



UNIwersytet
Przyrodniczy
we Wrocławiu

UNIwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Katedra Immunologii, Patofizjologii i Prewencji Weterynaryjnej

ROZPRAWA DOKTORSKA

DIAGNOSTYKA SUBKLINICZNEJ POSTACI OCHWATU U KONI

Diagnostics of subclinical laminitis in horses

Lek. wet. Magdalena Senderska-Płonowska

Promotor: prof. dr hab. Tadeusz Stefaniak

Promotor pomocniczy: dr Paulina Zielińska

Wrocław, 2022

SPIS TREŚCI

1. Wstęp	13
1.1. Ochwat	13
1.2. Przyczyny ochwatu u koni	14
Ochwat z powodu uogólnionej reakcji zapalnej (SEPSIS-Related Laminitis)	15
Ochwat z powodu zaburzenia metabolicznych i endokrynologicznych	18
Ochwat przeciążeniowy	21
1.3. Ochwat kliniczny (ostry i przewlekły) i subkliniczny	22
1.4. Diagnostyka klinicznego ochwatu	27
Wywiad	27
Badanie kliniczne	27
Badanie ortopedyczne	28
Białka ostrej fazy (BOF)	35
Insulina	38
Anatomiczne aspekty kopyta konia związane z ochwatem	38
2. Cel i zakres pracy	43
3. Materiał i metody	43
3.1. Materiał	43
3.2. Metody	45
Badanie kliniczne koni	45
Parametry badania radiologicznego	46
Badanie radiologiczne	52
Oznaczanie białek ostrej fazy oraz insuliny	53
Badanie kopyt	54

Badanie histologiczne	60
Sposób klasyfikacji koni do grup.....	63
Metody statystyczne.....	63
4. Wyniki.....	65
4.1. Wyniki badania RTG kopyt	67
4.2. Wyniki badania makroskopowego.....	69
4.3. Powiązania między zmianami dostrzegalnymi makroskopowo, a dostrzegalnymi w RTG... ..	72
4.4. Wyniki badanych parametrów krwi.....	77
4.5. Powiązania między zmianami dostrzegalnymi makroskopowo a badaniami krwi.....	80
4.6. Powiazania między RTG a badaniami krwi.....	80
4.7. Badanie histologiczne	81
5. Dyskusja.....	84
5.1. Zmiany dostrzegalne makroskopowo u koni z poszczególnych grup.....	84
5.2. Zmiany widoczne w badaniu RTG	96
5.3. Powiązania między wynikami badania makroskopowego i RTG	98
5.4. Badania krwi	103
5.5. Badanie histologiczne	107
5.6. Powstawanie ochwatu	112
5.7. Ograniczenia pracy i rekomendacje do dalszych badań:	115
6. Wnioski	116
8. Indeks rycin.....	117
9. Indeks zdjęć.....	118
10. Bibliografia	121

WYKAZ UŻYTYCH SKRÓTÓW

ACTH - hormon adrenokortykotropowy

BCS – *ang. body condition score*, skala kondycji ciała

BOF – białka ostrej fazy

CE – *ang. conary – extensor process distance = founder distance*, odległość opuszczenia kości kopytowej

DAMP - *ang. Danger/Damage Associated Molecular Patterns*, struktury molekularne związane z uszkodzeniem, struktury molekularne związane z zagrożeniem

DDFT – *ang. deep digital flexor tendon*, ścięgno mięśnia zginacza głębokiego palca

EMS – *ang. Equine Metabolic Syndrome*, syndrom metaboliczny koni

Fb – fibrynogen

Hp – haptoglobina

HWT – *ang. hoof wall thickness*, grubość ściany kopyta

ID – *ang. insulin dysregulation*, rozregulowanie wydzielania insuliny

KPELL – *ang. keratinized primary epidermal length*, długość zrogowaciałej części listewki rogowej pierwszorzędowej

LPS – Lipopolisacharyd

P3 – *ang. third phalanx*, trzeci człon palcowy, kość kopytowa

PA – *ang. palmar/plantar angles*, kąt dłoniowy/podeszwy

PAMP - *ang. pathogen-associated molecular patterns*, wzorce molekularne związane z patogenami

PCL – *ang. palmar cortical length*, dłoniowa długość kości kopytowej

PDL – *ang. primary dermal laminae*, listewka rogotwórcza I rzędowa

PEL – *ang. primary epidermal laminae*, listewka rogowa I rzędowa

PELL – *ang. primary epidermal laminae length*, długość listewki rogowej I rzędowej

PRR - ang. *pattern recognition receptors, pathogen recognition receptors*, Receptory rozpoznające wzorce, inaczej receptory rozpoznające patogeny

PPID – ang. *pituitary pars intermedia dysfunction*, dysfunkcja części pośredniej przysadki mózgowej

SAA – ang. *serum amyloid A*, surowiczy amyloid A

SADP – ang. *suspensory apparatus of the distal phalanx*, aparat zawieszający kość kopytową

SARA – ang. *subacute rumen acidosis*, podostra kwasica żwacza

SDL – ang. *secondary dermal laminae*, listewka rogowatowa II rzędowa

SEL – ang. *secondary epidermal laminae*, listewka rogowa II rzędowa

SIRS – ang. *systemic inflammatory response syndrome*, zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej

SLL – ang. *supporting limb laminitis*, ochwat przeciążeniowy

TELL – ang. *total epidermal laminae*, całkowita długości listewki rogowej pierwszorzędowej

STRESZCZENIE

WSTĘP: Ochwat jest chorobą koni znaną od wieków, jednak wyniki badań z dwóch ostatnich dekad rzucają nowe światło na to schorzenie. Dowiedziono, że ochwat spowodowany problemami endokrynologicznymi, bardzo często, zanim rozwinie się w kliniczną formę, istnieje w formie utajonej, nazywanej ochwatem subklinicznym objawiającej się m.in.: poszerzeniem linii białej, płaską podszwą czy nierównoległymi pierścieniami kopytowymi przy braku kulawizny. Uchwycenie niewielkich zmian w kopycie przez podkuwacza lub przez lekarza weterynarii jest istotnym sygnałem dającym szansę na podjęcie stosownych działań zapobiegających rozwojowi choroby.

CEL: W dostępnym piśmiennictwie światowym brakuje informacji na temat diagnostyki subklinicznego ochwatu u koni. Pomimo, że ochwat jest chorobą znaną od tysiącleci, a subkliniczna postać choroby jest coraz częściej omawiana w środowisku lekarsko-weterynaryjnym i podkuwniczym, to nie ma jasnych standardów rozpoznawania tego zaburzenia.

Niewielkiego stopnia zmiany w obrębie puszk kopytową mogą być łatwo zaobserwowane przez lekarza weterynarii lub podkuwacza i informować o zaburzeniach homeostazy, ostrzegając przed ciężką chorobą jaką jest ochwat.

1. Ocena zmian makroskopowych, widocznych na kopytach pozyskanych podczas uboju, mogących wskazywać na subkliniczny ochwat.
2. Określenie zmian sugerujących uszkodzenie aparatu zawieszającego kopyta widocznych podczas badania radiologicznego pozyskanych kończyn.
3. Analiza wybranych parametrów morfometrycznych listewek tworzywa kopytowego w badaniu histologicznym.
4. Wskazanie zależności między zmianami makroskopowymi, radiologicznymi i histologicznymi
5. Ocena czy wartości wybranych markerów stanu zapalnego (Fb, Hp, SAA) oraz insuliny w krwi pobranej przy uboju koni korelują ze zmianami makroskopowymi, radiologicznymi i histologicznymi wskazującymi na uszkodzenie aparatu zawieszającego kopyta.

METODY: Pozyskano krew i kopyta od 55 koni niewykazujących ostrego ochwatu (brak postawy ochwatowej, brak tętnienia tętnic palcowych oraz brak podwyższonej ciepłoty kopyt) z ubojni koni. Po wykonaniu zdjęć radiologicznych podzielono konie na grupy według zmian: kąt rotacji kości kopytowej powyżej 2 stopni, odległość opuszczenia kości kopytowej powyżej 10 mm i stosunek dłoniowej długości kości kopytowej do grubości przedniej ściany puszki powyżej 28%. Konie ze wszystkimi zmianami zostały uznane za konie z klinicznym ochwatem, konie z jedną lub dwoma zmianami zostały zaliczone do grupy koni z ochwatem subklinicznym, a konie bez zmian do grupy koni zdrowych. Na radiogramach oceniono również grubość podeszwy i kąt dłoniowy. Następnie wykonano korekcje kopyt i odnotowano: infekcje strzałki, krwiaki podeszwy, poszerzenie linii białej, kształt przedniej ściany, pierścienie kopytowe oraz kształt podeszwy. We krwi zbadano obecność fibrynogenu oraz insuliny, u części koni oceniono również stężenie haptoglobiny i SAA. Dwadzieścia koni zostało wylosowanych do badania histologicznego, w którym oceniono długość i kształt listewek rogowych i rogotwórczych I rzędu.

WYNIKI: Pomiędzy grupami nie było różnic w badaniu radiologicznym (kąt dłoniowy, grubość podeszwy) ani w makroskopowym badaniu. Konie z płaską podeszwą były istotnie cięższe ($565,88 \text{ kg} \pm 63,20$) niż konie z prawidłową podeszwą ($493,62 \text{ kg} \pm 89,67$) ($p < 0,05$). Przerośnięcie kopyt nie wiązało się z częstszym występowaniem żadnych ze zmian dostrzegalnych makroskopowo, podobnie jak istnienie krwiaków.

Odnaleziono wiele korelacji pomiędzy badaniami radiologicznymi i makroskopowymi, oraz między makroskopowymi:

- Grubszą podszwę zanotowano u koni bez pierścieni kopytowych w stosunku do koni z pierścieniami oraz u koni z prawidłową linią białą w stosunku do koni z poszerzoną linią białą ($p < 0,05$).
- Konie z wklęsłą przednią ścianą miały istotnie wyższy kąt rotacji ($p < 0,05$).
- Poszerzona linia biała występowała istotnie częściej u koni z płaską podszwą. U żadnego z koni z prawidłową linią białą nie stwierdzono płaskiej podszwy ($p < 0,01$).
- Wszystkie konie z płaską podszwą miały poszerzoną linię białą, ale wśród koni z poszerzoną linią białą występowały zarówno konie z prawidłową jak i wypłaszczoną podszwą ($p < 0,05$).
- Konie z prawidłową koncentracją Fb były średnio starsze ($15,9 \text{ lat} \pm 7,8$) niż konie z podwyższoną koncentracją Fb ($10,15 \pm 7,2$)
- Koncentracja insuliny była w normie u wszystkich koni i nie zanotowano korelacji pomiędzy koncentracją insuliny a innymi badanymi czynnikami.

W badaniu histologicznym

- Nie odnaleziono różnic statystycznych pomiędzy grupą koni zdrowych a koni z subklinicznym ochwatem.
- Średnia długość zrogowaciałej części listewki rogotwórczej (KPELL) u koni z prawidłową linią białą była zdecydowanie mniejsza ($169,5 \pm 195,5 \mu\text{m}$) od koni z poszerzoną linią białą ($356 \pm 67 \mu\text{m}$).
- Nie stwierdzono proliferujących listewek rogotwórczych u koni z gładką ścianą, ale na 14 koni z pierścieniami aż u 6 stwierdzono przynajmniej jedną listewkę proliferującą. Różnica między końmi z pierścieniami a bez pod tym względem jest istotna statystycznie $p < 0,001$, należy ostrożnie tę różnicę interpretować, ponieważ tylko 4 konie miały gładkie ściany kopyta.

WNIOSKI: Badane parametry radiologiczne na podstawie których klasyfikowano konie do grup, nie nadają się do diagnostyki subklinicznego ochwatu. Cienka podszwa, będąca częstym problemem u koni, powinna być podejrzewana u koni z pierścieniami kopytowymi i poszerzoną linią białą. Wklęsłą

przednia ściana może sugerować występowanie rotacji kości kopytowej. Występowanie proliferacji listewek rogotwórczych u części koni z pierścieniami kopytowymi wskazuje, że ich powstawanie jest związane z wewnętrzną częścią ściany kopyta i nie należy ich lekceważyć. Te spostrzeżenia należy potwierdzić na większej liczbie koni. W obrazie histologicznym poszerzona linia biała jest związana z większą długością zrogowaciałej części listewki rogowej pierwszorzędowej (KPELL). Ocena linii białej powinna być badana podczas korekcji kopyt. Niniejsza praca wskazuje, że defekty, takie jak lekko wklęsła przednia ściana, równoległe pierścienie kopytowe czy poszerzona linia biała są najprawdopodobniej efektem przebytych procesów patologicznych kopyta. Wyniki badań nie potwierdziły ani nie zaprzeczyły ochwatomemu pochodzeniu wyżej wymienionych zmian.

SUMMARY

BACKGROUND: Laminitis is an equine disease known for centuries, but the results of studies from the last two decades shed new light on the disease. It has been proven that laminitis caused by endocrine problems, very often, before it develops into a clinical form, exists in a latent form, called subclinical laminitis. Subclinical laminitis is manifested by: widening of the white line, flat sole or non-parallel hoof rings in the absence of lameness. Capturing small changes in the hoof by a farrier or by a veterinarian is an important signal that gives a chance to take appropriate steps to prevent the development of the disease.

AIM: The available international literature is lacking information on the diagnosis of subclinical laminitis in horses. Despite the fact that laminitis is a disease known for millennia, and the subclinical form of the disease is increasingly discussed in the veterinary and farriery environment, there are no clear standards for the diagnosis of this disorder.

Slight changes in the hoof capsule can be easily observed by a veterinarian or a horseshoe maker and inform about disturbances in homeostasis, warning against a serious disease such as laminitis.

1. Assessment of macroscopic changes visible on slaughtered hooves that may indicate subclinical laminitis.
2. Identification of lesions suggesting damage to the suspensory apparatus of distal phalanx visible during the radiological examination of the acquired limbs.
3. Analysis of selected morphometric parameters of hoof lamellae in a histological examination.
4. Indication of the relationship between macroscopic, radiological and histological changes
5. Assessment of whether the values of selected markers of inflammation (Fb, Hp, SAA) and insulin in blood collected at slaughter of horses correlate with macroscopic, radiological and histological changes indicating damage to the suspensory apparatus of distal phalanx..

METHODS: Blood and hooves were obtained from 55 horses that did not show acute laminitis (no specific laminitis stance, no pulsation of the digital arteries and no elevated hoof temperature) from a slaughterhouse. The following procedures were performed sequentially with every hoof: cleaning the hooves, photographic documentation, radiographic examination, trimming the hooves. The horses were

divided into groups according to the changes found in radiological examination: the angle of rotation of the coffin bone above 2 degrees, the coronary – extension process distance above 10 mm, and the ratio of the palmar cortical length to the thickness of the front hoof wall above 28%. Horses with all three lesions were considered as clinical laminitis horses, horses with one or two lesions were classified as subclinical laminitis, and horses with no changes were classified as healthy. The thickness of the sole and the palmar angle were also assessed on the radiographs. Then hoof trimming were performed and the following changes were noted were: thrush, sole red discoloration, widening of the white line, shape of the hoof wall, hoof rings and shape of the sole. The presence of fibrinogen and insulin in the blood was tested, and the concentration of haptoglobin and serum amyloid A in some horses was also assessed. Twenty horses were randomly selected for histological examination in which the length and shape of first order horn and keratogenic lamellae were assessed.

RESULTS: There were no differences in radiographic examination (palmar angle, sole thickness) and macroscopic examination between the groups. Horses with a flat sole were significantly heavier ($565.88 \text{ kg} \pm 63.20$) than horses with a correct sole ($493.62 \text{ kg} \pm 89.67$) ($p < 0.05$). Hoof overgrowth was not associated with the increased occurrence of any macroscopically discernible lesions, nor was the presence of hematomas. Many correlations have been found between radiological and macroscopic examinations, and between macroscopic examinations:

- A thicker sole was noted in horses without hoof rings as compared to horses with hoof rings, and in horses with a normal white line compared to horses with a broadened white line ($p < 0.05$),
- Horses with a concave hoof wall had a significantly higher angle of rotation ($p < 0.05$),
- A widening white line was also significantly more frequent in horses with flat soles. None of the horses with a normal white line had a flat sole ($p < 0.01$).
- All horses with a flat sole had a widened white line, but horses with a normal and flattened sole were found among horses with a broadened white line ($p < 0.05$).
- Horses with normal Fb concentration were on average older ($15.9 \text{ years} \pm 7.8$) than horses with increased Fb concentration (10.15 ± 7.2)
- Insulin concentration was normal in all horses and there was no correlation between insulin concentration and other factors tested.

In a histological examination:

- No statistical differences were found between the group of healthy horses and horses with subclinical laminitis.
- The mean length of the keratinized part of the keratinous laminae (KPELL) in horses with a normal white line was significantly shorter ($169.5 \pm 195.5 \mu\text{m}$) than in horses with an extended white line ($356 \pm 67 \mu\text{m}$).
- No proliferating lamellae were found in hooves without hoof rings, but out of 14 horses with rings as many as 6 had at least one proliferative lamellae. The difference between horses with and without rings is statistically significant in this respect $p < 0.001$, this difference should be carefully interpreted as only 4 horses had smooth hoof walls.

CONCLUSIONS: The investigated radiological parameters on the basis of which the horses were classified into groups are not suitable for the diagnosis of subclinical laminitis. The thin sole, which is a common problem in horses, should be suspected in horses with hoof rings and a broadened white line. A concave front wall may suggest rotation of the coffin bone. The presence of lamellae proliferated in some horses with hoof rings indicates that their formation is related to the inner part of the hoof wall and should not be underestimated. These observations should be confirmed on a larger number of horses. In histology, the broadened white line is associated with the greater length of the keratinized part of the primary keratinised lamina (KPELL). The white line evaluation should be examined during hoof correction. This work shows that defects such as a slightly concave front wall, parallel hoof rings or a widened white line are most likely the result of past pathological processes in the hoof. The test results neither confirmed nor denied laminitis the origin of the above-mentioned changes.