Oxidasa para Tejido Fresco.	21
8. Análisis estadístico	21
9. Resultados	22
10. Discusión.	23
11. Conclusiones.	29
12. Referencias	31
13. Anexo	39

## 1.- INTRODUCCIÓN.

La desmitis de la porción proximal del ligamento suspensor del menudillo (DPLSM) es una condición comúnmente diagnosticada en caballos deportivos, en todas las funciones zootécnicas, tanto en miembros anteriores como en posteriores.<sup>1,2</sup> La desmitis del ligamento suspensor puede presentarse uni o bilateralmente.<sup>3,4</sup> Los tratamientos incluyen: confinamiento del caballo hasta por un año<sup>4</sup>; inyección de corticosteroides en el tejido adyacente a la porción proximal del ligamento suspensor<sup>4</sup>; aplicación directa de médula ósea o plasma rico en plaquetas autólogos en el sitio de la lesión<sup>5,6</sup>; terapia con ondas de choque de tipo radial<sup>7</sup> y herraje ortopédico especial como el herraje de huevo<sup>8</sup>. Alrededor del 90 % de los caballos que presentan claudicación debido a la DPLSM en miembros anteriores llegan a presentar una franca mejoría después de un periodo de confinamiento, pero la recurrencia de la lesión una vez que regresan a su función zootécnica es alta y una vez que esta desmitis se vuelve crónica, la claudicación es permanente y los tratamientos antes mencionados se vuelven inefectivos.<sup>9,10,11</sup>

En un estudio se observó que solamente 6 de 42 caballos (14%) con DPLS de uno o ambos miembros posteriores, regresó a su función zootécnica original por un periodo no mayor a un año, debido a la recurrencia de la lesión.<sup>10</sup>

El ligamento suspensor del miembro posterior está inervado por las ramas plantares metatarsianas lateral y medial, que se originan de la rama profunda del nervio plantar lateral (RPNPIL) que proviene de la rama tibial.<sup>9</sup> Los caballos con lesiones recurrentes han sido tratados exitosamente mediante la neurectomía de la RPNPIL.<sup>9,12-15</sup> En un estudio reciente donde 271 caballos con DPLS fueron sometidos a neurectomía de la RPNPIL, el 71 % de los caballos regresaron a su función zootécnica original sin evidencia de claudicación o de recurrencia de la lesión.<sup>16</sup> En otro estudio 78

de 84 caballos (88%) diagnosticados con DPLS regresaron a su función zootécnica original sin recurrencia de lesión.<sup>17</sup>

El aspecto proximal del ligamento suspensor en miembros anteriores esta inervado por la rama profunda del nervio palmar lateral (RPNPaL) y por los nervios metacarpianos palmares medial y lateral que emergen de la RPNPaL.

La rama profunda del nervio palmar lateral emerge de la rama lateral palmar en la porción proximal del tercer metacarpiano, y contiene fibras del nervio ulnar y del nervio mediano.<sup>18,19,20</sup> Con base en los buenos resultados obtenidos en caballos con lesiones recurrentes de la porción proximal del ligamento suspensor que fueron sometidos a neurectomía de la RPNPaL en miembros posteriores, en este estudio se pretende obtener buenos resultados mediante la neurectomía de la RPNPaL en caballos con desmitis inducida en miembros anteriores.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 ANATOMÍA DE LA REGIÓN**

El ligamento suspensor del menudillo, también llamado tercer músculo interóseo, 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 palmar del tercer hueso metacarpiano<sup>1,2</sup> y en menor medida en la fila distal de los carpos.<sup>11</sup> Tiene un ligamento accesorio que se origina proximalmente en el aspecto palmar del cuarto hueso del carpo y se continua hacia la porción distal con el ligamento suspensor del menudillo.<sup>2</sup>

El ligamento suspensor o también llamado tercer músculo interóseo se compone de tejido muscular, tejido adiposo y tejido conectivo.

En los miembros torácicos el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo está delimitado rígidamente por los tejidos adyacentes tales como: el aspecto palmar del tercer hueso



metacarpiano, los bordes axiales del segundo y cuarto huesos metacarpianos y la fascia palmar del *retinaculum flexorum* que va del segundo al cuarto hueso metacarpianos,<sup>3,12</sup> con fibras orientadas horizontalmente.<sup>1</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>13,14</sup> de las fibras musculares, el 95% son de tipo I (de contracción lenta).<sup>15</sup>

En el miembro torácico, la rama profunda del nervio palmar lateral (RPNPaL) que se dirige hacia el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo y continua distalmente como los nervios metatarsianos medial y lateral, emerge de fibras que provienen de los nervios ulnar y mediano.<sup>16</sup> El aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo y los nervios metatacarios lateral y medial se encuentran contiguos con la bolsa palmar de la articulación carpometacarpiana.<sup>11</sup>

La función principal del ligamento suspensor del menudillo es la de prevenir una excesiva extensión de la articulación metacarpofalángica.<sup>17</sup>

## 2.2 DESMITIS PROXIMAL DEL LIGAMENTO SUSPENSOR DEL MENUDILLO

La inflamación del aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo es una causa común de claudicación, se diagnostica en todo tipo de caballos deportivos entre los 4 y 10 años de edad.<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 las veces, no se observan estos signos.<sup>1,2</sup>

La claudicación se caracteriza por ser crónica y persistente,<sup>11</sup> se observa una reducción en el arco del vuelo, hay una disminución en la extensión de la articulación metacarpofalángica, la fase craneal puede estar disminuida y se incrementa con las pruebas de flexión de menudillo.<sup>1,2</sup>

Se llega al diagnóstico utilizando una combinación de bloqueos nerviosos y técnicas de imagenología.<sup>11</sup> La claudicación mejora cuando se realiza el bloqueo de la RPNPaL. Una mejoría del 85% de la claudicación al bloqueo de la RPNPaL, mediante infiltración de anestesia local en el sitio, se asocia con una DPLSM.<sup>2</sup>

En el examen ultrasonográfico; es raro observar zonas anecóicas, lo que se observa comúnmente es un aumento de volumen del ligamento, poca delimitación de sus bordes y una reducción de la ecogenicidad. En el examen radiográfico los cambios que se pueden observar son; la esclerosis del aspecto proximal del tercer hueso metacarpiano, alteración en el patrón trabecular y entesofitos. Sin embargo en muchos casos no se presentan cambios radiográficos.<sup>1,2,11</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>12,18</sup>

El pronóstico generalmente es reservado, aunque existen varios tratamientos para la DPLSM, como la inyección intralesional de corticosteroides, médula ósea 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 en miembros posteriores, se ha descrito la neurectomía del nervio tibial con solo un reporte<sup>2</sup> y la neurectomía de la RPNPL con varios reportes exitosos.<sup>3,8,9,10</sup> En el caso de la DPLS en miembros anteriores solo hay un reporte de la neurectomía de la RPLPaL con buenos resultados.

### 2.3 NEURECTOMÍA DE LA RAMA PROFUNDA DEL NERVIO PLANTAR LATERAL (RPNPL)

La neurectomía de la RPNPL con la fasciotomía plantar se describió por primera vez por el Dr. Bathe en 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 (95%) caballos.<sup>8</sup>

Kelly, (2007) reportó a 78 de 84 (91%) de caballos con neurectomía sin fasciotomía, que regresaron a su actividad deportiva.<sup>9</sup> Toth *et al.*, (2008) realizaron la neurectomía sin fasciotomía, donde 10 de los 16 (62.5%) caballos tratados dejaron de claudicar.<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 solo presentaban DPLSM 70 de 90 (77.8%) tuvieron un resultado exitoso, definiendo éxito como el mantener al caballo trabajando en el mismo nivel previo a la lesión por más de un año después del procedimiento.<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 de la función micro vascular, que puede ser localizada o interrumpida debido a un daño estructural en el nervio o tejidos adyacentes.<sup>19,20</sup> El ejemplo más común de esta patología es el síndrome del canal carpiano, que es la compresión del nervio mediano cuando pasa por la muñeca dentro del tunel carpiano.<sup>19,21</sup> Estos síndromes ocurren en sitios donde los nervios pasan por canales osteofibrosos, otros ejemplos son el del nervio ulnar cuando pasa por la muñeca o codo y las raíces de los nervios espinales en los forámenes vertebrales.<sup>19</sup>

Si se realiza un corte transversal de la muñeca se observa un tunel estrecho compuesto por nueve tendones, el nervio mediano, sinovia y las paredes del tunel formadas por los huesos carpianos y el *retinaculum flexor*.<sup>21</sup> Una situación similar ocurre en el miembro toácico y pélvico de los caballos, donde el aspecto proximal del ligamento suspensor del menudillo junto con la RPNPaL se encuentran confinados por el aspecto palmar del tercer hueso metacarpiano, los bordes axiales del segundo y cuarto huesos metacarpianos y la fascia palmar que cubre al ligamento suspensor<sup>3</sup>.

### 2.4.1 GRADOS DE LESIÓN NERVIOSA.

Los grados de lesión de los nervios se relacionan directamente con el pronóstico, y estos van de menor a mayor grado de lesión.<sup>22</sup>

- I. Es un bloqueo en la conducción y se pueden llegar a observar cambios histológicos con áreas de desmielinización.
- II. Es una lesión al axón, con degeneración Walleriana del axón. En este grado de lesión se puede llegar a presentar una regeneración del nervio.
- III. Similar al grado II, se observa tejido fibroso en el endoneuro, y no se tiene una completa recuperación del nervio.
- IV. El nervio se encuentra completamente bloqueado por tejido fibroso sin posibilidad de recuperarse.
- V. La lesión es una transección del nervio.

#### 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 cursan con una desmielinización, al mismo tiempo 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.<sup>22</sup>

La aplicación de una ligadura alrededor del nervio ciático de ratas ocasionó edema con proliferación de células endoteliales y desmielinización los primeros días, proliferación de fibroblastos y macrófagos, degeneración distal del nervio y el principio de brotes de nervios dentro de la primera semana, invasión por tejido fibroso y remielinización en la segunda semana, regeneración de las fibras nerviosas, engrosamiento del perineuro y de los vasos sanguíneos en la sexta semana y remielinización del segmento distal del nervio en la doceava semana.<sup>23</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>22,24</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.<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</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 evolución.<sup>25</sup>

Toth *et al.* (2008) retiraron la RPNPL de 16 caballos que claudicaban a causa de una DPLSM, los cambios histológicos observados fueron una expansión del subperineuro por una matriz mixoide, cuerpos de Renaut, hinchazón del axón y necrosis con degeneración de la mielina. Estos cambios sugieren que la compresión de la RPNPL puede ser en parte responsable por 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, 7 diferentes han sido aisladas de su cultivo. Todas son metaloproteinasas (MMPs) dependientes de Zinc cuya única especificidad es en 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>26,27,28</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.<sup>27,28</sup>

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.<sup>27,28</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 no se digieren a si mismas.<sup>27</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>29</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 inyecciones de colagenasa con un lapso de dos semanas entre inyecciones. Las inyecciones se realizaron guiadas con ecografía en el cuerpo del ligamento suspensor (20 cm distal a la punta del corvejón). La primera inyección contenía 0.5 ml (2.5mg/ml) de colagenasa y la segunda inyección contenía 0.5 ml (5.0mg/ml).<sup>30</sup>

MaClure y Evans (2002) produjeron lesiones en ambos miembros torácicos en el cuerpo del ligamento suspensor, 12 cm distal al carpo accesorio con la inyección de 4,000 U de colagenasa.

Las lesiones fueron evaluadas con ultrasonido tres semanas después de la inyección, las lesiones se observaban estables en tamaño y apariencia.<sup>31</sup>

Williams (1984) inyectó 0.5 ml de una solución con colagenasa en la parte central del tendón flexor superficial entre las articulaciones del carpo y metacarpo, la aguja se introdujo con una angulación de 45° hacia el carpo. Dos inyecciones similares se realizaron 1 cm proximal y 1 cm distal al primer sitio de inyección. Las cantidades usadas produjeron una inflamación significativa en el tendón, las cantidades se extrapolaron de estudios en conejos.<sup>32</sup>

Redding *et al.* (1999) inyectaron 4,000 U de colagenasa en un volumen de 1.5 ml dentro del tendón flexor digital superficial. La inyección inicial fue con 0.5 ml en la línea media, 10 cm distal al carpo accesorio. Dos inyecciones se realizaron 1 cm proximal y 1 cm distal al primer sitio de inyección.<sup>33</sup>

Foland *et al.* (1992) crearon una tendinitis del tendón flexor digital superficial en los miembros torácicos inyectando 4,000 U de colagenasa en la región media del metacarpo. Las 4,000 U de colagenasa se diluyeron en 1.5 ml de agua estéril, esta solución se dividió en tres partes iguales, para ser inyectada en 3 diferentes sitios del tendón.<sup>34</sup>

### **3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.**

No se han desarrollado estudios previos que demuestren que la DPLS en miembros torácicos pueda inducir degeneración nerviosa de la RPNPaL, solamente se cuenta con el estudio de *Tóth F y Scumacher J*, 2008, donde se ha comprobado que la desmitis de la porción proximal del ligamento suspensor en miembros pélvicos ocasiona degeneración nerviosa de la rama profunda del nervio plantar lateral, debido a la compresión que se genera entre el ligamento y el hueso durante el proceso inflamatorio del ligamento. Este proceso no ha sido comprobado en miembros anteriores, por lo que este estudio tiene la finalidad de comprobar mediante histopatología que en la rama

profunda del nervio lateral palmar también se presenta evidencia de degeneración nerviosa por compresión.

Tampoco existen estudios donde se evalúen los cambios biomecánicos e histológicos de la porción proximal del ligamento suspensor en caballos neurectomizados de la RPNPaL, como son: la atrofia neurogénica de las fibras musculares del ligamento suspensor causada por la neurectomía de la rama profunda del nervio palmar lateral, así como cambios biomecánicos en el grado de claudicación.

#### **4. OBJETIVO GENERAL.**

Determinar los cambios histológicos que produce la DPLSM en la RPNPaL y en la porción proximal del ligamento suspensor en miembros torácicos de caballos neurectomizados con desmitis inducida mediante colagenasa comparados con el grupo control.

#### **5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1.- Inducir desmitis en la porción proximal del ligamento suspensor en miembros anteriores mediante inyección de colagenasa guiada por ultrasonido.
- 2.- Realizar la neurectomía quirúrgica de la rama profunda del nervio palmar lateral en los caballos con desmitis inducida y evaluar los nervios mediante histopatología.
- 3.- Evaluar el grado de claudicación en los miembros neurectomizados.
- 4.- Determinar mediante histopatología de la porción proximal del ligamento suspensor si se presenta atrofia de las fibras musculares comparado con los ligamentos del grupo control y con los del miembro opuesto.



## **6. HIPÓTESIS.**

La DPLSM producirá cambios degenerativos en la RPNPaL en caballos con desmitis inducida y la neurectomía de la rama profunda del nervio palmar lateral resolverá la claudicación con evidencia de atrofia neurogénica en las fibras musculares del origen del ligamento suspensor.

## **7. MATERIAL Y METODOS.**

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 16 caballos clínica y biomecánicamente sanos, con un peso de 353 +/- 69 Kg y una edad de 8.8 +/- 5 años de edad. Los caballos se alojaron en una caballeriza de y fueron alimentados con heno de avena y agua *ad-libitum* durante todo el estudio. Este estudio fue aprobado por el CICUAE-FMVZ-UNAM y el proyecto se apegó a los lineamientos establecidos en la NOM-062-200-1999 para el cuidado y bienestar de los animales de experimentación.

Los 16 caballos se dividieron en 2 grupos de estudio; el grupo 1 (Desmitis inducida y neurectomizados) incluyó a 8 caballos, a este grupo se le indujo una desmitis en la porción proximal del ligamento suspensor mediante colagenasa en uno de los miembros anteriores y 8 semanas después se les realizó la neurectomía de la RPNPaL mediante anestesia general, los nervios extraídos fueron colectados en formalina bufferada al 10% y fueron evaluados histológicamente. Posterior a la neurectomía los caballos fueron evaluados a la semana 5, 6, 7 y 8 ecográfica y biomecánicamente, utilizando un sistema de sensores internos marca Equinosis ®.

Después de 8 semanas los caballos fueron sometidos a eutanasia y los ligamentos suspensores de ambos miembros fueron extraídos para su evaluación histológica.

El grupo 2 (caballos sanos y Neurectomizados) se incluyeron a 8 caballos, a este grupo se les realizó neurectomía de la RPNPaL en uno de los dos miembros torácicos y fueron evaluados ecográfica y biomecánicamente, en la semana 5, 6,7 y 8 posterior a la neurectomía. Después de 8 semanas los caballos fueron sometidos a eutanasia y los ligamentos suspensores de ambos miembros fueron extraídos para su evaluación histológica.

Lameness Locator Equinosis, USA®

## **7.1 FASE DE CAMPO**

### **ETAPA 1**

Para comprobar que los caballos se encontraran clínicamente sanos se les realizó un examen físico, donde se evaluó que sus constantes fisiológicas (frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal, tiempo de llenado capilar, membranas mucosas, auscultación de campos pulmonares y de sonidos intestinales) se encontraran dentro del rango normal. Para evaluar la biomecánica de cada uno se utilizó el Analizador del movimiento Equinosis® con el caballo al trote en línea recta, donde se obtuvo una medición basal de su movimiento.

### **ETAPA 2.**

A los grupos 1 y 2 se les realizó una ecografía previa, donde se midió la porción proximal del ligamento suspensor y se registró mediante fotografías la alineación de las fibras musculares en ambos miembros anteriores.<sup>20</sup> Posteriormente a los caballos del Grupo 1, en uno de los miembros anteriores se les inyectaron las colagenasa a dosis de 2500 UI/ 0.3 mL <sup>21</sup>, 12 cm distal al hueso carpo accesorio y guiado con ecografía. Se realizaron 4 ecografías durante 8 semanas, posteriores a la aplicación de las colagenasas, obteniendo datos cuantitativos y morfológicos del ligamento. Se

evaluó la presencia de claudicación 5 y 10 días posteriores a la inyección de las colagenasas y semanalmente se realizaron mediciones utilizando el Analizador de movimiento marca Equnosis®.

### ETAPA 3.

En el Grupo 1, ocho semanas posteriores a la inducción de la desmitis los caballos fueron sometidos a neurectomía de la RPNPaL en el miembro torácico donde fue inducida la desmitis y en el miembro opuesto, se realizaron mediciones del ligamento suspensor en sus distintas porciones por medio de la ecografía en las semanas 6 y 8 posteriores a la cirugía, donde se obtuvieron datos cuantitativos y morfológicos del ligamento.<sup>22</sup>

## **7.2 EXAMEN ECOGRÁFICO**

En esta fase se realizó un examen ecográfico previo de la porción proximal del ligamento suspensor a los 16 caballos, donde se observó que no presentaron aumento de volumen, mala definición de sus bordes, áreas hipoeecóicas, incrementos o decrementos en la ecogenicidad y bordes irregulares del tercer metacarpianos.

Se realizaron 4 exámenes ecográficos para comprar el tamaño de los ligamentos, el primero se realizó 10 días después de la inyección de las colagenasas, el segundo a los 21 días, el tercero a los 41 días y el cuarto a los 56 días.

## **7.3 INYECCIÓN DE COLAGENASA**

En esta fase del estudio, se eligió al azar un miembro torácico de cada caballo para usarlo como tratamiento y el opuesto como control. Los miembros torácicos fueron rasurados con hoja del No. 40 de la mitad del tercer metacarpiano, en dirección proximal hasta el hueso carpo accesorio. Posteriormente el caballo fue sedado mediante la aplicación de clorhidrato de xilacina al 10% (1.1 mg/kg) y se anestesió la piel con la administración de 1 ml de lidocaína al 2% 12 cm distal al carpo accesorio.

La zona donde se administró la lidocaína se preparó quirúrgicamente con yodopovidona espuma y alcohol, mediante ecografía utilizando un transductor lineal de 7.5 Mhz se localizó el ligamento suspensor del menudillo, con el caballo de pié, se inyectó de manera estéril 2500 U de colagenasa diluída en agua estéril en un volumen de 0.3 ml, en la parte central del ligamento con agujas de calibre 22 y de 1 ¼ pulgadas de largo.

Posterior a la inyección, los caballos recibieron la administración de Ketoprofeno al 10% (2.2 mg/kg) SID I.V.<sup>32</sup> Los caballos permanecieron en la caballeriza durante las siguientes 8 semanas, caminando 1 vez al día por 15 minutos.

#### **7.4 EVALUACIÓN DE LA CLAUDICACIÓN**

En esta fase se evaluó la claudicación cada semana utilizando el analizador de movimiento Equinosis®.

#### **7.5 NEURECTOMIA DE LA RAMA PROFUNDA DEL NERVIO PALMAR LATERAL.**

Ocho semanas después de la inyección, se realizó la neurectomía de la RPNPaL como la describió Schumacher con algunas modificaciones.<sup>35</sup> La cirugía se realizó bajo anestesia general, utilizando xilacina al 10% a dosis de 1.1mg/kg IV, ketamina a dosis de 2.2. mg/kg IV y posteriormente se utilizó anestesia inhalada con Isoflurane a dosis de 1.5 % mezclado con oxígeno. Se rasuró a partir de la mitad del tercer metacarpiano hacia el extremo proximal hasta el hueso carpo accesorio. La zona se preparó quirúrgicamente con yodopovidona espuma y alcohol en tres tiempos.

Se realizó una incisión con bisturí No. 20 de aproximadamente 5 cm, 1 cm por debajo de la porción distal del carpo accesorio, centrandó la incisión en la articulación carpometacarpiana entre el cuarto metacarpiano y los tendones flexores. Con pinzas de Kelly curvas se realizó la disección de los tejidos blandos para localizar el nervio palmar lateral el cual fue referido con una sutura. Con ayuda

de separadores se continuó la disección hasta localizar la RPNPaL de la cual se retiró una porción de 2 cm aproximadamente en cada miembro. Los nervios fueron identificados y colocados en tubos de ensaye con formalina al 10%. El tejido subcutáneo fue suturado con un patrón continuo con poliglactina 910 No. 3-0 y la piel con grapas del 35W.

Se colocó un vendaje con apósito estéril, huata y venda autoadherible sobre los miembros. Como tratamiento posquirúrgico 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 vez que fue requerido. Las grapas de piel se retiraron 15 días después de la cirugía.

## **7.6 FASE DE LABORATORIO.**

Los nervios extraídos mediante el procedimiento quirúrgico se colocaron en tubos vacutainer y fueron fijados en formalina amortiguada al 10% durante 48 h. Posteriormente 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 los cortes de 4 $\mu$  de espesor mediante el uso del micrótopo (LEICA RM2125). Los cortes microscópicos fueron preparados con las tinciones de Hematoxilina & Eosina y Tricrómica de Masson.<sup>36</sup> Cada corte de tejido se observó en toda su extensión tanto longitudinal como transversalmente en un microscopio óptico (Leica DME<sup>R</sup>).<sup>23,24,36</sup>

### **ETAPA 4.**

En la semana 8 posterior a la neurectomía, los caballos fueron sometidos a eutanasia utilizando xilacina al 10% intravenosa a dosis de 1.1 mg/kg y posteriormente se administró una solución de pentobarbital sódico y fenitoína sódica intravenosa a dosis de 1 mL / 5 Kg de PV. Los ligamentos suspensores fueron retirados de ambos miembros torácicos.

Preparación del tejido.

1. Se desarticularon del cuerpo los miembros torácicos a nivel de la articulación intercarpiana proximal y distalmente en la articulación interfalángica distal, una vez separado el miembro se procedió a diseccionar todos los tejidos blandos (piel, subcutáneo, tendones y ligamentos) del área excepto el LSM y los ligamentos distales a los sesamoideos proximales.
2. Los ligamentos suspensores fueron medidos y cortados en segmentos de 1 cm de espesor y colocados en casetes para ser fijados en formalina amortiguada al 10% durante 24 horas, posteriormente se lavaron con agua corriente y fueron colocados en una solución de PBS: 1.025 g de Fosfato dibásico de Sodio, 0.386 g de fosfato monobásico de Sodio, 7.4 g de Cloruro de Sodio y agua destilada pH 7.2, por 24 horas más y fueron procesados.
3. Después se colocaron en parafina para realizar cortes de (4  $\mu$ m) cada uno de las cinco secciones de un centímetro que se cortaron previamente.<sup>25</sup>

## **7.7 HISTOPATOLOGÍA.**

Se observaron las laminillas con el microscopio en un estudio (doble ciego) donde no se conoció cuáles eran los ligamentos y los nervios controles y cuales los tratados, cubriendo con una calcomanía la identificación colocada sobre las laminillas durante su observación al microscopio, una vez evaluadas y registradas las observaciones se reveló su identificación.

## **7.8 TÉCNICA DE CITOCROMO OXIDASA.**

Se utilizó la técnica histológica para ver la actividad de la enzima citocromo oxidasa en tejido fijado obtenida de Wong-Riley M. (1979). Brain Research 171: 11-28, con algunas modificaciones.

## **8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis de datos se utilizó una prueba pareada para comparación de datos *t* de student (JMP software 4.0, SAS Institute 2002); para el análisis estadístico de las mediciones obtenidas de las imágenes digitales se eligió un valor  $P < 0.01$  como el umbral de significancia para las comparaciones estadísticas. Los datos obtenidos de las mediciones post-mortem del ancho y del espesor de los ligamentos suspensores fueron procesados estadísticamente con un valor  $P < 0.05$  de significancia. Los cambios observados al microscopio en las laminillas de los nervios, fueron clasificados y categorizados en 3 escalas diferentes.

## **9. RESULTADOS**

El grupo de caballos a los que se les indujo desmitis del OLS y posteriormente se les realizó la neurectomía de la RPNPaL fueron evaluados biomecánicamente utilizando el analizador de movimiento Equinosis® , dos semanas después de la cirugía, se observó que la claudicación en el miembro tratado desapareció después de la neurectomía, por lo que se confirma que la neurectomía de la RPNPaL, resuelve la claudicación en casos donde se presenta desmitis de la porción proximal del ligamento suspensor del menudillo en miembros torácicos en caballos. (Tabla 1)

### **9.1 Histopatología de los nervios.**

Los nervios de los caballos donde se indujo desmitis presentaron cambios degenerativos compatibles con compresión en los cortes longitudinales y transversales, tales como: 8 nervios (100 %) presentaron hinchazón axonal, necrosis con degeneración de mielina (HANM), expansión subperineural con matriz mixomatosa (ESMM), y 6 nervios (75 %) presentaron cuerpos de Renaut (CURE), y en 8 (100 %) nervios se observó engrosamiento y fibrosis del epi y perineuro (EFEP), comparados con los controles. (Tabla 2; Figuras 1,2,3 y 4)

## **9.2 Evaluación macroscópica de los ligamentos.**

En la evaluación macroscópica realizada a las cinco secciones obtenidas del aspecto proximal de cada LSM con las mediciones hechas con el calibrador Vernier se observó que si existe diferencia ( $P= 0.414$ ) en el grosor (cm) entre los ligamentos suspensores del menudillo donde se realizó la neurectomía y se indujo la desmitis previamente y el grupo donde solo se realizó la neurectomía. No hubo diferencia estadística ( $P=0.6351$ ) del ancho (cm) entre los ligamentos de los diferentes grupos. (Tabla 3 y 4)

## **9.3 Histopatología de los ligamentos.**

En el presente estudio se encontró evidencia significativa de que la neurectomía de la RPNPaL ocasionó atrofia de las fibras musculares comparados con el control. En los caballos que se les indujo desmitis del OLS y posteriormente se les realizó la neurectomía, donde se observó atrofia muscular y mayor cantidad de tejido adiposo y conectivo en comparación con los caballos donde no se indujo desmitis. (Figura 5)

Se realizaron las mediciones cuantitativas de las áreas que contienen fibras musculares, tejido adiposo y tejido conectivo en cada una de las 5 secciones del LSM, utilizando el programa Image J<sup>®</sup>, para el análisis de las imágenes. La media del área muscular presentó una diferencia significativa entre los grupos ( $P=0.0003$ ); así como la media de tejido adiposo ( $P=0.0002$ ) y de tejido conectivo ( $P=0.0003$ ), siendo mayor en los ligamentos donde se indujo desmitis previamente. (Tablas 5, 6 y 7).



## 10. DISCUSION.

En esta investigación se demostraron los cambios a la morfología, el grosor y ancho del ligamento debido a la atrofia de las fibras musculares que se encuentran en el tercio proximal del LSM después de haber realizado la neurectomía de la RPNPaL en los miembros torácicos.

Al realizarse la denervación de la porción proximal del ligamento suspensor, en las fibras musculares se observó disminución del diámetro de sus miofibrillas, lo que por consecuencia disminuye sus propiedades físicas como la fuerza,<sup>9</sup> elasticidad y la capacidad de contraerse, debido a que se aumenta la degradación y se disminuye la síntesis<sup>106</sup> de los elementos contráctiles como son la actina y miosína.<sup>18,20,103,126</sup> por no recibir los factores tróficos generados normalmente por una inervación intacta,<sup>98</sup> Además existe la posibilidad que los caballos al no tener sensibilidad en la región y no sentir dolor podrían utilizar más a ese ligamento lesionado dañándolo progresivamente.

Actualmente no se conoce por completo el mecanismo molecular<sup>106</sup> de una atrofia muscular por denervación sobre los LSM de los caballos y las consecuencias,<sup>60</sup> existen varias hipótesis al respecto las cuales mencionan que al alterar la biomecánica del LSM y por lo tanto la del aparato suspensor se podría afectar indirectamente la biomecánica de la articulación metacarpiana distal, provocándole cambios que produzcan dolor en un futuro,<sup>60</sup> además se podría predisponer al LSM a sufrir un proceso degenerativo localizado (desmopatía),<sup>9,51,93,94,95</sup> además existen reportes anecdóticos de caballos con rupturas catastróficas del LSM después de haberse realizado la neurectomía; Es importante mencionar que estos caballos presentaban problemas en su conformación, por lo cual esto debe ser considerado como una condicionante preoperatoria muy importante en todos los casos.<sup>60</sup> *Dyson* y colaboradores observaron que los cinco caballos que fueron categorizados dentro del grupo número dos de su estudio ya que fueron diagnosticados con DPLSM y además presentaban algún problema en su conformación como la hiperextensión de la articulación

metatarso falángica en la cual su ángulo dorsal del menudillo era  $\leq 130^\circ$  y/o los corvejones muy rectos y su ángulo dorsal era  $\geq 150^\circ$ , estos caballos nunca dejaron de claudicar a pesar de que se les había realizada la neurectomía de la RPNPL y la fasciotomía plantar.<sup>60</sup> por lo cual está demostrado que no es el tratamiento ideal en todos los casos y se debe seleccionar cuidadosamente a los caballos que se les realizara la neurectomía de la RPNPL / RPNPaL.

*Tóth* y colaboradores reportaron en el 2008 que entre la cuarta y la octava semana después de la neurectomía de la RPNPL el tamaño del área transversal (CSA por sus siglas en ingles) de los LSM disminuía al medirlo con el ultrasonido.<sup>10</sup> *Pauwels* y colaboradores reportaron en el 2009 que a las 6 semanas después de la cirugía disminuía el tamaño de la porción proximal del LSM al ultrasonido, por lo que consideraron que el ligamento se desinflamaba y/o había un cambio en la arquitectura histológica del LSM<sup>9</sup> e inclusive era de menor tamaño a lo esperado en un proceso degenerativo como DPLSM (J. Schumacher comunicación personal). *Dyson* y colaboradores reportaron en el 2012 que 2 meses después de la cirugía el LSM era más pequeño con una mejor apariencia y una ecogenicidad más uniforme en el 94.7% de los casos y mencionan la probabilidad de que estos cambios fueran en parte por una atrofia neurogenica.<sup>60</sup>

En nuestro estudio al comparar las mediciones longitudinales basales de los LSM tomadas a un día antes de realizarles la neurectomía de la RPNPaL contra las tomadas 8 semanas después observamos que eran mayores las iniciales o basales, por lo cual suponíamos existía una disminución del tamaño del ligamento en una vista longitudinal durante esas 8 semanas y esto se debía a la atrofia muscular por la denervación.

En esta investigación si observamos cambios significativos tanto en el grosor como en el ancho de todos los LSM del grupo tratado y neurectomizado de la RPNPaL y del grupo que solamente fue neurectomizado, con respecto a los ligamentos del grupo control. Similar a lo reportado por *Pauwels* y colaboradores en el 2009 donde ellos observaron una diferencia en la porción muscular en una yegua cuarto de milla de 8 años a las 6 semanas después de haber realizado la neurectomía y

fasciotomía en el miembro posterior derecho. Se mencionan que la atrofia muscular dentro del ligamento puede ser simétrica y no aparente, debido a que al atrofiarse las fibras musculares sean remplazadas por tejido de colágeno y/o grasa dentro de los paquetes, manteniendo aparentemente el tamaño original del LSM.<sup>9,24</sup>

Se ha realizado un solo reporte de atrofas musculares por denervación en caballos después de la neurectomía de la RPNPL; ya que la mayoría de este tipo de estudios se realizan con modelos que utilizan ratas o ratones a los cuales les realizan diferentes neurectomías para evaluar la actividad y concentración de diferentes enzimas y factores. Se ha observado en estos estudios que cuando las fibras musculares pierden su inervación se produce una respuesta de defensa inmediata, en la cual se activa a la p-AKT la cual tiene por función principal regular y prevenir la atrofia muscular después de la pérdida de inervación, esta proteincinasa puede estar presente hasta 4 semanas después de la denervación y se ha observado que pasado ese tiempo comenzara a bajar sus niveles paulatinamente. Además, la p-AKT es esencial para la producción de la IGF-1 que es el encargado de producir y regular todos los procesos de hipertrofia de los músculos.<sup>101, 102126</sup>

Zhang y colaboradores reportaron en el 2006 un aumento en la expresión de la miostatina, esta proteína forma parte del factor de crecimiento transformante TGF-B que actúa como inhibidor o regulador negativo de la masa muscular,<sup>108,109</sup> esta proteína inhibe la miogénesis y suprime la proliferación de células satélites,<sup>108</sup> alcanzando su pico de concentración a los 28 días después de haber realizado la neurectomía, observaron la disminución de área transversal de las fibras musculares y del peso total del musculo en sus ratas, lo cual fue asociado a una degeneración y necrosis irreversible de la masa muscular.

*Baumann* y colaboradores reportaron en 1988 que en el primer día después de la neurectomía en sus ratas se elevaba la expresión de la miostatina en un 31% y al día 14 las concentraciones eran de un 34% a lo que se le atribuyó que el músculo ya se encontraba atrofiado en un 50%, datos que fueron similares a un reporte anecdótico de *DC van Sickle*, además observaron que los niveles de

miostatina llegaban hasta un 56% a los 27 meses después de la denervación;<sup>109</sup> Estos resultados fueron consistentes con otros resultados reportados en atrofia muscular inducida por: desuso, caquexia y glucocorticoides en ratas, a lo que se puede asociar la interacción directa de la miostatina con la atrofia muscular.<sup>106</sup>

Cuando las fibras musculares llevan mucho tiempo sin una inervación normal sufren procesos degenerativos o de apoptosis (muerte celular programada) para la cual existen dos vías: la primera es la dependiente de las caspasas que se inicia con la activación del citocromo C, este a su vez activara a las caspasas (proteasa específica cisteína aspartato) resultando en la muerte de la célula, la segunda es la vía independiente de las caspasas y esta es regulada por el factor inductor de apoptosis (FIA)<sup>103</sup> este es una flavo proteína localizada en dentro de la membrana de las mitocondrias de la fibra muscular que induce la fragmentación del DNA, esta actúa sin activar a la vía dependiente de las caspasas por lo cual nunca trabajan en conjunto.<sup>104</sup> Esta vía independiente de las caspasas actúa de forma natural en los procesos de regulación de hiperplasia e hipertrofia en los musculos.<sup>107</sup>

Las fibras musculares que perdieron sus conexiones nerviosas se observan con el microscopio encogidas y deformes, existe una gran variación en el tamaño de sus diámetros,<sup>126</sup> estas se agrupan y al aplicarles una ligera presión adquieren formas angulares,<sup>106,126</sup> además se puede llegar a observar a los núcleos celulares en medio de los miocitos en lugar de estar a la periferia como en una fibra normal,<sup>106</sup> cuando la atrofia es crónica se pueden formar múltiples cúmulos de núcleos debido a que las miofibrillas desaparecen mucho más rápido que estos.<sup>9,126</sup> También se puede llegar a ver un aumento del tejido de colágeno<sup>9,106</sup> y grasa<sup>9,126</sup> debido a que estos reemplazan al el espacio dejado por tejido muscular atrofiado formando una fibrosis como secuela de la reparación muscular sin éxito, lo cual es muy evidente en las laminillas teñidas con Tricrómica de Masson.<sup>9,106</sup>

El origen del LSM está caracterizado por tener una menor celularidad, concentración de colágeno y glucosaminoglicanos que el cuerpo y las ramas, como el origen presenta un ritmo metabólico más

lento se observa un aumento de las concentraciones de enlaces cruzados de pentosidina que es el producto final de las glicosidaciones entre proteínas (lisina y arginina) con las azúcares (pentosas) por lo que la remodelación de la red de colágeno es menor en el origen en condiciones fisiológicas normales.<sup>52</sup>

*Pauwels* y colaboradores observaron con el microscopio en el único modelo realizado con un solo caballo que el área muscular de su ligamento suspensor tratado con la neurectomía de la RPNPL media [ $0.49 \text{ mm}^2 \pm 0.33 \text{ mm}^2$ ] y el control [ $3.01 \text{ mm}^2 \pm 1.65 \text{ mm}^2$ ], esto significó que sus fibras musculares tratadas median de 30 hasta 50  $\mu\text{m}$  y las fibras musculares de los controles llegaban hasta los 100  $\mu\text{m}$ .<sup>9</sup>

Además, se debe diseñar un entrenamiento adecuado para estos caballos considerando el tipo de superficie en la cual van a trabajar, porque las pistas con demasiada arena y poca compactación o con problemas de drenaje tienden a ser muy pesadas y producen mayor tensión sobre los tejidos blandos en la extremidad, el LSM normalmente puede resistir fuerzas verticales de hasta un 50-60% del peso total del animal en unos solo de sus miembros anteriores durante una carrera;<sup>55</sup>

El tiempo y la intensidad de ejercicio serán también un factor muy importante a considerar, se ha observado fatiga del ligamento suspensor<sup>52, 55</sup> y un descenso del menudillo después de carreras muy largas, a pesar de que el 95% de sus fibras musculares son resistentes a la fatiga;<sup>55</sup> Además si se aumenta la intensidad del trabajo sobre todo a grandes velocidades se pueden producir cambios térmicos que desencadenen daños y lesiones al ligamento.<sup>114</sup>

Al final debemos considerar principalmente el bienestar de animal y la seguridad del jinete, es importante reconocer los cambios morfológicos que sufre el ligamento suspensor del menudillo a causa de la neurectomía de la RPNPaL y tomar en cuenta las modificaciones biomecánicas que se pudieran dar en el aparato suspensor ya que en la actualidad no existe una prótesis que sustituya al LSM.

Por lo que es necesario realizar muchos más estudios acerca de la biomecánica y resistencia del aparato suspensor del menudillo y en especial del LSM después de la neurectomía de la RPNPaL a corto, mediano y largo plazo para poder entender si realmente este cambio a la morfología del ligamento será un factor predisponente o desencadenante para que se presenten lesiones en los tejidos óseos y/o blandos que interactúan directamente con el ligamento suspensor del menudillo o simplemente será un hallazgo histológico sin relevancia clínica durante la necropsia del animal. Y poder definir finalmente con el menor riesgo posible la actividad y el nivel atlético al cual se puede dedicar cada caballo que fue neurectomizado.

## **11. CONCLUSIONES.**

En este estudio se observó que la neurectomía de la RPNPaL, la cual es utilizada como tratamiento en casos de desmitis proximal del ligamento suspensor en miembros torácicos refractarios a tratamientos médicos, indujo atrofia muscular en el ligamento caracterizada por cambios degenerativos en las fibras musculares e infiltración de tejido adiposo y conectivo, comparado con los controles. La atrofia de fibras musculares, así como proliferación de tejido adiposo y conectivo en ligamentos neurectomizados donde se indujo desmitis fue mayor que en los ligamentos que no fueron tratados, por lo que esto sugiere que existe mayor riesgo de ruptura en la porción proximal de ligamentos con desmitis que son neurectomizados, ya que el tejido adiposo no brinda el soporte necesario para un adecuado funcionamiento del dígito distal de los caballos.

Los cambios observados en los nervios de caballos donde se indujo la desmitis sugieren que existe neurodegeneración por compresión, 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; la cual puede contribuir a claudicaciones crónicas refractarias en caballos con desmitis de la porción proximal del ligamento suspensor en miembros anteriores. La neurectomía de la RPNPaL como alternativa de tratamiento

tiene que ser considerada en caballos que clínicamente no presenten evidencia de inflamación activa en la porción proximal del ligamento suspensor, así como lesiones concéntricas en las fibras del ligamento.

## 12. REFERENCIAS.

1. Marks D, Mackay-Smith M, Leslie A, *et al*: Lameness resulting from high suspensory disease (HSD) in the horse. *Proc Am Assoc Equine Pract* 1981;24:493–497 .
2. Dyson S J: Proximal suspensory desmitis: clinical, ultrasonographic and radiographic features. *Equine Vet J* 1991;23:25–31.
3. Reef VB: *Equine diagnostic ultrasound*. Philadelphia, PA, Saunders, 1998
4. Dyson S, Genovese R: The suspensory apparatus, in Ross M, Dyson S (eds): *Diagnosis and management of lameness in the horse* (ed2). St Louis, MO, Elsevier, 2011, pp 738–760
5. Herthel DJ: Enhanced suspensory ligament healing in 100 horses by stem cell and other bone marrow components. *Proc Am Assoc Equine Pract* 2001;47:319–321
6. Fortier LA, Smith RKW: Regenerative medicine for tendinous and ligamentous injuries of sport horses. *Vet Clin Equine* 2008;24:191–201.
7. Crowe OM, Dyson SJ, Wright IM, *et al*: Treatment of chronic or recurrent proximal suspensory desmitis using radial pressure wave therapy in the horse. *Equine Vet J* 2004;36:313–316
8. Gillis C: Soft tissue injuries: tendinitis and desmitis, in Hinchcliff KW, Kaneps AJ, Geor RJ (eds): *Equine sports medicine and surgery*. Philadelphia, PA, Saunders, 2004, pp 420–421.
9. Dyson S J: Proximal suspensory desmitis in the forelimb and in the hind limb. *Proc Am Assoc Equine Pract* 2000;46:137–142
10. Dyson S: Proximal suspensory desmitis in the hindlimb: 42 cases. *Br Vet J* 1994;150:279–291
11. 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 Assoc* 2006;229:407–412
12. Bathe A: Neurectomy and fasciotomy for the surgical treatment of hind limb proximal suspensory desmitis. *Proceedings of the 40th British Equine Veterinary Association Congress 2001*, pp 118 (abstr)
13. Tóth F, Schumacher J, Schramme M, *et al*: Neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve for treatment of horses with proximal suspensory desmitis of the hind limbs. *Compend Contin Educ Pract Vet* 2009;4:308–318
14. Bathe A: Plantar metatarsal neurectomy and fasciotomy for treatment of hindlimb proximal suspensory desmitis. *Vet Surg* 2003;32:480
15. Dyson S, Murray R: Management of hindlimb proximal suspensory desmopathy by neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve and plantar fasciotomy: 155 horses (2003–2008). *Equine Vet J* 2012;44:361–367



16. Bathe A: Plantar metatarsal neurectomy and fasciotomy for the treatment of hindlimb proximal suspensory desmitis. Proceedings American College of Veterinary Surgeons, Chicago, IL, 2007, pp 116–117
17. Kelly G: Results of neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve for treatment of proximal suspensory desmitis. Proceedings of the 16th Annual Scientific Meeting of the European College of Veterinary Surgeons, Dublin, Ireland, 2007, pp 130–134.
18. Muylle S, Desmet P, Simoens P,etal:Histological study of the innervation of the suspensory ligament of the forelimb of the horse. Vet Rec 1998;142:606–610
19. Moyer W ,Schumacher J, Schumacher J: A guide to equine joint injection and regional anesthesia.Yardley, PA, Veterinary Learning Systems, 2007, pp 90–91
20. CastroF, Schumacher J, Pauwels FE, etal:A new approach for perineural injection of the lateral palmar nerve in the horse. Vet Surg 2005;34:539–542
21. Bischofberger AS, Konar M,Ohlerth S,etal: Magnetic resonance imaging, ultrasonography and histology of the suspensory ligament origin: a comparative study of normal anatomy of warmblood horses. Equine Vet J 2006;38:508–516
22. Reef VB,Genovese R: Soft tissue injuries of the pastern,in Ross M, DysonS(eds):Diagnosis and management of lameness in the horse (ed2).St Louis,MO,Elsevier, 2011,pp 810–817
23. Redding WR, Labens R: Proximal suspensory ligament injury: diagnosis and treatment. Proceedings of the American College of Veterinary Surgeons ,Seattle,WA, 2010,pp 146–150
24. Toth F, Schumacher J, Schramme M, etal: 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
25. Pauwels FE, Schumacher J, Mayhew IG, etal: Neurectomy of the deep branch of the lateral plantar nerve can cause neurogenic atrophy of the muscle fibres in the proximal part of the suspensory ligament(M. interosseo III). Equine Vet J 2009;41:508–510
26. Spiegel MR, Schiller J, Srinivasan RA. Análisis de la varianza». *Probabilidad y Estadística [Schaum's Outline of Theory and Problems of Probability and Statistics]*. Schaum 2ª ed..México D.F.: McGraw-Hill. 2007:335-371
27. Rempel MD, Diao E. Entrapment neuropathies: pathophysiology and pathogenesis. J Electromyogr Kinesiol 2004; 14:71-75
28. Mackinnon ES. Pathophysiology of nerve compression. Hand Clin 2002; 18:231-241
29. Sommer C. Galbrath AJ. Heckmann MH. Myers RR. Pathology of experimental compression neuropathy producing hyperesthesia. J Neuropathol Exp Neurol. 1993; 52:223-233
30. Mackinnon SE. Dellon AL. Hudson AR. Hunter DA. Chronic human nerve compression – a histological assessment. Neuropathol Appl Neurobiol 1986; 12:547-565
31. Ortman AJ. Sahenk AJ. Mendel JR. The experimental production of renaud bodies. J Neurol Sci. 1983; 62:233-241
32. Watanabe K. Collagenolytic proteases from bacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 2004; 63:520-526

33. 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
34. Kaneps AJ. Surgical options for treating tendon and ligament injuries. *Clin Tech Equine Pract.* 2007; 6:209-216
35. 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
36. Reef V. Musculoskeletal ultrasonography In: REEF V. *Equine diagnostic ultrasound.* Philadelphia WB Saunders. 1998: 61-62
37. 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
38. 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
39. 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; 51:11-18
40. 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
41. 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:170-176
42. 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; 36:1241-1245
43. Judy C. Surgical management of suspensory ligament injuries. *ACVS Proceedings* 2009: CD ROM
44. 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; 41:391-399
45. 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
46. Jackman BR. Baxter GM. Doram RE. Allen D. Parks AH. Palmar digital neurectomy in horses. 57 cases (1984-1990). *Vet surg.* 1993; 22:285-288
47. Ferraro GL. Stover SM. Whitcomb MB. Suspensory ligament injuries in horses. *Center of Equine Health UC Davis*, 2010.
48. Dyson SJ. Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (92-00). *Equine Vet J* 2004, 36, 415-419.
49. Dyson S, R Arthur, S Palmer, D Richardson. Suspensory ligament desmitis. *Vet Clin North Am Equine Pract* 1995, 11, 177-215.
50. Gaujoux-Viala, Dougados M. Efficacy and safety of steroid injections for shoulder and elbow tendonitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Rheum Dis* 2009; 68, 1843-1849.

51. Halper J, Kim B. Degenerative suspensory ligament desmitis as a systemic disorder characterized by proteoglycan accumulation. *BMC Vet Res* 2009; 2,12.
52. Souza MV, PR Van Weeren Van Schie H.T, van de Lest C. Regional differences in biochemical, biomechanical and histomorphological characteristics of the equine suspensory ligament. *Equine Vet J* 2010; 42, (7) 611-620.
53. Denoix J. Functional anatomy of tendons and ligaments in the distal limbs (manus and pes). *Vet Clin North Am Equine Pract* 1994 10, 273-322.
54. 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
55. Soffler C. Hermsanson JW. Muscular design in the equine interosseous muscle. *J Morphol* 2006; 267; 696-704
56. Dyson SJ. Proximal suspensory desmitis in the forelimb and the hind limb. *AAEP Proceedings* 2000; 46: 137-142
57. Crowe OM, Dyson SJ, Wright I. Treatment of chronic or recurrent proximal suspensory desmitis using radial pressure wave therapy in the horse. *Equine Vet. J.* 2004; 36(4): 313-316
58. Hewes CA, White N. 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
59. Bathe A. Plantar metatarsal neurectomy and fasciotomy for treatment of hind limb proximal suspensory desmitis. *ACVS Proceedings* 2003;13 CD Room
60. 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.* 2012; 44 (3): 361-367
61. Kalyani BS, Fisher BE. Compartment syndrome of the forearm: a systemic review. *J Hand Surg* 2011; 36<sup>a</sup>:535-543.
62. Scharmme M, Jossion A, L. 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.
63. Gibson K, Steel C. Condition of the suspensory ligament causing lameness in the horses. *Equine Vet. Educ* 2002;14(1):39-50
64. Dyson S. The suspensory apparatus. In: Rantanen N, Mckinon A. *Equine diagnostic ultrasonography.* WILIAM&WILKINS 1998:454
65. Hugges T, Eliashar E. 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

66. Sisson S. In Sisson and Gossman's The anatomy of the domestic mammals. SAUNDERS 349-375
67. Budras K, Sack W. Anatomy of the horse, an illustrated text 2ed MOSBY, 1994: 113-114
68. Toth F. Schumacher J. Schramme M. Proximal suspensory desmitis on the hind limbs. Cutting to cure, Compendium Equine, 2009: 308-318
69. Goodship A, Wilson A. The pathobiology and repair of tendon and ligament injury. Vet clin north Am. Equine Pract .1994; 10, 323-324.
70. Crevier Denoix, Collobert C. Mechanical properties of pathological equine superficial flexor tendons. Equine vet J 1997; 29, 23-26.
71. Dyson S. Hind limb lameness associated with proximal suspensory desmopathy and injury of the accessory ligament of the suspensory ligament in five horses. Equine Vet.Edu 2014;26(10)538-542
72. Guido M. Joris I. Cells, tissues and disease (principles of general pathology), BLACKWELL SCIENCE 1996;(2) 41-51
73. Woolf N. Cells tissues and disease 3<sup>ed</sup>. (The basis of pathology) W.B SAUNDERS 2000;427-428
74. Kumar V, Ramzi S. Robbins Basic pathology 7<sup>ed</sup> SAUNDERS 2003; (21) 778-779
75. Peter S. Robin R. Pathology illustrated 5ed, CHURCHILL LIVINGSTON, 2000; 606-607
76. Kirshenbaum A. Histology and cell biology, MOSBY, 2002; 177
77. Slauson D. Mechanisms of Disease (comparative pathology) 3<sup>ed</sup> MOSBY. 2002; 30-31.
78. Murray P. Brown. Common Lameness personal notes, University of Florida.
79. Dyson S. Proximal suspensory desmitis in hind limbs 42 cases. British Veterinary Journal; 1994 150: 279-285.
80. Kevin M. Randy B. Baxter G. Anesthetic diffusion following two approaches to block the DBLPN. Proceedings AAEP meeting 2013, Nashville, USA
81. Contino E. King M. In vivo diffusion characteristics following perineural injection of the deep branch of the lateral plantar nerve with mepivacaine or iohexol in horses. Equine veterinary journal 2014;1-5
82. Bioschofberger A. Konar M. Magnetic resonance imagine, ultrasonography and histology of the suspensory ligament origin: a comparative study of normal anatomy of warmbloods. Equine Vet J. 2006; 38 508-512
83. Labens R. Schramme M. Robertson I. Clinical, magnetic resonance, and sonographic imaging findings in horses with proximal plantar metatarsal pain. Vet Radiol. Ultrasound 2010; 51(1):11-1

84. Lanouis M. Vandeweerd J. Use of computed tomography to diagnose new bone formation associated with desmitis of the proximal aspect of the suspensory ligament in the third metacarpal and metatarsal bone of 3 horses. *J. Am. Vet Ass.* 2009; 234 514-518.
85. Dyson S. The distal tarsal region in: *Equine MRI 1<sup>ed</sup> WILEY – BLACKWELL.* 2011; 405-419.
86. Brokken MT. Schneider R. Magnetic resonance imaging features of proximal metatarsal and metacarpal injuries in the horse *Radio. Ultrasound* 2007;48 507- 517
87. Samson S. Trucker R. Magnetic resonance imaging of the proximal metacarpal and metatarsal regions. *Clin. Tech. Equine Pract.* 2007; 6 78- 85
88. Crowe O. Dyson S. Treatment of chronic or recurrent PSD using radial pressure wave therapy. *Equine Vet J.* 2004; 36, 313-316.
89. Boening J. Liffeld S. Radial extracorporeal Shock wave therapy for chronic insertion desmopathy of the PSL. *Procc Am Ass Equine Pract.* 46, 205-207.
90. Lischer C Ringer S. Treatment of chronic proximal suspensory desmitis in horses using focused electrohydraulic shockwave therapy. *Schweitzer Arch. Tierhelik* 2006; 148, 561-569.
91. Mitchel R. Treatment of tendon and ligament injuries with UBM powder in: *Proceedings of the conference on equine sports medicine and science Cambridge UK* 2006; 213-218.
92. Schulze T, Budras K. Zur Klinisch-funktionellen Anatomie des M. Interosseus medius der hintergliedmabe im hinblick auf die insertions desmopathie des pferdes-kernspin, computer tomographische-und, morphologische Untersuchungen. *Pfedeheilkunde* 24, 343-350
93. Mero J. Pool R. Twenty cases of degenerative suspensory desmitis in Peruvian Paso horses. *Proc. Am Ass Equine Pract* 2002; 48 329-334
94. Mero J. Scarlett J. Diagnostic criteria of degenerative suspensory ligament desmitis in Peruvian Paso horses. *J. Equine Vet Sci.* 2005; 25, 224-228.
95. Schenkman D. Armien A. Systemic proteoglycan deposition is not a characteristic of equine degenerative suspensory ligament desmitis. *J. Equine Vet Sci* 2009; 29, 748-752.
96. Miller K. Juzwiaik J. Bilateral degenerative suspensory desmitis with acute rupture in a standardbred colt. *Equine Vet Educ* 2010; 22 267-270.
97. Koing H. Liebicht H. Nervous system in: *Veterinary Anatomy of domestic mammals 3ed Schlutersch* 2007; 553.
98. Valentine B. McGaving M. Skeletal muscle in *Pathologic basis of veterinary disease 4ed ELSEVIER* 2007; 991-993.
99. Tsai F.C. Mardini S. Selective neurectomy of the gastrocnemius and soleus muscles for calf hypertrophy: an anatomical study and 700 clinical cases. *Plast. Reconstr. Surg* 2008; 122, 178-187.
100. Davatz G. Andreo J. Apoptosis in denervated skeletal muscle. *Int J. Morphol.* 2007; 25, 529-536

101. Bodines S.C. Stitt T. AKT/mTOR pathways is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can't prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biology* 2001; 3, 1014-1019.
102. Song Y. Li Y. Muscle- specific expression of IGF-1 blocks angiotensin II- induces skeletal muscle wasting. *J. Clin Invest* 2005; 115, 451-458.
103. Tsai F.C, Ming S. Comparison between neurectomy and botulinum Toxin An injection for denervated skeletal muscle. *Journal of neurotrauma* 2010; 27, 1509-1516.
104. Ferreira R. Neuuparth M. Evidences of apoptosis during the early phases of soleus muscle atrophy in hind limbs suspended mice. *Physiol. Res.* 2008;57, 601-611
105. Vahsen N. Cande C. AIF deficiency compromises the oxidative phosphorylation. *EMBO J.* 2004; 23,4679-4689
106. Zhang D. Mei L. Expression of myostatin RNA transcript and protein in gastrocnemius muscle of rats after sciatic nerve resection. *J of Muscle Resear. And Cell Motility* 2006; 27, 37-44.
107. Mpherron A, Lee SJ. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TFG-B superfamily member. *Nature* 1997; 387, 83-90.
108. Thomas M, Langley B. Myostatin a negative regulator of muscle growth function by inhibition myoblast proliferation. *J Biolo. Chem* 2000; 275, 40235-40243.
109. Baumann AP, Ibeunja C. Myostatin expression in age and denervation- induced skeletal muscle atrophy. *Am J. Physiology* 1988; 254, 897-902
110. Savolainen J. Myllyla V. Effects of denervation and immobilization on collagen synthesis in rat skeletal muscle and tendon. *J. Histochemistry* 1988; 89 (4), 333-342.
111. Bukowieck C. Bramlage L. In vitro strength of the suspensory apparatus in training and resting horses. *Vet Surgery* 1987; 16(2), 126-130.
112. Bowman KF. Leitch M. Complications during treatment of traumatic disruptions of the suspensory apparatus in thoroughbred horses. *J. Am Vet Med Assoc.* 1984; 184(6), 706-715.
113. Major M. Grant B. Suspensory apparatus prosthesis in horse: Part 1: in vitro mechanical properties Part 2: in vivo evaluation in a suspensory apparatus disrupt model. *Vet surgery* 1992 21(2) part 1:121-125, part 2: 126-132.
114. Hill A. Stover S. Risk factors for and outcome of non-catastrophic suspensory apparatus injury in thoroughbred racehorses. *JAVMA* 2001; 218, 1136-1144.
115. Honnas CM, Snyder J. Traumatic disruption of the suspensory apparatus in foals. *Cornell Vet* 1990;80, 123-133
116. 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

117. Gibson K. Steel M. Conditions of the suspensory ligament causing lameness in horses. *Equine Veterinary Educ.* 2002; 14 (1), 39-50.
118. Miller G. Ligament Function: pulling all together, *Veterinary Care in Horse Journal.* 2012.
119. Guasco P. Kelly G. Schumacher J. Henry R. Excision of the deep branch of the lateral palmar nerve of horses to resolve lameness caused by proximal suspensory desmitis. *Vet. Surgery* 2013; 42. P. 296-301.
120. Cummings JF. Fubin SL. Todhunter RJ. Attempts to prevent equine post neurectomy neuroma formation through retrograde transport of two neurotoxins, doxorubicin and ricin. *Equine Vet J.* 1988; 20 p. 451-456.
121. Xie L. Spencer N. Beadle R. Gaschen L. Butcher M. Lopez M. Effect of athletic conditioning on horses with Degeneration of the suspensory ligament desmitis: A preliminary report. *Veterinary Journal* 2011; 189 P. 49-57
122. Hegreberg G. Reed S. Skeletal muscle changes associated with equine myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol.* 1990; 80 p. 426-431.
123. Andreani C. Li B. Lehar M. Southwood L. Habecker P. Flint W. Myosin heavy chain composition in normal and atrophic equine laryngeal muscle. *Vet Pathology* 2006; 43 p. 881-889.
124. Bedford H. Valberg S. Firshman A. Lucio M. Boyce M. Trumble T. Histopathologic findings in the sarcocaudalis dorsalis medialis muscles of horses with vitamin E- responsive muscle atrophy and weakness. *JAVMA* 2013; 242 (8), p. 1127-1137.
125. General Welfare and Veterinary regulations in: *FEI VETERINARY REGULATIONS.* 2014; p.55-68

### 13. ANEXO

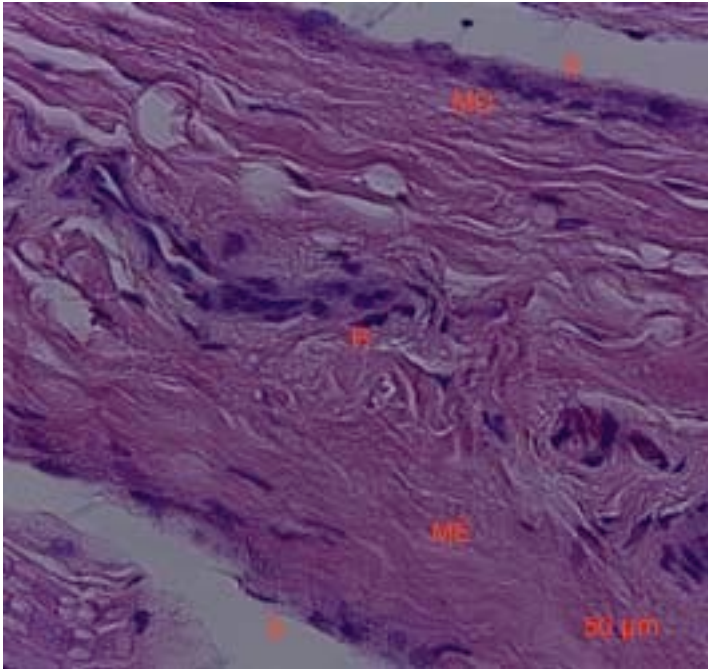


Figura 1. Fotografía (x 40) de corte longitudinal de un fascículo tratado de la RPNPaL; donde se observa expansión mixomatosa y cuerpos de Renaut. (hematoxilina / Eosina). S, subperineuro; ME, expansión mixomatosa; R, cuerpos de Renaut; MD, degeneración de la mielina.



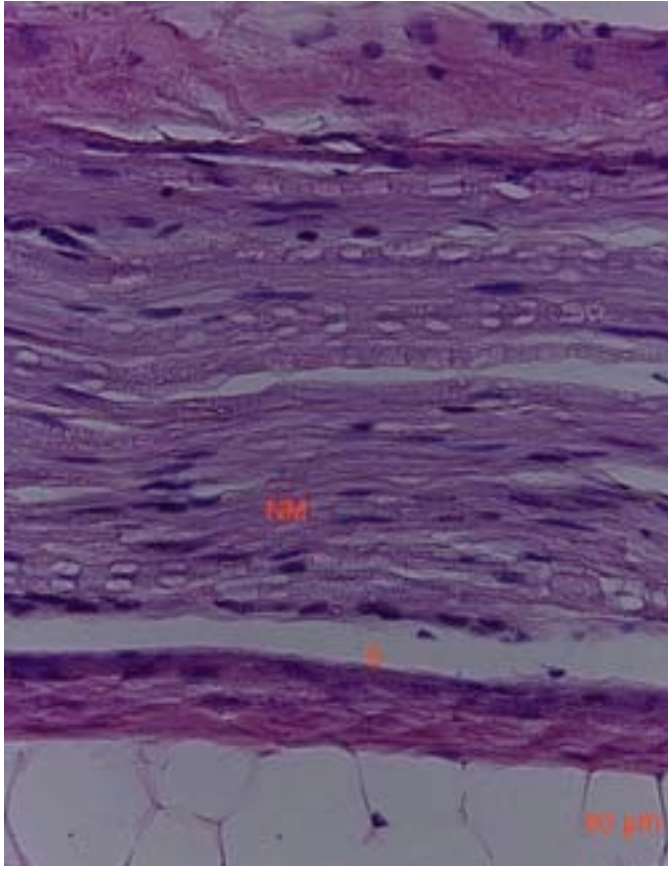


Figura 2. Fotografía (x 40) de un corte longitudinal de un fascículo control de la RPNPaL; se observan las fibras mielinizadas normales (hematoxilina / Eosina). NM, fibras mielinizadas normales; S, subperineuro.

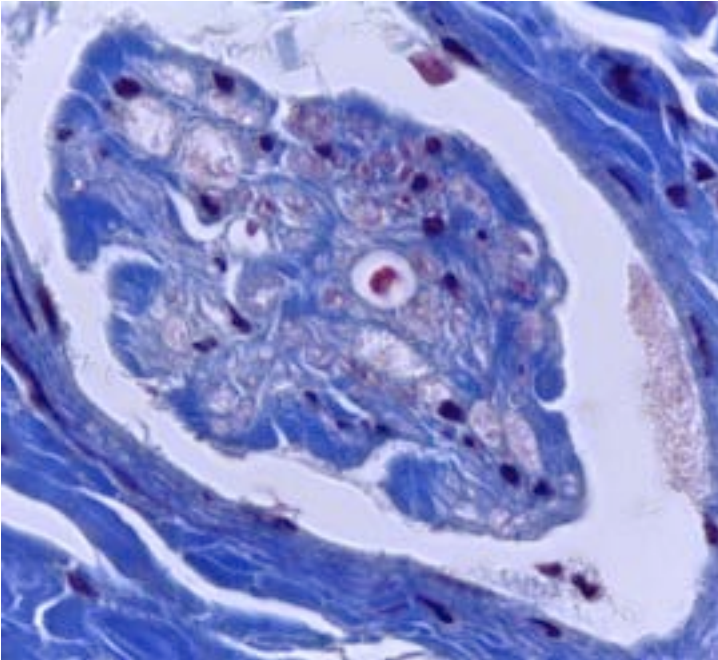


Figure 3. Fotografía (x 100) de un fascículo tratado de la RPNPaL en corte transversal. El tejido conectivo se observa en azul y la mielina en rosa. Se observa reemplazo de las fibras nerviosas con colágeno y los núcleos de las células de Schwann se observan edematosos y con pérdida de axons y mielina. (tricrómica de Masson)

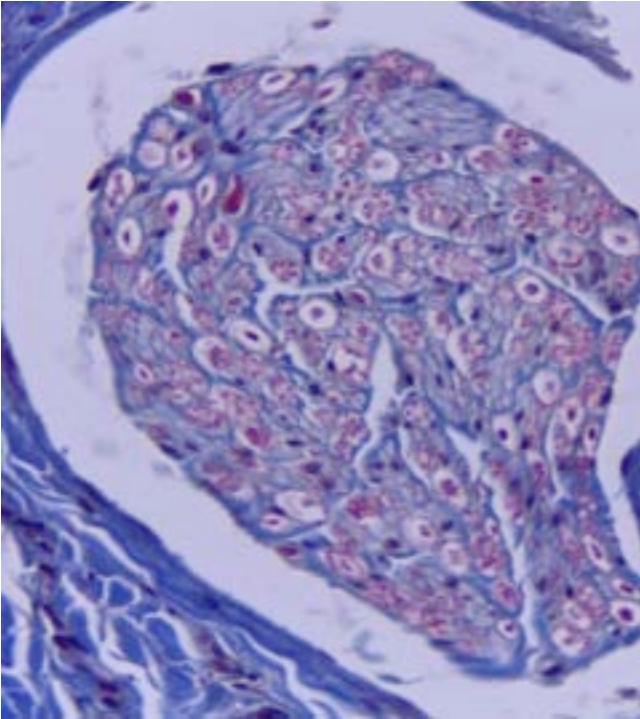
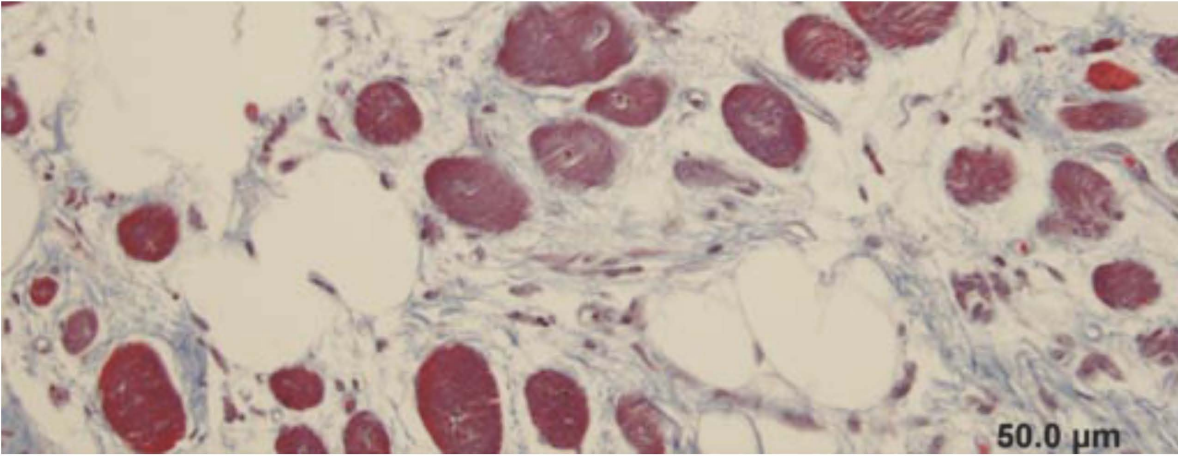
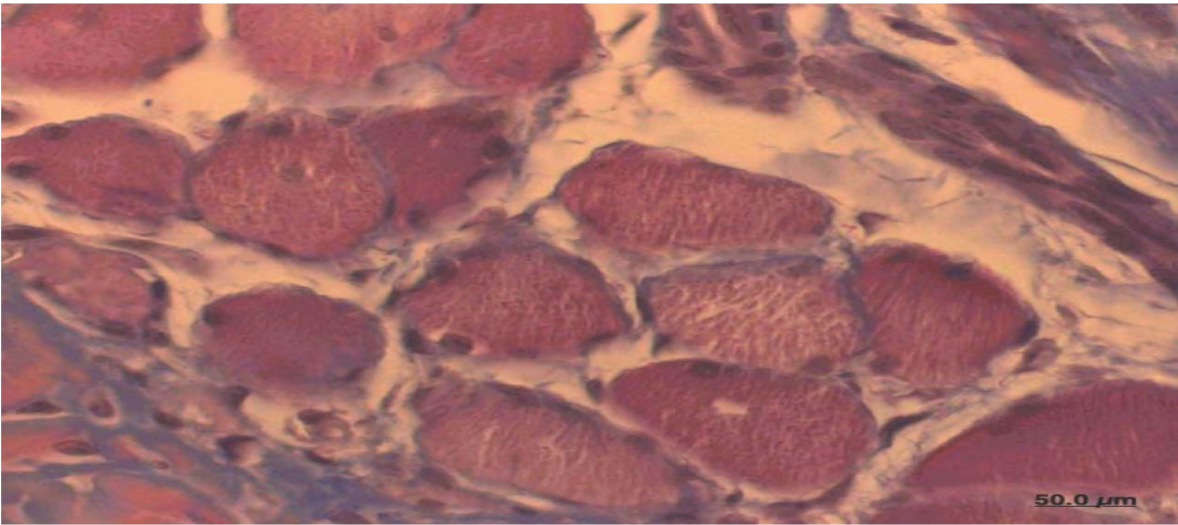


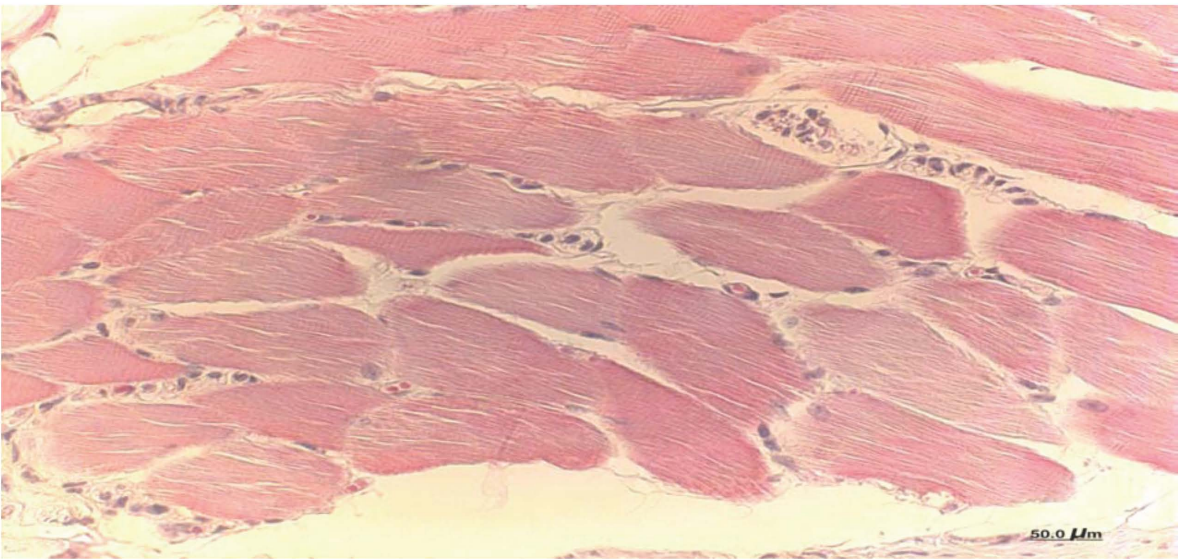
Figura 4. Fotografía (x 100) de un fascículo de la RPNPal normal (control) en corte transversal. Las fibras mielinizadas normales se observan en rosa. (Tricrómica de Masson).



A



B



C

Figura 5. Fotografía microscópica (x 40) de un corte transversal de la porción proximal del ligamento suspensor de un miembro torácico donde se indujo desmitis y se posteriormente se neurectomizó (A). El tejido muscular se observa en color rojo y el tejido conectivo en azul. Las fibras musculares se observan encogidas debido a la atrofia y los ligamentos contienen mayor cantidad de tejido conectivo y adiposo comparados con los ligamentos donde solo se neurectomizó (B). La forma y el tamaño de las fibras musculares de los ligamentos donde no se realizó neurectomía (controles) se observan normales y los núcleos se localizan en la periferia (C). (Tricrómica de Masson).

## TABLAS.

**Tabla 1.**

Suma del Vector ( amplitud) de la claudicación (mm)  
media  $\pm$  d.e.

Evaluación durante las diferentes etapas	
Tiempo cero	5.1 $\pm$ 0.643
8 semanas posteriores a la inducción de la desmitis	91.3 $\pm$ 11.4 *
2 semanas después de la neurectomía de la RPNPaL	6.6 $\pm$ 0.82

\* Rebasa el umbral establecido de 8.5 mm en claudicaciones de miembros anteriores

**Tabla 2.** Anormalidades observadas y su incidencia durante la evaluación histológica de los nervios que fueron removidos de los miembros torácicos del grupo tratado y del grupo control.

Escala	Lesiones histológicas presentes en los nervios	Nervios tratados	Nervios controles
0	Apariencia normal	0	8
1	Mínima expansión del subperineuro con poca expansión mixomatosa.	8/8	0
2	Marcada expansión del perineuro con expansión mixomatosa entre los fascículos, formando cuerpos de Renaut.	6/8	0
3	Reemplazo de las fibras nerviosas por colágeno . Los núcleos de las células de Schwann se observan edematosos con pérdida de axones y mielina.	8/8	0

**Tabla 3**

Medidas obtenidas del espesor (**cm**) de los cortes realizados de los ligamentos suspensores de caballos del grupo tratado A (neurectomizados con desmitis previa) y grupo tratado B (neurectomizados) 8 semanas después de la neurectomía de la RPNPaL.

<b>GRUPO</b>	<b>MEDIA</b>	<b>D. E.</b>	<b>P &lt;0.6351</b>
TRATADO A	1.5	0.9	
TRATADO B	1.58	0.11	

**Table 4**

Medidas obtenidas del ancho (**cm**) de los cortes realizados de los ligamentos suspensores de caballos del grupo tratado A (neurectomizados con desmitis previa) y grupo tratado B (neurectomizados) 8 semanas después de la neurectomía de la RPNPaL.

<b>GRUPO</b>	<b>MEDIA</b>	<b>D. E.</b>	<b>P &lt;0.0414</b>
TRATADO A	0.46	0.02	
TRATADO B	0.54	0.03	

**Tabla 5**

Medidas obtenidas del área ( $\mu\text{m}^2$ ) de tejido muscular de los ligamentos suspensores de caballos del grupo tratado A (neurectomizados con desmitis previa) y grupo tratado B (neurectomizados).

<b>GRUPO</b>	<b>MEDIA</b>	<b>D. E.</b>	<b>P &lt;0.0003</b>
TRATADO A	31,347	1,904.3	
TRATADO B	51,133	2,231.6	

**Tabla 6**

Medidas obtenidas del área ( $\mu\text{m}^2$ ) de tejido adiposo de los ligamentos suspensores de caballos del grupo tratado A (neurectomizados con desmitis previa) y grupo tratado B (neurectomizados).

<b>GRUPO</b>	<b>MEDIA</b>	<b>D. E.</b>	<b>P &lt;0.0002</b>
TRATADO A	1,183	78.4	
TRATADO B	853	47.02	

**Tabla 7**

Medidas obtenidas del área ( $\mu\text{m}^2$ ) de tejido conectivo de los ligamentos suspensores de caballos del grupo tratado A (neurectomizados con desmitis previa) y grupo tratado B (neurectomizados).

<b>GRUPO</b>	<b>MEDIA</b>	<b>D. E.</b>	<b>P &lt;0.0003</b>
TRATADO A	610,750	2,046.3	
TRATADO B	392,139	2,981.15	



