

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ

**LAMINITE ASSOCIADA À SÍNDROME METABÓLICA EQUINA:
REVISÃO SISTEMÁTICA DOS FATORES DE RISCO E EVENTOS
FISIOPATOLÓGICOS**

LARISSA TONELLI NARDI

BOTUCATU – SP
Setembro / 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA – FMVZ

**LAMINITE ASSOCIADA À SÍNDROME METABÓLICA EQUINA:
REVISÃO SISTEMÁTICA DOS FATORES DE RISCO E EVENTOS
FISIOPATOLÓGICOS**

LARISSA TONELLI NARDI

Dissertação apresentada junto ao Programa
de Pós-graduação em Biotecnologia Animal
para obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

BOTUCATU – SP
Setembro / 2021

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Nardi, Larissa Tonelli.

Laminite associada à síndrome metabólica equina :
revisão sistemática dos fatores de risco e eventos
fisiopatológicos / Larissa Tonelli Nardi. - Botucatu, 2021

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Marcos Jun Watanabe

Capes: 50501070

1. Equinos - Doenças.
2. Laminite - Fatores de risco.
3. Resistência à insulina.
4. síndrome metabólica.

Palavras-chave: Equino; Hiperinsulinemia; Resistência à
insulina; Síndrome metabólica.

Nome do Autor: Larissa Tonelli Nardi

Título: Laminite associada à síndrome metabólica equina: revisão sistemática dos fatores de risco e eventos fisiopatológicos

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe

Presidente da Banca e Orientador

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof. Dr. Bruno Fornitano Cholfe

Membro da Banca

Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais

União dos Grandes Lagos – UNILAGO – São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Fabiana Ferreira de Souza

Membro da Banca

Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal

FMVZ – UNESP – Botucatu

Data da Defesa: 21 de setembro de 2021.

Dedico à minha família, amigos e a todos que tornaram possível esta conquista, em especial à minha avó, Aparecida Perin, que se juntou ao Pai neste ano e torcia imensamente pela minha vitória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele não teria esta oportunidade ímpar em minha vida, além de seguir essa jornada com muita saúde e proteção.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Marcos Jun Watanabe, que compreendeu minhas dificuldades, me deu conselhos e me auxiliou no desenvolvimento deste trabalho.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ – UNESP – Botucatu e ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, a todos os professores e funcionários, em especial a Profa. Dra. Fabiana Ferreira de Souza pelo auxílio na escolha do design a ser utilizado no projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Aos funcionários da Biblioteca do campus Botucatu que prontamente me auxiliaram e tiraram minhas dúvidas sobre a estruturação de uma revisão sistemática.

Aos meus pais, Susilene e Marcos, que são minha força, apoio e exemplo. Aqueles que fizeram de tudo e mais um pouco para que eu pudesse estar aqui e mesmo diante das dificuldades, me deram força e apoio para que eu continuasse.

Aos meus irmãos, Kauê e Nayla, por estarem sempre ao meu lado e que na minha fraqueza emocional muitas vezes me ergueram e foram essenciais para que eu vencesse minhas barreiras.

Ao meu namorado, Leonardo, que nunca mediu esforços para me dar seu apoio com tanta paciência e amor. Que seguiu firme ao meu lado durante esses anos e sempre foi meu maior torcedor.

Aos meus familiares e amigos que rezaram, me apoiaram e torceram pela minha vitória.

Aos meus colegas de pós-graduação, pesquisa e residentes, Kamila, Mariana Carvalho, Daniela, Gustavo, Ana Paula, Raymis, Fernanda, João Pedro, Emanuel, Daniel, Gabriel, José Ricardo, Mariana Rossi, Raíssa, Rebeca, Isabella, Carlos, Letícia, Joel, Heitor, Mariella Lucarelli, Isabella Reis, Maria Fernanda e Elisa. Gostaria de fazer um agradecimento especial a Kamila Pinheiro Paim, por ter sido uma amiga excepcional durante minha estada em Botucatu, me alegrou, foi uma companheira incrível e me deu muita força.

Aos meus Professores de graduação Prof. Dr. Bruno Cholfe e Prof. Juliana Machado que foram como meus pais da faculdade durante minha caminhada e sem o incentivo e ajuda deles não teria seguido meu propósito na pesquisa.

Aos pesquisadores Prof. Dr. Rafael Resende Faleiros da Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Profa. Dra. Claire Wylie da *Sydney School of Veterinary Science* e a Profa. Dra. Danica Pollard da *British Horse Society* que responderam aos meus e-mails prontamente e me auxiliaram na escolha do tema.

LISTA DE ABREVIATURAS

ECC – escore de condição corporal

EPC – escore de pescoço em crista

ET-1 – endotelina-1

GLUT – transportador de glicose

IGF – fator de crescimento semelhante à insulina

IL – interleucina

MAPK - proteína-quinase ativada por mitógeno

MMP – metaloproteinases

p-EHC – *clamp* euglicêmico - hiperinsulinêmico prolongado

PPID – disfunção da *pars intermedia* da pituitária

PI3K - fosfoinositídeo 3-quinase

SME – síndrome metabólica equina

TG - triglicerídeos

TNF – fator de necrose tumoral

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	1
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	2
2.1. Laminite equina.....	2
2.2. Síndrome metabólica equina (SME).....	4
2.3. Laminite endócrinopática.....	5
2.3.1. Desregulação da insulina	7
2.3.1.1. Hiperinsulinemia.....	7
2.3.1.2. Resistência insulina e sensibilidade à insulina.....	8
2.3.2. Obesidade	9
3. OBJETIVO	12
4. REFERÊNCIAS.....	13
CAPÍTULO 2	21
5. ARTIGO CIENTÍFICO	21

NARDI, L. T. Laminite associada à síndrome metabólica equina: revisão sistemática dos fatores de risco e eventos fisiopatológicos. Botucatu, 2021. 67p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

Resumo

A laminite é definida como afecção podal caracterizada por perda na integridade da conexão entre lâmina dérmica e epidérmica e é a segunda maior causa de óbito em equinos. A de maior ocorrência é a denominada laminite endocrinopática, a qual é marcada pela resistência à insulina dos tecidos ou hiperinsulinemia e pode ser causada pela síndrome metabólica equina (SME) ou disfunção da *pars intermedia* da pituitária (PPID). O objetivo desta revisão foi determinar evidências sobre os fatores de risco envolvidos no desenvolvimento da laminite associada à SME. A estratégia de busca foi realizada utilizando os termos *laminitis*, *syndrome metabolic* e *equidae* em sete bases de dados. Os principais critérios de elegibilidade foram estudos incluindo avaliação dos fatores de risco para a ocorrência de laminite associada a SME e descartaram disfunção da *pars intermedia* da pituitária nos animais avaliados. Foram encontrados 688 estudos, com 383 duplicados e excluídos. Trezentos e cinco estudos passaram por avaliação do título e resumo. A primeira seleção incluiu 85 artigos para leitura na íntegra e destes apenas 37 atenderam aos critérios de elegibilidade e foram incluídos neste estudo. Não foram encontradas evidências suficientes para determinar raça, sexo e idade como fatores de risco para laminite associada a SME. Dois estudos confirmaram o desenvolvimento da laminite a partir da indução por hiperinsulinemia. Oito estudos apresentaram evidências fortes da associação entre a concentração de insulina basal maior em animais laminíticos comparado aos não laminíticos. A obesidade foi associada a episódios de laminite em 6 estudos, encontrando também evidências de hipertrigliceridemia e hipoadponectinemia em animais laminíticos e obesos. A hiperinsulinemia na laminite endocrinopática associada à SME é o principal fator de risco desencadeante das diversas vias fisiopatológicas que ocorrem simultaneamente causando alterações no tecido laminar, confirmando mais uma vez seu papel na patogênese da doença. A obesidade se apresenta como um fator de risco por exacerbar a resistência à insulina, tornando o controle de peso e dos níveis de insulina imprescindíveis para prevenção da laminite endocrinopática. A ausência de um segundo avaliador na seleção dos estudos e a quantidade baixa de estudos epidemiológicos de laminite endocrinopática foram as principais limitações encontradas pelos autores. Esta é a primeira revisão sistemática realizada sobre o tema em questão.

Palavras-chave: equino, hiperinsulinemia, resistência à insulina, síndrome metabólica

NARDI, L. T. Laminite associada à síndrome metabólica equina: revisão sistemática dos fatores de risco e eventos fisiopatológicos [Laminitis associated with the equine metabolic syndrome: a systematic review of the risk factors and pathophysiological events]. Botucatu, 2021. 67p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP.

Abstract

Laminitis is defined as a foot disease characterized by loss in the integrity of the connection between the dermal and epidermal lamina and is the second leading cause of death in horses. The one with the highest occurrence is called endocrinopathic laminitis, which is marked by tissue insulin resistance or hyperinsulinemia and can be caused by equine metabolic syndrome (EMS) or pituitary pars intermedia dysfunction (PPID). The purpose of this review was to determine evidence on the risk factors involved in the development of laminitis associated with EMS. The search strategy was performed using the terms laminitis, metabolic syndrome, and equidae in seven databases. The main eligibility criteria were studies including evaluation of risk factors for the occurrence of EMS-associated laminitis and ruled out dysfunction of the *pars intermedia* of the pituitary in the evaluated animals. A total of 688 studies were found, with 383 duplicates excluded. Three hundred and five studies were reviewed for title and abstract. The first selection included 85 articles for reading in full and of these only 37 met the eligibility criteria and were included in this study. There was insufficient evidence to determine race, sex and age as risk factors for EMS laminitis. Two studies confirmed the development of laminitis from hyperinsulinemia induction. Eight studies showed strong evidence of the association between higher basal insulin concentration in laminitic animals compared to non-laminitic animals. Obesity was associated with episodes of laminitis in 6 studies, also finding evidence of hypertriglyceridemia and hypoalbuminemia in laminitic and obese animals. Hyperinsulinemia in endocrinopathic laminitis associated with EMS is the main risk factor triggering the various pathophysiological pathways that occur simultaneously causing changes in lamellar tissue, confirming once again its role in the pathogenesis of the disease. Obesity is a risk factor for exacerbating insulin resistance, making weight and insulin levels control essential for prevention of endocrinopathic laminitis. The absence of a second reviewer in the selection of studies and the low number of epidemiological studies of endocrinopathic laminitis were the main limitations found by the authors. This is the first systematic review performed on the topic in question.

Keywords: equine, hyperinsulinemia, insulin resistance, metabolic syndrome

CAPÍTULO 1

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A laminite é uma enfermidade de alta mortalidade considerada a segunda maior causa de morte em equinos com tratamento oneroso e prognóstico reservado (POLLITT, 2008; LEISE, 2018) tornando-se uma enfermidade desafiadora para veterinários e pesquisadores (MENZIES-GOW, 2011).

Nos Estados Unidos foi estimado um custo em torno de US\$ 13 milhões de dólares com gastos exigidos para o diagnóstico, tratamento e prognóstico, observando uma incidência em 15% do rebanho e claudicação e severidade em 75% dos casos (MENZIES-GOW, 2011). Em uma avaliação de prognóstico observou-se que 30% dos animais foram submetidos à eutanásia no prazo de um ano após diagnóstico de laminite, sendo a maioria em até 3 meses do diagnóstico e um terço dos animais laminíticos apresentaram recorrência em um período de até 6 anos (LUTHERSSON et al., 2017).

A frequência da laminite na população equina em geral ainda é de difícil estimativa visto a variação dos estudos quanto às características populacionais, design experimental, tipo de laminite avaliada, entre outros fatores. No entanto a frequência de laminite varia de 1,5% a 23,8% (WYLIE et al., 2011), incidência de 9,6 episódios por 100 cavalos-ano dados relatados por proprietários (POLLARD et al., 2019) e 0,5 casos por 100 cavalos-ano diagnosticados por veterinários, com prevalência de 0,5% (WYLIE et al., 2013). Porém a incidência pode variar de acordo com a população estudada visto que em equinos mais velhos, por exemplo, a laminite crônica é mais frequente (WYLIE et al., 2012).

Apesar da laminite na sua complexidade ainda não ter sido esclarecida em todas as suas formas, a laminite endocrinopática tem sido o principal foco de pesquisas e discussões, por se tratar da causa mais comum nos equinos com incidência de 89% (KARIKOSKI et al., 2011).

Os fatores de risco envolvidos e quais os mecanismos que conectam o distúrbio metabólico nas endocrinopatias e o desencadeamento da desestruturação do tecido laminar é a principal questão a ser elucidada (DE LAAT, 2019). Desta forma o objetivo desta revisão sistemática foi relacionar os fatores de risco envolvidos com o desenvolvimento da laminite endocrinopática.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Laminite equina

Definida como uma afecção podal, a laminite apresenta como principal característica a perda na integridade das conexões entre as lâminas dérmicas e epidérmicas, ocorrendo uma desestruturação do tecido laminar e consequente deslocamento e/ou rotação da falange distal e que mesmo apresentando uma forte conexão, é um tecido sensível a doenças sistêmicas (LEISE, 2018). Atualmente é considerada uma síndrome por apresentar múltiplas causas e vias fisiopatológicas, sendo dividida em síndrome clínica associada a doença sistêmica (laminite associada à sepse ou endocrinopatia) ou síndrome associada a sustentação de peso alterada (MENZIES-GOW, 2018).

A laminite pode ser dividida em 3 fases: fase de desenvolvimento ou prodrômica, aguda e crônica. A fase de desenvolvimento ocorre durante o desencadeamento da separação laminar, onde os sinais clínicos de dor não são aparentes tornando assim a fase de difícil reconhecimento e diagnóstico. A fase aguda inicia-se com a demonstração clínica da dor e consequente claudicação e rotação da falange distal. A última fase define a laminite crônica marcada pela severidade da afecção e os principais sinais clínicos são decúbito persistente, alongamento e descamação dos cascos e dor severa (POLLITT, 2004).

Um conceito mais recente defende a divisão em 4 principais fases: prodrômica, subaguda, aguda e crônica, sendo a fase subaguda o período entre o aparecimento da dor e o deslocamento da falange distal apresentando sinais clínicos mais brandos (BAKER JUNIOR, 2012).

As causas da laminite, incluem as desencadeadas pela sepse, por distúrbios endócrinos e metabólicos e a sobrecarga mecânica (laminite de suporte) (GEOR; HARRIS, 2013). Contudo, mesmo com vários estudos publicados, ainda não há compreensão sobre as células e substâncias do organismo que participam no desenvolvimento da afecção em cada tipo de laminite. Frente a esse desafio faz-se necessário determinar quais os fatores de risco desencadeiam cada tipo de laminite e compreendê-los de forma individual,

para que se utilizem de medidas preventivas, diminuindo assim a ocorrência da afecção na população equina (BELKNAP; GEOR, 2012; WYLIE et al., 2012).

A fisiopatogenia da laminite foi baseada na hipótese de que a diminuição do fluxo sanguíneo local, causada pela inflamação, comprometia a irrigação do tecido, seguida de hipóxia e morte tecidual. A laminite em sua fase podrômica (ou de desenvolvimento) tem como sinais a hipotermia na região de casco devido diminuição do fluxo sanguíneo, porém em fases mais agudas é possível observar a hipertermia local com aumento do fluxo sanguíneo (HOOD; WAGNER; BRUMBAUGH, 2001). Tal alteração foi observada em cavalos da raça *Standardbred* que receberam dieta com sobrecarga de carboidratos e apresentaram laminite com aumento no fluxo local. Os autores concluíram que este aumento expõe o tecido laminar a maiores concentrações de fatores que possam desencadear a separação das lâminas (POLLITT; DAVIES, 1998).

A perda da integridade entre as lâminas, pode ter causa inflamatória quando são ativados mediadores inflamatórios na síndrome da resposta inflamatória sistêmica, sepse e endotoxemia. Assim como na sepse humana, existe a falência de órgãos na sepse em equinos, porém o principal órgão afetado é a lâmina digital (BELKNAP; BLACK, 2012). Outro fator desencadeante é o estresse oxidativo, causado pela liberação de espécies reativas de oxigênio (ROS) pelos leucócitos residentes na lâmina do casco após uma ativação inflamatória sistêmica (HURLEY et al., 2006).

Para as causas de origem endócrina e metabólicas, a laminite, neste caso denominada laminite endocrinopática, pode ser desencadeada pela desregulação da insulina, caracterizada pela resistência à insulina dos tecidos ou hiperinsulinemia (DURHAM et al., 2019), ou pela disfunção da *pars intermedia* da pituitária levando a um aumento na concentração de ACTH e disfunção endócrina (SCHOTT, 2002).

O tratamento da laminite aguda em qualquer uma de suas formas deve ter como finalidade minimizar a injúria tecidual, possibilitar analgesia, acompanhar a progressão da enfermidade e tratar a doença de base, utilizando-se de terapias antiinflamatórias, uso da hipotermia digital, restrição de movimento do paciente e conforto físico e mecânico para o membro (VAN EPS; BURNS, 2019).

2.2. Síndrome metabólica equina (SME)

A SME é um conjunto de fatores que propiciam o surgimento eminente da laminite, denominada laminite endocrinopática (DURHAM et al., 2019). A característica fisiopatológica central é a presença da desregulação da insulina (FRANK; TRADOS, 2014; JACOB et al., 2018) e pode ou não estar associada à obesidade (MENZIES-GOW, 2018). Animais diagnosticados com síndrome metabólica também estão sujeitos ao desenvolvimento de problemas adicionais como, hiperlipemia, hipertrigliceridemia e hiperglicemia (DURHAM et al., 2019).

Acredita-se que a SME ocorre a partir da associação entre fatores genéticos e fatores ambientais (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015). A predisposição genética pode acontecer, por exemplo, em condições ambientais de fome provoca uma mutação genética, selecionando genes que aumentam a eficiência alimentar, adiposidade e apetite e predispõem a diminuição da sensibilidade à insulina (LEWIS et al., 2017) ou devido a uma restrição de nutrientes na gestação, alterando a responsividade das células β pancreáticas do feto, diminuindo a sensibilidade à insulina (ROBLES et al., 2017). Os principais fatores relacionados ao manejo são ingestão excessiva de alimentos calóricos associada a restrição de exercícios e fatores relacionados ao animal como, idade, sexo e raça, podem interferir nessa predisposição (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015; CANTARELLI et al., 2018).

A desregulação da insulina é uma característica igualmente observada na disfunção da *pars* intermedia da pituitária (PPID), tornando essencial para o diagnóstico diferencial de SME descartar a presença de sinais de PPID (DURHAM et al., 2019). Os principais sinais de PPID são idade avançada, hirsutismo (IRELAND; MCGOWAN, 2018), concentrações elevadas de ACTH (MCGOWAN; PINCHBECK; MCGOWAN, 2013) e presença de desregulação da insulina (DURHAM et al., 2019). Animais podem apresentar as duas endocrinopatias simultaneamente, SME e PPID, apresentando concentrações ainda mais elevadas de insulina e um aumento no risco de desenvolver laminite (MEIER et al., 2018).

Apesar do empenho dos pesquisadores em compreender a fisiopatologia da SME e os fatores de riscos associados, esta questão ainda não foi elucidada (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015; LEWIS et al., 2017), tornando-se necessário

o esclarecimento das causas que levam a desregulação da insulina para que se possa reduzir o risco de laminite (DE LAAT, 2019).

Dentre as endocrinopatias a SME parece ser mais prevalente entre os animais comparada a PPID, visto que, em estudo, 82,4% dos casos de laminite endocrinopática foram diagnosticados com SME (DE LAAT; SILLENCE; REICHE, 2019). O diagnóstico da SME identifica animais com maior risco de laminite, permitindo assim a elaboração de métodos preventivos (DURHAM et al., 2019) e se dá pela identificação de desregulação da insulina, podendo ser utilizado pelos testes de desafio oral como o teste de glicose oral (MEIER et al., 2018) ou teste de açúcar oral (SCHUVER et al., 2014), no qual a ingestão oral de glicose ou dextrose na alimentação causará um pico de glicose plasmática e posteriormente uma resposta insulínica. Outro teste a ser utilizado é o teste de desafio intravenoso, podendo ser feito do teste de resposta à insulina (BERTIN; SOJKA-KRITCHEVSKY, 2013) ou teste combinado de glicose e insulina (EILER et al., 2005).

O tratamento da SME se dá pelo manejo alimentar pela restrição alimentar e diminuição na ingestão de amido; programa de exercícios para perda de peso, exceto em animais com laminite, e diminuição da desregulação da insulina e podem ser associados tratamentos farmacológicos com metformina ou levotiroxina (DURHAM et al., 2019). Em reunião realizada em maio de 2020 na Alemanha, cirurgiões veterinários e pesquisadores da área de endocrinologia equina entraram em um consenso de que a associação de exercícios físicos e restrição alimentar são o melhor manejo para diminuição da desregulação da insulina em animais diagnosticados com SME (BENNETT; MCGOWAN, 2021).

2.3. Laminite endocrinopática

A laminite endocrinopática é uma afecção comum e está associada à desregulação da insulina, seja manifestada pela resistência à insulina ou pela hiperinsulinemia (MCGOWAN, 2008), sendo essa, a principal característica da fisiopatologia da afecção (DE LAAT, 2019).

O desenvolvimento dessa forma de laminite ocorre em associação com a PPID (SCHOTT, 2002) ou SME (FRANK et al., 2010). As duas síndromes citadas têm como principal sinal a presença de desregulação da insulina. Entretanto,

estudos mais recentes observaram que a resistência à insulina pode não ser o principal desencadeador da laminite endocrinopática (BURN et al., 2014; DE LAAT et al., 2015), visto que, animais que desenvolveram laminite por hiperinsulinemia induzida não eram resistentes à insulina (DE LAAT et al., 2010a), tornando a hiperinsulinemia um fator mais importante na fisiopatologia da doença. Já se provou também que o tecido laminar é um tecido independente da insulina (DE LAAT et al., 2015), apesar de dependente da glicose (PASS; POLLITT; POLLITT, 1998).

A hiperinsulinemia prolongada, dependente ou não da concentração de glicose no sangue, causa laminite clínica e histológica. Em estudos com cavalos da raça *Standardbred* e pôneis comprovou-se o desenvolvimento da afecção em todos os animais tratados com insulina. Os primeiros sinais apareceram entre 48h e 72h após indução, confirmando a hipótese da toxicidade da insulina e consequente fator desencadeador da laminite equina (ASPLIN et al., 2007; DE LAAT et al., 2010a).

A laminite endocrinopática parece ter um padrão temporal ocorrendo com maior frequência na primavera e em animais com acesso ilimitado a pastagens (DE LAAT; SILLENCE; REICHE, 2019). Este fator pode ser explicado pela maior qualidade e quantidade de pasto nesta época, acompanhada de maior concentração de carboidratos não-estruturais (LONGLAND; BYRD, 2006), fonte de amido que aumenta a glicemia e quando prolongada pode desencadear hiperinsulinemia e/ou resistência à insulina.

Embora existam inúmeras teorias para explicar a patogênese da laminite endocrinopática, entre esses distúrbios metabólicos, vasculares, processos inflamatórios e enzimáticos, é possível que no processo de desenvolvimento da doença estejam envolvidas simultaneamente mais de uma patogênese (DE LAAT et al., 2010b). As principais teorias para atuação da insulina nas lâminas e desencadeamento da laminite são glicotoxicidade, hipóxia tecidual ou aumento do fluxo sanguíneo local e influxo de citocinas pró-inflamatórias no tecido laminar (JOHNSON et al., 2004).

A laminite endocrinopática não pode ser comparada morfológicamente com as demais formas de laminite devido as diferenças celulares observadas na microscopia das lâminas de animais metabolicamente alterados daqueles com sepse (KARIKOSKI et al., 2014; DE LAAT, 2019). Além de uma sintomatologia

diferente caracterizada por sinais sutis podendo ou não apresentar claudicação (KARIKOSKI et al., 2015). Parece ser uma forma semelhante das demais formas quanto aos seus sinais clínicos, porém, apresenta um risco maior de recorrência e cronicidade (DE LAAT; SILLENCE; REICHE, 2019). A mensuração de insulina e leptina conjuntamente com avaliações morfométrias de obesidade como escore de condição corporal e escore de “pescoço em crista” são avaliações eficazes e podem prever o risco de laminite endocrinopática associada à obesidade (CARTER et al., 2009).

2.3.1. Desregulação da insulina

A desregulação da insulina é a principal característica da síndrome metabólica, estando relacionada com a inter-relação entre concentração plasmática de insulina, glicose e lipídios (FRANK; TADROS, 2014; JACOB et al., 2018; DURHAM et al., 2019). Manifesta-se de duas formas: resposta hiperinsulinêmica excessiva ou prolongada ao desafio de concentrações altas de carboidratos, podendo ser por via oral ou intravenosa, acompanhada ou não de hiperglicemia excessiva ou prolongada (hiperinsulinemia) e resistência à insulina dos tecidos (DURHAM et al., 2019).

A compreensão exata dos processos fisiopatológicos que ocorrem entre a desregulação da insulina e a perda da integridade das lâminas ainda não está totalmente elucidada (KHEDER et al., 2018).

2.3.1.1. Hiperinsulinemia

A hiperinsulinemia é uma das manifestações da desregulação da insulina definida como uma concentração aumentada e anormal de insulina em repouso, podendo se apresentar como uma resposta anormal da insulina à um desafio oral ou intravenoso de glicose (JACOB et al., 2018) e costuma estar associada com concentrações normais de glicose sanguínea (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015). Em estudo de coorte prospectivo com 410 animais, 36 tinham laminite atual ou histórica, destes observou-se uma prevalência de laminite endocrinopática em 89% e hiperinsulinemia em 97% dos cavalos diagnosticados com endocrinopatias (KARIKOSKI et al., 2011).

Como a insulina é um hormônio metabólico e vascular importante, é essencial que pesquisas elucidem a influência direta entre hiperinsulinemia e resistência à insulina e o metabolismo da glicose (DE LAAT et al., 2010b). Seu principal papel é nutrir os tecidos por meio do transporte de glicose do sangue para as células, porém apresenta uma função regulatória vascular muito importante a partir da vasoconstrição associada a endotelina-1 ou vasodilatação associada a óxido nítrico (MUNYAPPA et al., 2007).

Uma das teorias defendidas de como a insulina atua nas lâminas é a teoria da glicotoxicidade, onde a vasodilatação causada pelo hormônio aumenta o fluxo sanguíneo e a concentração de glicose local levando a produção de produtos de glicação avançada e liberação de espécies reativas de oxigênio, importantes indicadores de inflamação (DE LAAT et al., 2012). A ativação do tecido causa liberação de citocinas pró-inflamatórias, ativação de metaloproteinases (MMP) e fatores de crescimento, levando a degradação da membrana basal e dissolução da lâmina (ASPLIN et al., 2007; BURNS et al., 2014). Além da glicotoxicidade causada, a vasodilatação local produz anastomoses arteriovenosas provocando hipoperfusão digital e lesão das lâminas por reperfusão (ASPLIN et al., 2007). Porém as teorias de glicotoxicidade e danos por citocinas pró-inflamatórias não são bem aceitas, tornando mais plausível as alterações do fluxo sanguíneo local como fator principal para o desenvolvimento da doença (DE LAAT, 2019).

A hiperinsulinemia persistente pode causar resistência à insulina nos tecidos por meio da exposição prolongada de insulina alterando a resposta das células ao hormônio (BURNS et al., 2013). O contrário é verdadeiro, sendo a hiperinsulinemia uma consequência de uma resposta compensatória a presença de resistência à insulina nos tecidos (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015). No entanto independentemente de como a insulina atua nas lâminas, sua concentração elevada tem impacto quase que imediato e negativo sobre o tecido. (DE LAAT et al., 2010a).

2.3.1.2. Resistência insulina e sensibilidade à insulina

A resistência à insulina nos tecidos é definida como a incapacidade de uma concentração normal de insulina em diminuir uma concentração normal de glicose no sangue (MCCUE; GEOR; SCHULTZ, 2015).

A resistência à insulina pode ocorrer a partir de uma adaptação crônica ao aumento gradual no teor de amido nas pastagens, observado principalmente na primavera, ou à uma ingestão abrupta de uma grande quantidade de amido, (BRAND-MILLER; COLAGIURI, 1999), ingestão essa observada no modelo de indução com dietas a base de carboidratos não-estruturais. Isto ocorre pela produção de fatores desencadeantes, produzidos pelo metabolismo da frutose, que contribuirão para a resistência à insulina e disfunção endotelial. Porém não é necessário a presença de resistência à insulina ou baixa sensibilidade à insulina para um equino desenvolver laminite (ASPLIN et al., 2007), uma vez que a hiperinsulinemia parece ser mais importante no desenvolvimento da laminite que a resistência à insulina dos tecidos (DE LAAT; MCGREE; SILLENCE, 2016). A resistência à insulina normalmente está associada a hiperinsulinemia compensatória para se manter os níveis de glicose sanguínea em equilíbrio (MUNIYAPPA et al., 2007). Outra causa da resistência à insulina nos tecidos são as diversas substâncias, como ácidos graxos livres (KACZMAREK; JANICKI; GŁOWSKA, 2016), amilóide sérica A (SUAGEE et al., 2013), TNF- α , IL-6 e IL-1 β (BURNS et al., 2010), que produzidas pelo tecido adiposo atuam aumentando a inflamação local ou alterando as vias de sinalização da insulina nos tecidos (VICK et al., 2007), porém a ação específica de cada um como fator de risco para a ocorrência de laminite endocrinopática ainda não está claro.

O teste “padrão ouro” para diagnóstico de sensibilidade ou resistência à insulina é o *clamp* euglicêmico-hiperinsulinêmico prolongado (p-EHC), porém este método não é prático para aplicação durante a clínica, utilizando-se de outros métodos como teste combinado de tolerância à insulina e glicose ou raiz quadrada da concentração de insulina. Uma concentração de insulina em jejum > 20 mUI / L indica resistência à insulina (MCCUE; GEOR, SCHULTZ, 2015).

2.3.2. Obesidade

A obesidade equina é um problema comum e está associado com consequências graves de impacto negativo à saúde do indivíduo e não deve ser considerado apenas como um acúmulo de gordura, mas sim um fator desencadeante de alterações metabólicas subsequentes (DURHAM et al., 2019;

KNOWLESS; GRIEVE, 2020), além de suas implicações mecânicas, como o excesso de carga sobre as lâminas (DE LAAT, 2019).

O tecido adiposo é um tecido metabólico e endócrino e parece apresentar um fenótipo inflamatório em razão de produzir citocinas pró-inflamatórias como TNF- α , IL-6, IL-1 β , leptina e adiponectina (VICK et al., 2007; BURNS et al., 2010). Uma correlação positiva foi encontrada entre a expressão de IL-6 e IL-1 β e o tecido adiposo do ligamento nugal, observando um fenótipo inflamatório característico na adiposidade regional (BURNS et al., 2010). A leptina é um hormônio produzido pelos adipócitos e está inversamente relacionada à sensibilidade à insulina. Sua função é de controlar a saciedade, a lipólise e a oxidação de ácidos graxos através do controle de ingestão de energia (MECHANICK; ZHAO; GARVEY, 2018). Esse hormônio relaciona-se diretamente com a condição corporal e é estimulado pela concentração de insulina que em conjunto causam resistência à insulina (SUAGEE et al., 2013). Em estudos com 188 pôneis, houve associação entre hiperinsulinemia, hiperleptinemia e hipertrigliceridemia (MORGAN; MCGOWAN T.; MCGOWAN C., 2014). A adiponectina outro hormônio produzido pelo tecido adiposo, tem como função a melhora da sensibilidade à insulina e diminuição da inflamação (PAJVANI et al., 2003) e sua diminuição predispõe a inflamações e disfunção endotelial (MENZIES-GOW; HARRIS; ELLIOTT, 2017). Tais citocinas interferem nas vias de sinalização da insulina causando resistência à insulina, sendo essa uma das teorias que liga a obesidade e a resistência à insulina nos equinos (FRANK; TRADOS, 2014).

Entretanto a obesidade e a desregulação da insulina não estão necessariamente ligadas, sendo importante avaliar os dois fatores de forma independente no desenvolvimento da laminite em cavalos com SME (BAMFORD et al., 2014; DURHAM et al., 2019). Um estudo que avaliou a resposta à insulina em cavalos com escore de condição corporal (ECC) de magro a moderado, das raças Paso Fino e *Thoroughbred*, observou uma resposta exacerbada a insulina em animais com ECC maior e na raça Paso Fino em comparação com os *Thoroughbred*, mesmo em animais com escore menor (BREUHAUS, 2019). Assim, a síndrome metabólica equina pode se desenvolver em um indivíduo de fenótipo magro e o contrário se faz verdadeiro, animais com depósito de gordura

podem apresentar ausência de desregulação da insulina ou SME (DURHAM et al., 2019).

3. OBJETIVO

Esta revisão sistemática teve como objetivo verificar a partir dos estudos incluídos, os fatores de risco que estão envolvidos no desenvolvimento da laminite associada à SME. Sendo assim, para cada sinal clínico característico da síndrome metabólica equina, foram identificados os fatores de risco que atuam diretamente nas lâminas do casco ou ao menos que se relacionam com o desenvolvimento da laminite e os mecanismos pelos quais estes fatores atuam nas lâminas.

4. REFERÊNCIAS

ASPLIN, K. E.; SILLENCE, M. N.; POLLIT, C. C.; MCGOWAN, C. M. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. **The Veterinary Journal**, v. 174, p. 530-535, 2007.

BAKER JUNIOR, W. R. Treating Laminitis: beyond the mechanics of trimming and shoeing. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 28, n. 2, p. 441-455, 2012.

BRAND-MILLER J. C.; COLAGIURI, S. Evolutionary aspects of diet and insulin resistance. **World Review of Nutrition and Dietetics**, v. 84, p. 74-105, 1999.

BAMFORD, N. J.; POTTER, S. J.; HARRIS, P. A.; BAILEY, S. R. Breed differences in insulin sensitivity and insulinemic responses to oral glucose in horses and ponies of moderate body condition score. **Domestic Animal Endocrinology**, v.47, p. 101-107, 2014.

BELKNAP J. K.; BLACK S. J. Sepsis-related laminitis. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, p.738-740, 2012.

BELKNAP, J.; GEOR, R. The present state and future of laminitis research. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, p. 749-751, 2012.

BENNETT, M.; MCGOWAN, C. M. Science-in-brief: Report on the Global Equine Endocrinology Symposium. **Equine Veterinary Journal**, v. 53, p. 414–416, 2021.

BERTIN, F. R.; SOJKA-KRITCHEVSKY, J. E. Comparison of a 2-step insulin-response test to conventional insulin-sensitivity testing in horses. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 44, n. 1, p. 19-25, 2013.

BREUHAUS, B. A. Glucose and insulin responses to an intravenous glucose load in Thoroughbred and Paso Fino horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 81, p. 102793, 2019.

BURNS, T. A.; GEOR, R. J.; MUDGE, M. C.; MCCUTCHEON, L. J.; HINCHCLIFF, K. W.; BELKNAP, J. K. Proinflammatory Cytokine and Chemokine Gene Expression Profiles in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue Depots

of Insulin-Resistant and Insulin-Sensitive Light Breed Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 4, p. 932-939, 2010.

BURNS, T. A.; WATTS, M. R.; WEBER, P. S.; MCCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J.; BELKNAP, J. K. Effect of Dietary Nonstructural Carbohydrate Content on Activation of 5'-Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase in Liver, Skeletal Muscle, and Digital Laminae of Lean and Obese Ponies. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 4, p. 1280–1288, 2014.

BURNS, T. A.; WATTS, M. R.; WEBER, P. S.; MCCUTCHEON, L. J.; GEOR, R. J.; BELKNAP, J. K. Distribution of insulin receptor and insulin-like growth factor-1 receptor in the digital laminae of mixed-breed ponies: An immunohistochemical study. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 3, p. 326–332, 2013.

CANTARELLI, C.; DAU, S. L.; STEFANELLO, S.; AZEVEDO, M. S.; DE BASTIANI, G. R.; PALMA, H. E.; Brass, K. E.; DE LA CÔRTE, F. D. Evaluation of oral sugar test response for detection of equine metabolic syndrome in obese Crioulo horses. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 63, p. 31–37, 2018.

CARTER, R. A.; TREIBER, K. H.; GEOR, R. J.; DOUGLASS, L.; HARRIS, P. A. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. **Equine Veterinary Journal**, v. 41, n. 2, p. 171–178, 2009.

DE LAAT, M. A. Science in brief: progress in endocrinopathic laminitis research: have we got a foothold? **Equine Veterinary Journal**, v. 51, p. 141-142, 2019.

DE LAAT, M. A.; CLEMENT, C. K.; SILLENCE, M. N.; MCGOWAN, C. M.; POLLITT, C. C.; LACOMBE, V. A. The impact of prolonged hyperinsulinaemia on glucose transport in equine skeletal muscle and digital lamellae. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, n. 4, p. 494–501, 2015.

DE LAAT, M. A.; KYAW-TANNER, M. T.; SILLENCE, M. N.; MCGOWAN, C. M.; POLLITT, C. C. Advanced glycation end products in horses with insulin-induced laminitis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 145, n.1–2, p. 395–401, 2012.

DE LAAT, M. A.; MCGOWAN, C. M.; SILLENCE, M. N.; POLLIT, C. C. Equine laminitis: Induced by 48h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 42, n. 2, 2010a.

DE LAAT, M. A.; MCGOWAN, C. M.; SILLENCE, M. N.; POLLIT, C. C. Hyperinsulinemic Laminitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 26, n. 2, p. 257-264, 2010b.

DE LAAT, M. A.; MCGREE, J. M.; SILLENCE, M. N. Equine hyperinsulinemia: investigation of the enteroinsular axis during insulin dysregulation. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, v. 310, n. 1, p. E61-E72, 2016.

DE LAAT, M. A.; SILLENCE, M. N.; REICHE, D. B. Phenotypic, hormonal, and clinical characteristics of equine endocrinopathic laminitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, n. 3, p. 1456–1463, 2019.

DURHAM, A. E.; FRANK, N.; MCGOWAN, C. M.; MENZIES-GOW, N. J.; ROELFSEMA, E.; VERVUERT, I.; FEIGE, K.; FEY, K. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 33, p. 335-349, 2019.

EILER, H.; FRANK, N.; ANDREWS, F. M.; OLIVER, J. W.; FECTEAU, K. A. Physiologic assessment of blood glucose homeostasis via combined intravenous glucose and insulin testing in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 9, p. 1598-1604, 2005.

FRANK, N.; TADROS, E. M. Insulin dysregulation. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n. 1, p. 103-112, 2014.

FRANK, N.; GEOR, R. J.; BAILEY, S. R.; DURHAM, A. E.; JOHNSON, P. J.; AMERICAN COLLEGE OF VETERINARY INTERNAL MEDICINE. Equine metabolic syndrome. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 24, n. 3, p. 467 – 475, 2010.

GEOR, R. J.; HARRIS, P. A. Dietary management of obesity and insulin resistance: countering risk for laminitis. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 25, n. 1, 2009.

GEOR, R. J.; HARRIS, P. A. Laminitis. In: GEOR, R. J.; HARRIS, P. A.; COENEN, M. (Ed.). **Equine Applied and Clinical Nutrition**. Filadélfia: Saunders Elsevier, 2013, p. 469-486.

HOOD, D. M.; WAGNER, I. P.; BRUMBAUGH, G. W. Evaluation of hoof wall surface temperature as an index of digital vascular perfusion during the prodromal and acute phases of carbohydrate-induced laminitis in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 62, n. 7, p. 1167-1172, 2001.

HURLEY, J.; PARKS, R. J.; REBER, A. J.; DONOVAN, D. C.; OKINAGA, T.; VANDENPLAS, M. L.; PERONI, J. F.; MOORE, J. N. Dynamic changes in circulating leukocytes during the induction of equine laminitis with black walnut extract. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 110, p. 195-206, 2006.

IRELAND, J. L.; MCGOWAN, C. M. Epidemiology of pituitary *pars intermedia* dysfunction: a systematic literature review of clinical presentation, disease prevalence and risk factors. **The Veterinary Journal**, v. 235, p. 22-33, 2018.

JACOB, S. I.; MURRAY, K. J.; RENDAHL, A. K.; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. E.; MCCUE, M. E. Metabolic perturbations in welsh ponies with insulin dysregulation, obesity, and laminitis. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 32, n.12, p. 15–33, 2018.

JOHNSON, P. J.; MESSER, N. T.; SLIGHT, S. H.; WIEDMEYER, C.; BUFF, P.; GANJAM, V. K. Endocrinopathic laminitis in the horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 3, p. 45-56, 2004.

KACZMAREK, K.; JANICKI, B.; GŁOWSKA, M. Insulin resistance in the horse: a review. **Journal of Applied Animal Research**, v. 44, n. 1, p. 424-430, 2016.

KARIKOSKI, N. P.; HORN, I.; MCGOWAN, T. W.; MCGOWAN, C. M. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 41, n. 3, p. 111–117, 2011.

KARIKOSKI, N. P.; MCGOWAN, C. M.; SINGER, E. R.; ASPLIN, K. E.; TULAMO, R. M.; PATTERSON-KANE, J. C. Pathology of natural cases of equine

endocrinopathic laminitis associated with hyperinsulinemia. **Veterinary Pathology**, v. 52, p. 945-956, 2015.

KARIKOSKI, N. P.; PATTERSON-KANE, J. C.; ASPLIN, K. E.; MCGOWAN, T. W.; MCNUTT, M.; SINGER, E. R.; MCGOWAN, C. M. Morphological and cellular changes in secondary epidermal laminae of horses with insulin-induced laminitis. **American Journal of Veterinary Research**, v. 75, n. 2, p. 161-8, 2014.

KHEDER, M. H.; BAILEY, S. R.; DUDLEY, K. J.; SILLENCE, M. N.; DE LAAT, M. A. Equine glucagon-like peptide-1 receptor physiology. **Peer J**, v. 6, e4316, 2018.

KNOWLES, E. J.; GRIEVE, L. Clinical insights: Equine obesity. **Equine Veterinary Journal**, v. 54, p. 635-638, 2020.

LEISE, B. The role of neutrophils in equine laminitis. **Cell and Tissue Research**, v. 371, n. 3, p. 541-550, 2018.

LEWIS, S. L.; HOLL, H. M.; STREETER, C.; POSBERGH, C.; SCHANBACHER, B. J.; PLACE, N. J.; MALLICOTE, M. F.; LONG, M. T.; BROOKS, S. A. Genomewide association study reveals a risk locus for equine metabolic syndrome in the Arabian horse. **Journal of Animal Science**, v. 95, n. 3, p. 1071–1079, 2017.

LONGLAND, A. C.; BYRD, B. M. Pasture nonstructural carbohydrates and equine laminitis. **The Journal of Nutrition**, v. 136, p. 2099S-2102S, 2006.

LUTHERSSON, N.; MANNFALK, M.; PARKIN, T. D. H.; HARRIS, P. Laminitis: risk factors and outcome in a group of Danish Horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 53, p. 68-73, 2017.

MCCUE, M. E; GEOR, R. J.; SCHULTZ, N. Equine metabolic syndrome: a complex disease influenced by genetics and the environment. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 35, p. 367-375, 2015.

MCGOWAN, C. The role of insulin in endocrinopathic laminitis. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 28, n. 10, p. 603-607, 2008.

MCGOWAN, T. W.; PINCHBECK, G. P.; MCGOWAN C. M. Evaluation of basal plasma α -melanocyte-stimulating hormone and adrenocorticotrophic hormone

concentrations for the diagnosis of pituitary *pars intermedia* dysfunction from a population of aged horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, p. 66-73, 2013.

MECHANICK, J. I.; ZHAO, S.; GARVEY, W. T. Leptin, an adipokine with central importance in the global obesity problem. **Global Heart**, v. 13, n. 2, p. 113-127, 2018.

MEIER, A. D.; DE LAAT, M. A.; REICHE, D. B.; POLLITT, C. C.; WALSH, D. M.; MCGREE, J. M.; SILLENCE, M. N. The oral glucose test predicts laminitis risk in ponies fed a diet high in nonstructural carbohydrates. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 63, p. 1-9, 2018.

MENZIES-GOW, N. J. Laminitis epidemiology data: still severely lacking... **The Veterinary Journal**, v. 189, p. 242, 2011.

MENZIES-GOW, N. J.; HARRIS, P. A.; ELLIOTT J. Prospective cohort study evaluating risk factors for the development of pasture-associated laminitis in the United Kingdom. **Equine Veterinary Journal**, v. 49, n. 3, p. 300-306, 2017.

MENZIES-GOW, N. Laminitis in horses. **In Practice**, v. 90, n. 9, p. 411-419, 2018.

MORGAN, R. A.; MCGOWAN, T. W.; MCGOWAN, C. M. Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. **Australian Veterinary Journal**, v. 92, n. 4, p. 101–106, 2014.

MUNIYAPPA, R.; MONTAGNANI, M.; KOH, K. K.; QUON, M.J. Cardiovascular actions of insulin. **Endocrine Reviews**, v. 28, n. 5, p. 463-491, 2007.

PAJVANI, U. B.; DU, X.; COMBS, T. P.; BERG, A. H.; RAJALA, M. W.; SCHULTHESS, T.; ENGEL, J.; BROWNLEE, M.; SCHERER, P. E. Structure–function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. **Journal of Biological Chemistry**, v. 278, p. 9073–9085, 2003.

PASS, M. A.; POLLITT, S.; POLLITT, C. C. Decreased glucose metabolism causes separation of hoof lamellae in vitro: a trigger for laminitis? **Equine Veterinary Journal Supplement**, v. 26, p. 133–138, 1998.

POLLARD, D.; WYLIE, C. E.; NEWTON, J. R.; VERHEYEN, K. L. P. Incidence and clinical signs of owner-reported equine laminitis in a cohort of horses and ponies in Great Britain. **Equine Veterinary Journal**, v. 51, p. 587–594, 2019.

POLLITT, C. C. Equine laminitis. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 3, p. 34-44, 2004.

POLLITT, C. C. **Equine laminitis: current concepts**. Australia: RIRDC, 2008.

POLLITT, C. C.; DAVIES, C. T. Equine laminitis: its development coincides with increased sublamellar blood flow. **Equine Veterinary Journal Supplements**, v. 26, p. 125-132, 1998.

ROBLES, M.; GAUTIER, C.; MENDOZA, L. et al. Maternal nutrition during pregnancy affects testicular and bone development, glucose metabolism and response to overnutrition in weaned horses up to two years. **PLoS One**, v. 12, n. 1, e0169295, 2017.

SCHOTT, H. C. Pituitary *pars intermedia* dysfunction: equine Cushing's disease. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 18, p. 237-270, 2002.

SCHUVER, A.; FRANK, N.; CHAMEROY, K. A.; ELLIOTT, S. B. Assessment of insulin and glucose dynamics by using an oral sugar test in horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 34, n. 4, p. 465 – 470, 2014.

SMITH, S.; HARRIS, P. A.; MENZIES-GOW, N. J. Comparison of the in-feed glucose test and the oral sugar test. **Equine Veterinary Journal**, v. 48, p. 224-227, 2016.

SUAGEE, J. K.; CORL, B. A.; CRISMAN, M. V.; PLEASANT, R. S.; THATCHER, C. D., GEOR, R. J. Relationships between body condition score and plasma inflammatory cytokines, insulin, and lipids in a mixed population of light-breed horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 1, p. 157-63, 2013.

VAN EPS, A. W.; BURNS, T. A. Are There Shared Mechanisms in the Pathophysiology of Different Clinical Forms of Laminitis and What Are the Implications for Prevention and Treatment? **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v. 35, n. 2, p. 379-398, 2019.

VICK, M. M.; ADAMS, A. A.; MURPHY, B. A.; SESSIONS, D. R.; HOROHOV, D. W.; COOK, R. F.; SHELTON, B. J.; FITZGERALD, B. P. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. **Journal of Animal Science**, v. 85, n. 5, p. 1144–1155, 2007.

WYLIE, C. E.; COLLINS, S. N.; VERHEYEN, K. L. P.; NEWTON, J. R. A cohort study of equine laminitis in Great Britain 2009–2011: Estimation of disease frequency and description of clinical signs in 577 cases. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, p. 681–687, 2013.

WYLIE, C. E.; COLLINS, S. N.; VERHEYEN, K. L. P.; NEWTON, J. R. Frequency of equine laminitis: A systematic review with quality appraisal of published evidence. **The Veterinary Journal**, v. 189, p. 246-256, 2011.

WYLIE, C. E.; COLLINS, S. N.; VERHEYEN, K. L. P.; NEWTON, J. R. Risk factors for equine laminitis: a systematic review with quality appraisal of published evidence. **The Veterinary Journal**, v. 193, p. 58-66, 2012.

CAPÍTULO 2

5. ARTIGO CIENTÍFICO

Artigo científico a ser submetido na revista *The Veterinary Journal* ISSN: 1090-0233. Guia para autores com normas de publicação encontrados em https://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/623077?generalatpdf=true.

Figuras e tabelas foram mantidas no corpo do texto para melhor compreensão do trabalho.

Artigo Original

Laminite associada à síndrome metabólica equina: revisão sistemática dos fatores de risco e eventos fisiopatológicos

L. T. Nardi ^{a,*}, M. J. Watanabe ^a

^a Departamento Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Distrito de Rubião Jr., s/n, Botucatu, SP CEP 18618-970, Brasil.

* Autor correspondente. Tel.: (17) 99103-8348
E-mail: larissa.tonelli@unesp.br (L. T. Nardi).

Resumo

A laminite é definida como afecção podal caracterizada por perda na integridade da conexão entre lâmina dérmica e epidérmica e é a segunda maior causa de óbito em equinos. A de maior ocorrência é a denominada laminite endocrinopática, a qual é marcada pela resistência à insulina dos tecidos ou hiperinsulinemia e pode ser causada pela síndrome metabólica equina (SME) ou disfunção da pars intermedia da pituitária (PPID). O objetivo desta revisão foi determinar evidências sobre os fatores de risco

envolvidos no desenvolvimento da laminite associada à SME. A estratégia de busca foi realizada utilizando os termos *laminitis*, *syndrome metabolic* e *equidae* em sete bases de dados. Os principais critérios de elegibilidade foram estudos incluindo avaliação dos fatores de risco para a ocorrência de laminite associada a SME e descartaram disfunção da pars intermedia da pituitária nos animais avaliados. Foram encontrados 688 estudos, com 383 duplicados e excluídos. Trezentos e cindo estudos passaram por avaliação do título e resumo. A primeira seleção incluiu 85 artigos para leitura na íntegra e destes apenas 37 atenderam aos critérios de elegibilidade e foram incluídos neste estudo. Não foram encontradas evidências suficientes para determinar raça, sexo e idade como fatores de risco para laminite associada a SME. Dois estudos confirmaram o desenvolvimento da laminite a partir da indução por hiperinsulinemia. Oito estudos apresentaram evidências fortes da associação entre a concentração de insulina basal maior em animais laminíticos comparado aos não laminíticos. A obesidade foi associada a episódios de laminite em 6 estudos, encontrando também evidências de hipertrigliceridemia e hipoadponectinemia em animais laminíticos e obesos. A hiperinsulinemia na laminite endocrinopática associada à SME é o principal fator de risco desencadeante das diversas vias fisiopatológicas que ocorrem simultaneamente causando alterações no tecido laminar, confirmando mais uma vez seu papel na patogênese da doença. A obesidade se apresenta como um fator de risco por exacerbar a resistência à insulina, tornando o controle de peso e dos níveis de insulina imprescindíveis para prevenção da laminite endocrinopática. A ausência de um segundo avaliador na seleção dos estudos e a quantidade baixa de estudos epidemiológicos de laminite endocrinopática foram as principais limitações encontradas pelos autores. Esta é a primeira revisão sistemática realizada sobre o tema em questão. Palavras-chave: Equino, Hiperinsulinemia, Resistência à Insulina, Síndrome Metabólica

Introdução

A laminite é uma enfermidade com alta mortalidade considerada a segunda maior causa de óbito em equinos (Pollitt, 2008). O tratamento oneroso e o prognóstico reservado (Leise, 2018) tornando-se uma enfermidade desafiadora para veterinários e pesquisadores (Menzies-Gow, 2011). Nos Estados Unidos foi estimado um custo em torno de US\$ 13 milhões de dólares com gastos para o diagnóstico, tratamento e prognóstico, com uma incidência de 15% do rebanho e severidade em 75% dos casos (Menzies-Gow, 2011). Caracterizada pela perda da integridade das conexões entre as lâminas dérmicas e epidérmicas (Leise, 2018), pode ser desencadeada por distúrbios endócrinos e metabólicos, pela sepse e sobrecarga mecânica (Geor e Harris, 2013). Atualmente é considerada uma síndrome pois apresenta múltiplas causas e vias fisiopatológicas, sendo dividida em síndrome clínica associada a doença sistêmica (laminite associada à sepse ou endocrinopática) ou síndrome associada a sobrecarga de peso (Menzies-Gow, 2018). Apesar da laminite na sua complexidade ainda não ter sido esclarecida em todas as suas formas, a laminite endocrinopática é alvo principal de pesquisas e discussões, por se tratar da causa de ocorrência mais comum na espécie equina (Karikoski et al., 2011).

A laminite endocrinopática é uma afecção comum, está associada à desregulação da insulina e é manifestada pela resistência à insulina ou hiperinsulinemia (McGowan, 2008), sendo essa, a principal característica da fisiopatologia da afecção (De Laat, 2019). Se desenvolve em associação com a síndrome de *cushing* ou disfunção da *pars intermedia* da pituitária (PPID) (Schott, 2002) ou a síndrome metabólica equina (SME) (Frank et al., 2010).

Embora existam várias teorias para explicar a patogênese da laminite endocrinopática, entre elas distúrbios metabólicos, vasculares, processos inflamatórios e enzimáticos, é possível que no processo de desenvolvimento da doença estejam envolvidos simultaneamente mais de um mecanismo (De Laat et al., 2010b). A compreensão exata dos processos fisiopatológicos que ocorrem entre a desregulação da insulina e a perda da integridade das lâminas ainda não foi esclarecida (Kheder et al., 2018).

A presente revisão sistemática teve como objetivo verificar a partir da seleção de publicações os fatores de risco envolvidos no desenvolvimento da laminite associada à SME. Esta revisão é a primeira a ser realizada sobre o tema, segundo conhecimento dos autores até o presente momento.

Materiais e métodos

Esta revisão sistemática está em conformidade com as declarações PRISMA (Moher et al., 2015) e seguiu o Manual Cochrane para Revisões Sistemáticas (Higgins et al., 2019). As metodologias realizadas não foram revisadas por pares, com exceção da estratégia de busca, portanto todas as etapas foram acordadas pelos autores.

Estratégia de busca

A estratégia foi realizada nos meses de julho e agosto de 2020, por dois autores, em busca de estudos sobre fatores de risco para a laminite associada à SME. As bases de dados eletrônicas utilizadas foram *Scopus*, *Web of Science*, *Embase*, *Pubmed*, *Lilacs*, *CAB Direct* e *Biblioteca da Cochrane*. Os termos de pesquisa aplicados foram “*laminitis AND syndrome metabolic AND equidae*”.

A busca foi adaptada com os termos determinados acrescidos dos respectivos operadores booleanos usados em cada banco de dados, podendo ser: Mesh (*Scopus*, *Web of Science*, *Cochrane*, *Pubmed* e *CAB Direct*), Decs (*Lilacs*) ou Emtree (*Embase*), conforme apresentado na Tabela 1.

Crêterios de sele o

O principal critério de inclusão foi estudos com desenho metodológico incluindo avalia o da laminite associada   síndrome metabólica tendo inferências aos fatores de risco que, presentes na SME, causam o desenvolvimento da laminite. Não foram incluídos estudos que avaliaram a causa iatrog nica de laminite endocrinopática pela administra o de glicocorticoides, desde que intencionou-se avaliar a laminite de ocorrência natural.

Os estudos deveriam associar seus resultados com a ocorrência de laminite ou ter ao menos uma avalia o histológica que comprovasse características morfológicas das células laminares relacionadas com as altera es da afec o, quando os estudos foram conduzidos *in vitro*. Sabendo que a desregula o da insulina não está presente apenas em animais com SME, fez-se necessário a indica o do uso de um modelo para indu o de laminite endocrinopática, podendo ser o modelo de indu o *clamp* euglicêmico-hiperinsulinêmico prolongado ou o modelo de indu o com altas cargas de carboidratos não-estruturais e ainda um diagnóstico de desregula o da insulina com descarte da presença de PPID, a partir da avalia o do nível de ACTH e/ou restri o de idade dos animais incluídos, visto que a idade   um fator de risco para o desenvolvimento de PPID (Ireland e McGowan, 2018).

Estudos retrospectivos e prospectivos que apresentaram correlação entre características fenotípicas, hormonais e/ou metabólicas e o desenvolvimento de laminite endocrinopática foram incluídos. Não houve limitação quanto a estudos realizados *in vitro* ou *in vivo*. Caso o estudo fosse realizado *in vivo*, o diagnóstico da afecção deveria ser feito por um médico veterinário.

Foram incluídos estudos randomizados, caso-controle, estudo de caso, série de casos e coorte. Literatura cinzenta como dissertações e teses, livros, revisões e artigos de opinião não foram incluídos, com a intenção de selecionar apenas estudos com maior evidência científica e que passaram por revisão por pares conforme regimenta a medicina baseada em evidências. Foram considerados apenas estudos da língua inglesa e portuguesa, sendo os idiomas de domínio dos autores. Estudos citados com frequência que não foram identificados na busca eletrônica, foram incluídos para avaliação por meio da busca manual.

Estudos que apresentaram avaliação de animais com recorrência da afecção não foram incluídos, apenas animais com histórico de laminite. Os estudos não foram restringidos pela data de publicação, porém foram incluídos apenas estudos publicados até a data da última coleta, com atualização automática da busca pelo gerenciador de referências em 3 de fevereiro de 2021.

Seleção de estudos e extração de dados

As publicações foram identificadas por busca eletrônica em cada banco de dados e os resultados compilados com auxílio de um gerenciador de referências (Mendeley

Desktop 1.19.8). Posteriormente foram eliminados estudos duplicados e avaliados pelo título e resumo, excluindo os estudos que não apresentavam características para inclusão. Os estudos selecionados foram avaliados pelo texto completo e excluídos aqueles que não apresentavam investigação dos fatores de risco da laminite associada à síndrome metabólica.

Os estudos incluídos passaram por avaliação crítica e coleta de dados a partir de formulários padronizados, acordados entre os autores, e aplicados ao longo da avaliação para inclusão e exclusão das publicações. Os dados extraídos foram tabulados no Microsoft Excel (v. 2013) e ordenados para evitar a contagem dupla. Foram coletados dados como: autor(es); design do estudo; tamanho da amostra; tipo de indução do experimento, quando houve; tipo de experimentação (*in vivo* ou *in vitro*); quantidade de animais laminíticos do experimento; fator de risco avaliado e a classificação segundo *Oxford Centre for Evidence-based Medicine* (Oxford, 2009).

Avaliação da qualidade dos estudos incluídos

Os estudos foram avaliados quanto a sua qualidade a partir dos dados extraídos. A classificação utilizada foi o nível de evidência científica por tipo de estudo utilizando a tabela de classificação do *Oxford Centre for Evidence-based Medicine* (Tabela 2) (Oxford, 2009).

Resultados

Estratégia de busca

A partir dos termos de pesquisa foram elaboradas as estratégias de busca de acordo com os descritores Mesh, Decs e Entree. As estratégias foram utilizadas nas

buscas avançadas das bases de dados selecionadas e a correção da estratégia para cada base foi salva. A Tabela 2 apresenta as estratégias de busca utilizadas e o total de estudos coletados em cada uma das bases.

Tabela 1. Estratégia de busca realizada para cada base de dados e respectivos resultados.

Descritores	Base de Dados	Estratégia de Busca	Resultado (n de estudos)
<i>Emtree</i>	<i>Embase</i>	('laminitis'/exp OR laminitis) AND ('metabolic syndrome x'/exp OR 'metabolic syndrome x' OR 'insulin resistance syndrome'/exp OR 'insulin resistance syndrome' OR 'metabolic syndrome'/exp OR 'metabolic syndrome' OR 'syndrome x, metabolic'/exp OR 'syndrome x, metabolic') AND ('equine'/exp OR equine OR 'equines'/exp OR equines OR 'equidae'/exp OR equidae OR 'equid'/exp OR equid OR 'equids'/exp OR equids OR 'horse family'/exp OR 'horse family' OR 'horse'/exp OR horse OR 'horses'/exp OR horses OR 'equus subg.' OR 'equus'/exp OR equus OR 'equus subgenus equus'/exp OR 'equus subgenus equus' OR 'mare'/exp OR mare OR 'female equine'/exp OR 'female equine' OR 'female equines'/exp OR 'female equines' OR 'female horse'/exp OR 'female horse' OR 'female horses'/exp OR 'female horses' OR 'mares'/exp OR mares)	136
<i>Decs</i>	<i>Lilacs</i>	(laminite OR laminitis) AND (síndrome metabólica OR metabolic syndrome OR síndrome metabólico OR síndrome x metabólica OR síndrome x de reaven OR síndrome x de resistência à insulina) AND (equino OR equine OR equinas OR cavalos OR horses OR caballos OR pônei OR poney OR égua OR mare) AND (db:("LILACS"))	2
<i>Mesh</i>	<i>Scopus</i>	TITLE-ABS ((founder OR laminitis) AND ("metabolic syndrome" OR "metabolic syndromes" OR "syndrome, metabolic" OR "syndromes, metabolic" OR "metabolic syndrome X" OR "insulin resistance syndrome X" OR "syndrome X, metabolic" OR "syndrome X, insulin resistance" OR "metabolic X syndrome" OR "syndrome, metabolic X" OR "X syndrome, metabolic" OR "dysmetabolic syndrome X" OR "syndrome X, dysmetabolic" OR "Reaven syndrome X" OR "syndrome X, Reaven") AND (equine OR horses OR horse OR "horse, domestic" OR "domestic horse" OR "domestic horses" OR "horses, domestic" OR "equus caballus" OR "equus przewalskii" OR poney OR mare))	98

<i>Pubmed</i>	(founder or laminitis) AND (“metabolic syndrome” OR “metabolic syndromes” OR “syndrome, metabolic” OR “syndromes, metabolic” OR “metabolic syndrome X” OR “insulin resistance syndrome X” OR “syndrome X, metabolic” OR “syndrome X, insulin resistance” OR “metabolic X syndrome” OR “syndrome, metabolic X” OR “X syndrome, metabolic” OR “dysmetabolic syndrome X” OR “syndrome X, dysmetabolic” OR “Reaven syndrome X” OR “syndrome X, Reaven”) AND (equine OR horses OR horse OR “horse, domestic” OR “domestic horse” OR “domestic horses” OR “horses, domestic” OR “equus caballus” OR “equus przewalskii” OR pony OR mare)	96
<i>CAB Direct</i>	((founder OR laminitis) AND ("metabolic syndrome" OR "metabolic syndromes" OR "syndrome, metabolic" OR "syndromes, metabolic" OR "metabolic syndrome x" OR "insulin resistance syndrome x" OR "syndrome x, metabolic" OR "syndrome x, insulin resistance" OR "metabolic x syndrome" OR "syndrome, metabolic x" OR "x syndrome, metabolic" OR "dysmetabolic syndrome x" OR "syndrome x, dysmetabolic" OR "reaven syndrome x" OR "syndrome x, reaven") AND (equine OR horses OR horse OR "horse, domestic" OR "domestic horse" OR "domestic horses" OR "horses, domestic" OR "equus caballus" OR "equus przewalskii" OR pony OR mare))	179
<i>Cochrane</i>	(founder or laminitis) AND (“metabolic syndrome” OR “metabolic syndromes” OR “syndrome, metabolic” OR “syndromes, metabolic” OR “metabolic syndrome X” OR “insulin resistance syndrome X” OR “syndrome X, metabolic” OR “syndrome X, insulin resistance” OR “metabolic X syndrome” OR “syndrome, metabolic X” OR “X syndrome, metabolic” OR “dysmetabolic syndrome X” OR “syndrome X, dysmetabolic” OR “Reaven syndrome X” OR “syndrome X, Reaven”) AND (equine OR horses OR horse OR “horse, domestic” OR “domestic horse” OR “domestic horses” OR “horses, domestic” OR “equus caballus” OR “equus przewalskii” OR pony OR mare) in Title Abstract Keyword - (Word variations have been searched)	2
<i>Web of Science</i>	(((founder OR laminitis) AND (((((((((((("metabolic syndrome" OR "metabolic syndromes") OR "syndrome, metabolic") OR "syndromes, metabolic") OR "metabolic syndrome X") OR "insulin resistance syndrome X") OR "syndrome X, metabolic") OR "syndrome X, insulin resistance") OR "metabolic X syndrome") OR "syndrome, metabolic X") OR "X syndrome, metabolic") OR	175

"dysmetabolic syndrome X") OR "syndrome X, dysmetabolic") OR "Reaven syndrome X") OR
"syndrome X, Reaven") AND (((((((((equine OR horses) OR horse) OR "horse, domestic") OR
"domestic horse") OR "domestic horses") OR "horses, domestic") OR "equus caballus") OR "equus
przewalskii") OR pony) OR mare))

Total

688

Tabela 2. Nível de evidência científica por tipo de estudo - “*Oxford Centre for Evidence-based Medicine*” (modificado de Oxford, 2009).

Grau de recomendação	Nível de evidência	Tratamento – prevenção – etiologia	Prognóstico	Diagnóstico	Diagnóstico diferencial / prevalência de sintomas	
A	1A	Revisão sistemática de ensaios clínicos controlados randomizados	Revisão Sistemática de Coortes desde o início da doença.	Revisão Sistemática de estudos diagnósticos nível 1.	Revisão sistemática de estudos de coorte (contemporânea ou prospectiva)	
	1B	Ensaio clínico controlado randomizado com intervalo de confiança estreito	Coorte desde o início da doença, com perda < 20%. Critério prognóstico validado em uma única	Coorte validada, com bom padrão de referência. Critério Diagnóstico testado em um único centro clínico.	Estudo de coorte com poucas perdas	
	1C	Resultados terapêuticos do tipo “tudo ou nada”	Série de casos do tipo “tudo ou nada”	Sensibilidade e especificidade próximas de 100%	Série de casos do tipo “tudo ou nada”	
B	2A	Revisão Sistemática de Estudos de Coorte	Revisão Sistemática de coortes históricas (retrospectivas) ou de seguimento de casos não tratados de grupo controle de ensaio clínico randomizado	Revisão Sistemática de estudos diagnósticos de nível >2	Revisão Sistemática de estudos sobre diagnóstico diferencial de nível >2	
	2B	Estudo de Coorte (incluindo Ensaio Clínico Randomizado de menor qualidade)	Estudo de coorte histórica, seguimento de pacientes não tratados de grupo de controle de ensaio clínico randomizado. Critério Prognóstico derivado ou validado somente de amostras fragmentadas.	Coorte exploratória com bom padrão de referência. Critério Diagnóstico derivado ou validado em amostras fragmentadas ou banco de dados	Estudo de coorte histórica ou com seguimento de casos comprometidos (número grande de perdas)	
	2C	Observação de resultados terapêuticos (<i>outcomes research</i>). Estudo Ecológico.	Observação de Evoluções Clínicas (<i>outcomes research</i>)	-	-	Estudo Ecológico
	3A	Revisão Sistemática de Estudos Caso-Controle	-	-	Revisão Sistemática de estudos diagnósticos de nível >3B	Revisão Sistemática de estudos de nível >3B
	3B	Estudo Caso-Controle	-	-	Seleção não consecutiva de casos, ou padrão de referência aplicado de forma pouco consistente	Coorte com seleção não consecutiva de casos, ou população de estudo muito limitada
C	4	Relato de Casos (incluindo coorte ou caso-controle de menor qualidade)	Série de casos (e coorte prognostica de menor qualidade)	Estudo de caso-controle ou padrão de referência pobre ou não independente	Série de casos, ou padrão de referência superado	
D	5	Opinião de especialistas desprovida de avaliação crítica ou baseada em matérias básicas (estudo fisiológico ou estudo com animais)				

Seleção dos estudos

Foram encontradas 688 publicações nas 7 bases de dados escolhidas. Os estudos foram inseridos no gerenciador de referências (Mendeley Desktop 1.19.8) e automaticamente eliminados os duplicados (377 estudos). Manualmente foram ainda identificados 6 outros estudos em duplicata, resultando em um total de 383 artigos duplicados e excluídos.

Após a remoção das duplicatas, cada estudo (n=305) foi avaliado de acordo com o título e o resumo, eliminando nesta primeira etapa de seleção 242 artigos, sendo 106 artigos originais não elegíveis; 55 artigos de revisão; 27 resumos em eventos; 17 artigos de opinião; 16 capítulos de livro; 12 em outros idiomas, salvo o inglês e português; 6 artigos indisponíveis para leitura; 2 livros e 1 tese.

Anterior ao início da segunda seleção, foram avaliados pelo título e resumo os estudos encontrados pela atualização automática da busca pelo gerenciador de referências ou busca manual, que identificou mais 55 estudos. Destes apenas 22 estudos foram elegíveis, resultando em 85 estudos indicados para a leitura na íntegra.

Após leitura na íntegra, 37 estudos foram incluídos nesta revisão e posteriormente realizou-se a coleta e extração de dados para obtenção dos resultados. O fluxograma de cada etapa e o número de estudos selecionados estão apresentados na Figura 1.

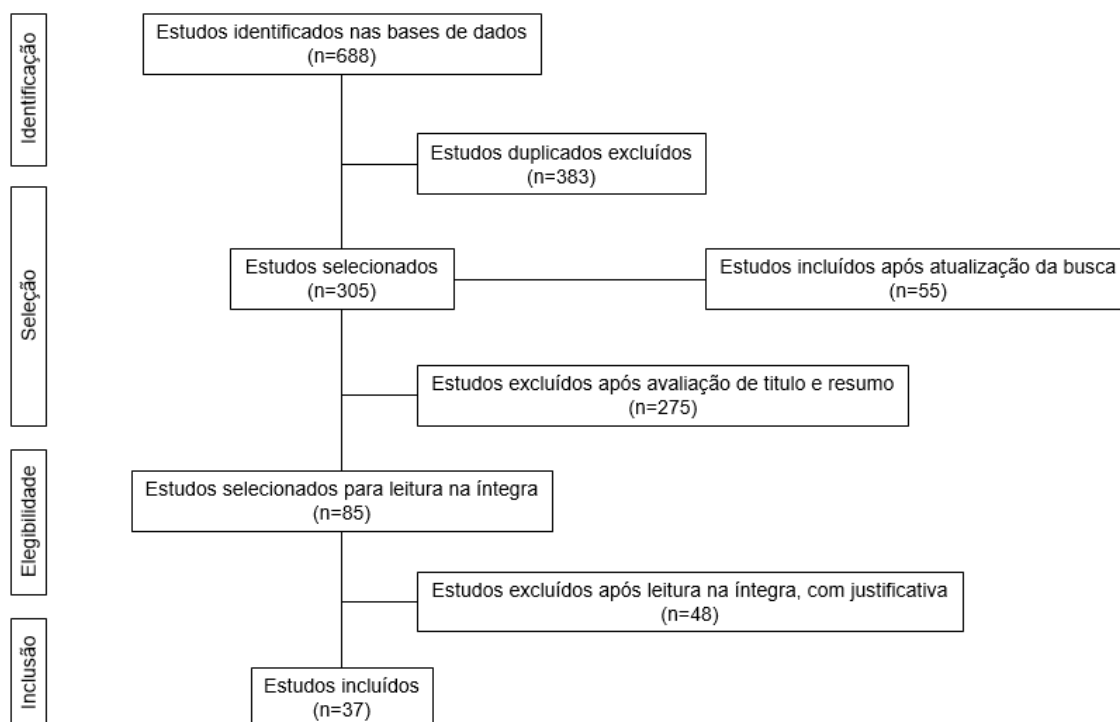


Figura 1. Fluxograma da estratégia de seleção dos estudos utilizada para identificar os artigos com informações sobre fatores de risco para laminite endocrinopática causada pela SME, resultando em 37 estudos incluídos para posterior avaliação crítica (adaptada de Moher et al., 2009).

Coleta e extração de dados

Foram incluídos 37 estudos para avaliação crítica com extração dos dados.

Devido às variações entre os estudos, como desenho utilizado, populações e medidas de resultados, não foi possível realizar uma meta-análise, portanto apenas os resultados de síntese de evidências qualitativas foram apresentados.

Quanto as bases de dados, 16 estudos (43,3%) foram encontrados em mais de uma base, 6 (16,2%) apenas no *Web Of Science*, 2 (5,4%) apenas no *CAB Direct*, 1 (2,7%) apenas no *Embase* e 12 (32,4%) encontrados em busca manual. Apenas dois estudos são apresentações em *short communication*, os demais são artigos originais.

Os países que mais realizaram pesquisas na área estudada foram Austrália (n=15, 40,6%), seguido dos Estados Unidos (n=13, 35,1%), Reino Unido (n=5, 13,5%) e demais países (n=3, 8,1%), sendo um estudo prospectivo que envolveu vários países. Apenas 1 estudo foi realizado no Brasil (2,7%). Quanto aos equinos utilizados nos estudos, foram 46% (17/37) em pôneis, 37,8% (14/37) em cavalos e 16,2% (6/37) pôneis e cavalos.

O modelo de indução para laminite endocrinopática mais utilizado nos experimentos foi o *clamp* euglicêmico-hiperglicêmico prolongado em dez estudos (27%) e seis (16,2%) com modelo de indução com dietas ricas em carboidratos não-estruturais, 1 estudo utilizou os dois modelos de indução e 3 estudos foram realizados *in vitro*. Os demais estudos, 46%, realizaram experimentos com animais previamente laminíticos ou estudos prospectivos com animais que desenvolveram laminite de ocorrência natural.

Apenas 4 estudos (10,8%) realizaram cálculo para obtenção de número amostral ideal para alcançar poder estatístico dos resultados do experimento.

Avaliação da qualidade dos estudos incluídos

De acordo com a classificação de Oxford (2009), 18 dos 37 estudos incluídos foram classificados no mais alto grau de recomendação (A). Destes, 17 (45,9%) se encaixaram no nível de evidência 1B, maior classificação para estudos clínicos ([Documento Complementar 1](#)).

Fatores de risco

Dois estudos encontraram uma probabilidade maior em desenvolver laminite nos animais que apresentaram desregulação da insulina, sinais de SME ou de PPID (Cantarelli et al., 2018; Coleman et al., 2018).

O desenvolvimento da laminite a partir da indução por hiperinsulinemia foi confirmado por Asplin et al. (2007b) e De Laat et al. (2010a), sendo que os estudos que utilizaram o mesmo modelo de indução obtiveram 100% de laminite clínica com grau Obel II no grupo tratado (Nourian et al., 2010; De Laat et al., 2012a; De Laat et al., 2015; Watts et al., 2019; Campolo et al., 2020), reforçando a associação entre hiperinsulinemia e o desenvolvimento da afecção.

Estudos observacionais encontraram concentração de insulina basal em repouso maior em animais laminíticos comparados aos não laminíticos (Treiber et al., 2006; Karikoski et al., 2011; Valle et al., 2013; Morgan, McGowan, T. e McGowan, C., 2014; Morgan et al., 2016; Cantarelli et al., 2018) sendo observada essa diferença apenas no verão comparado ao inverno (Bailey et al., 2008). Outro ainda demonstrou que a insulina basal >32 mU/L pode ser um fator de risco preditivo de laminite clínica (Carter et al., 2009). A concentração de insulina também foi associada com o aumento na velocidade de início e com o grau da doença (Walsh et al., 2009; Meier et al., 2018).

Um estudo confirmou a presença de transportador de glicose tipo 1 (GLUT-1) nas lâminas do casco, tendo sua expressão diminuída após exposição prolongada a hiperinsulinemia (De Laat et al., 2015). Além disso, houve aumento na expressão de GLUT-8 e 12 nas lâminas após tratamento. Em estudo anterior, foi observado aumento

na expressão de GLUT-1 na fase de desenvolvimento da laminite após indução com insulina e uma diminuição com a progressão da doença (De Laat et al., 2012b).

A expressão do receptor do fator de crescimento semelhante à insulina - 1R (IGF-1R) está presente nas células epiteliais laminares (Burns et al., 2013; Baskerville et al., 2018; Nanayakkara et al., 2019). De Laat et al. (2013) não observaram diferença nas concentrações séricas de IGF-1R entre grupo tratado e controle, porém observou-se uma tendência à diminuição do transcrito até o tempo 10h de tratamento. Para Menzies-Gow, Harris e Elliott (2017) a concentração plasmática de IGF-1R foi considerada, no terceiro ano de experimento, um fator de risco para laminite associada a pastagens.

As principais vias de sinalização da insulina aumentadas foram ERK_{1/2} (Baskerville et al., 2018), Akt, p70S6K, p90RSK e (Ser 235 / 236 e Ser 240/244) RPS6/mTORC1 (Lane et al., 2017).

A disfunção endotelial dos vasos laminares foi observada como diminuição da vasoconstrição mediada por endotelina-1 (ET-1) após incubação do tecido com insulina (Keen et al., 2013) e redução na vasodilatação de vasos endotélio-dependente nos animais com laminite endocrinopática apresentando hiperinsulinemia (Morgan et al., 2016).

Quanto a presença de metaloproteinases no tecido laminar, um estudo encontrou aumento na quantidade de metaloproteinases MMP-9 e menor concentração de pró-MMP-2 em cavalos laminítico em comparação com não laminíticos após indução com insulina (De Laat et al., 2011).

Quanto a expressão de substâncias e proteínas frente a indução por hiperinsulinemia, observou-se aumento na expressão de mRNA de HSP90, fibrinogênio beta e alfa-2-macroglobulina e diminuição do mRNA da vinculina, talina-1 e caderina-13, proteínas essas que auxiliam na sinalização da insulina e adesão celular (Campolo et al., 2020) e diminuição na concentração tecidual da proteína lamelar carbonil (De Laat et al., 2012b).

As citocinas pró-inflamatórias foram observadas em maiores concentrações de IL-1 β , IL-6, IL-11, COX-2 e E-selectina no grupo tratado com p-EHC comparado aos animais do grupo controle em um estudo (Watts et al., 2019).

Após indução com hiperinsulinemia prolongada, quatro estudos encontraram características histopatológicas no tecido laminar relacionadas com laminite, como figuras mitóticas e apoptose, presença de leucócitos (De Laat et al., 2012a), alongamento das pontas da lâmina epidérmica secundária e arredondamento do núcleo das células (Asplin et al., 2007b; De Laat et al., 2012a), aumento no número de células epiteliais laminares dependente da concentração de insulina (Baskerville et al., 2018), espessamento da membrana basal e presença de células polimorfonucleares na lâmina epidérmica secundária (Nourian et al., 2010).

Dois estudos encontraram sensibilidade à insulina menor em animais previamente laminíticos comparado aos animais que nunca desenvolveram laminite (Treiber et al., 2009; Valle et al., 2013). Este ainda encontrou uma relação glicose/insulina maior em pôneis laminíticos, sugerindo a presença de resistência insulínica

(Valle et al., 2013). A sensibilidade à insulina também foi menor no verão em pôneis predispostos a laminite, sugerindo resistência à insulina no estudo de Bailey et al. (2008), essa diferença não foi encontrada no inverno.

A associação entre obesidade ou adiposidade regional, aumento de citocinas pró-inflamatórias, presença ou não de resistência à insulina e episódios de laminite foi fortemente encontrada em diversos estudos incluídos nesta revisão (Treiber et al., 2006; Carter et al., 2009; Treiber et al., 2009; Burns et al., 2014; Menzies-Gow et al., 2014; Menzies-Gow, Harris e Elliott, 2017; Cantarelli et al., 2018; Jacob et al., 2018; De Laat; Sillence; Reiche, 2019).

A adiponectina apresenta-se diminuída em animais previamente laminíticos (Menzies-Gow et al., 2014) e em animais com desregulação da insulina e obesos (Jacob et al., 2018) e em estudo sua concentração plasmática diminuída foi considerada um fator de risco para laminite associada as pastagens, nos 3 anos de experimentação (Menzies-Gow, Harris e Elliott, 2017).

A dislipidemia foi resultado de seis estudos que encontraram aumento na concentração de triglicérides em animais previamente laminíticos (Treiber et al., 2006, Bailey et al., 2008; Carter et al., 2009; Valle et al., 2013; Wray et al., 2013; Morgan et al., 2016). Concentrações aumentadas de leptina associaram-se positivamente a alterações nas concentrações de triglicérides, ácidos graxos não-esterificados e insulina (Suagee et al., 2013; Morgan, McGowan, T. e McGowan, C, 2014)

Um estudo encontrou concentrações plasmáticas de TNF- α significativamente maiores em pôneis com histórico de laminite comparado aos nunca laminíticos (Treiber et al., 2009).

Apenas dois estudos avaliaram os alelos FAM174A 11-G e BIEC2-263524 para risco de SME e laminite. Um estudo encontrou uma correlação forte entre a presença dos alelos e o aumento do escore de condição corporal e a relação insulina/glicose modificada, um aumento de triglicérides e colesterol nos cavalos que apresentavam os alelos e quando estes estavam presentes ao mesmo tempo conferiam risco de laminite e valores maiores de insulina no sangue (Lewis et al., 2017). Roy et al. (2020) não encontraram associação estatística entre característica da SME e o alelo 11G, apenas uma associação entre concentração de adiponectina e o efeito dominante do alelo em pôneis.

No estudo de Coleman et al. (2018) a idade não foi considerada um fator de risco para o desenvolvimento de laminite endocrinopática ou associada as pastagens. Porém outros estudos encontraram a idade significativamente maior no grupo de pôneis previamente laminíticos comparado aos sem laminite, descartando em seu design experimental os animais suspeitos para PPID (Treiber et al., 2009; Valle et al., 2013).

Houve associação positiva entre as concentrações de TNF- α e a temperatura do casco com a idade em pôneis (Carter et al., 2009) e interleucina-6 (IL-6) e idade (Suagee et al., 2013).

Pôneis prenhes apresentaram valores maiores na concentração de triglicérides, ácido úrico e na relação perímetro/ altura (Carter et al., 2009). Em um estudo foi encontrado 100% de fêmeas no grupo de pôneis com desregulação a insulina (Jacob et al., 2018), em outro, houve uma correlação entre éguas e concentrações aumentadas de TNF- α e interleucina-6 (Suagee et al., 2013), neste estudo ainda se observaram maiores concentrações de leptina em éguas comparado aos cavalos castrados.

Não houve associação ou correlação entre raça e o desenvolvimento da laminite endocrinopática nos estudos incluídos.

Discussão

No presente estudo confirmou-se que a hiperinsulinemia é um fator desencadeante para as alterações de vias fisiopatológicas que interferem no metabolismo e desempenho funcional do tecido laminar dos equinos corroborando com o consenso de pesquisadores que definem a desregulação da insulina como fator de risco para laminite endocrinopática (Bennett e McGowan, 2021). Para os autores a obesidade e a resistência à insulina aparentemente têm papéis secundários, mas primordiais para o desenvolvimento da laminite endocrinopática.

A hiperinsulinemia causa laminite independente da concentração de glicose e se o animal se apresenta resistente ou sensível à insulina (Asplin et al., 2007b; De Laat et al., 2010a). Em um primeiro momento acreditava-se na hipótese de que a laminite ocorria por privação de glicose, uma vez que o tecido laminar tem sua integridade dependente da mesma (Pass, Pollitt, S. e Pollitt, C., 1998). A privação ocorre a partir da diminuição da sensibilidade à insulina ou resistência à insulina dos tecidos. Porém em

estudo *in vitro*, Asplin et al. (2007a) confirmaram a independência do tecido laminar à atuação da insulina visto a maior concentração de GLUT-1, transportador independente de insulina. Estudos mais recentes encontraram os mesmos resultados, observando a expressão de GLUT-1 e ausência de GLUT-4 (transportador de glicose dependente da insulina) nas lâminas (De Laat et al., 2012b; De Laat et al., 2015).

Apesar da insulina não ter ação no tecido laminar (Asplin et al., 2007a), sua atuação pode ocorrer como vasodilatador no tecido vascular por meio de seus receptores de insulina que ativam a via de sinalização PI3K regulando a produção de óxido nítrico, um potente vasodilatador (Muniyappa et al., 2007). A vasodilatação local permite maior captação de glicose pelos transportadores GLUT-1 (De Laat et al., 2010a) produzindo a partir do metabolismo da glicose produtos de glicação avançada (De Laat et al., 2012b). A pentosina, um tipo de produtos de glicação avançada, foi encontrada em maiores concentrações no estudo de Valle et al. (2013), que observou uma correlação com a proporção insulina: glicose, concentração de insulina e triglicérides.

A presença de produtos de glicação avançada no tecido laminar aumenta a liberação de espécies reativas de oxigênio a partir da ligação com seu receptor RAGE (Ramasamy, Yan e Schmidt, 2012). Porém o tecido laminar apresenta baixa resistência ao estresse oxidativo, pois apresenta pequena concentração de enzimas antioxidantes, como o superóxido dismutase (Loftus et al., 2007), tornando-o mais susceptível a lesões secundárias a glicoxidação. Neste caso, a inflamação local provoca infiltração leucocitária e produção de metaloproteinases, como MMP-9 e MMP-2 causando a degradação da membrana e ocasionando laminite em outros modelos de indução (Loftus et al., 2009). Entretanto são inconclusivos os achados para o envolvimento de metaloproteinases na laminite endocrinopática visto que não se sabe ao certo se ocorre estimulação de leucócitos e produção de MMP-9 pela inflamação ou se a

hiperinsulinemia estimula a síntese de MMP-9 local (De Laat et al., 2011), apesar de se observar infiltração leucocitária na laminite induzida por insulina (Nourian et al., 2010).

As evidências sobre a sinalização da inflamação mediada por leucócitos são fracas e pouco prováveis de estarem envolvidas na fisiopatologia da laminite endocrinopática. Entretanto parecem ser as células residentes do tecido laminar, como os queratinócitos, que liberam citocinas pró-inflamatórias em resposta a altas concentrações de glicose, insulina ou leptina (Watts et al., 2019), uma vez que a leptina, por exemplo, causa resposta pró-inflamatória em queratinócitos humanos (Lee et al., 2018).

Outro fator agravante se dá pelo aumento na expressão de GLUT-1 na fase de desenvolvimento da laminite induzida por insulina, permitindo uma maior exposição do tecido a glicose (De Laat et al., 2012b) e, conseqüentemente, maior produção de produtos de glicação avançada e espécies reativas de oxigênio. Apesar dos estudos que objetivaram esclarecer o papel do excesso de captação de glicose pelas células laminares na laminite endocrinopática, não está claro se este evento ocorre sozinho ou simultaneamente a outros eventos fisiopatológicos, uma vez que novas teorias surgiram para explicar os efeitos da insulina no tecido laminar.

A insulina também regula a produção e liberação de ET-1, causando vasoconstrição dependendo da via que é ativada (Muniyappa et al., 2007). Concentrações supra fisiológicas de insulina em associação com a resistência à insulina dos tecidos, ativam o receptor IGF-1R, desequilibrando as vias MAPK e PI3K. Concentrações elevadas de insulina aumentam a sinalização de MAPK e a produção de ET-1 e suprimem a sinalização de PI3K e conseqüentemente diminuem a liberação de

óxido nítrico (Li et al., 2005; Muniyappa et al., 2007; Burns et al., 2013). Essa disfunção endotelial foi observada em cavalos com laminite endocrinopática (Morgan et al., 2016), em vasos laminares incubados com insulina, observando venoconstrição mediada por ET-1 (Keen et al., 2013) e hipertensão em pôneis predispostos à laminite associada a pastagens (Bailey et al., 2008). A superestimulação do IGF-1R ocorre na fase desenvolvimento da laminite endocrinopática (De Laat et al., 2013), porém a concentração de IGF-1 parece diminuir após a hiperinsulinemia (De Laat et al., 2013; Menzies-Gow, Harris e Elliott, 2017, Meier et al., 2020). As concentrações de insulina necessárias para ativar essa via ainda não são claras, encontrando divergências entre estudos (Baskerville et al., 2018; Nanayakkara et al., 2019).

Pesquisadores acreditam ser a ativação do receptor IGF-1R por meio da via MAPK o principal fator de risco ocasionado pela hiperinsulinemia desencadeando alterações nas lâminas (De Laat, 2019; Bennett e McGowan, 2021). A expressão do transcrito IGF-1R está presente nas células laminares de animais saudáveis (Baskerville et al., 2018; Nanayakkara et al., 2019) e hiperinsulinêmicos (De Laat et al., 2013) em maior quantidade comparada ao receptor de insulina (IR) (Burns et al., 2013). A via MAPK ativada é responsável pela diferenciação celular, crescimento e mitogênese do tecido (Muniyappa et al., 2007). Desta forma, a ativação da via MAPK pela ligação da IGF-1R presente nas células laminares estimulada pela insulina, desencadearia alterações na morfologia do tecido como alongamento da lâmina epidérmica secundária, aumento de figuras mitóticas (Asplin et al., 2010; De Laat et al., 2012a; Karikoski et al., 2014), proliferação celular descontrolada (Baskerville et al., 2018), diminuição no número de hemidesmosomos (Nourian et al., 2010) causando desestruturação da membrana basal e conseqüentemente laminite (De Laat et al., 2013). Entretanto, em

estudos mais recentes, apesar de observarem presença de IGF-1R nas células epiteliais laminares, não suportam a hipótese de que o início da laminite ocorra a partir da ligação da insulina com o receptor IGF-1R (Meier et al., 2020), visto a baixa afinidade da insulina com este receptor e a necessidade de uma concentração superior a 900 nM de insulina para ativação na via, valor este obtido por meio da técnica quantitativa direta de ligação de radioligante (Nanayakkara et al., 2019).

A ativação dessa via foi confirmada no estudo *in vitro* de Baskerville et al. (2018) que observaram aumento na expressão de ERK1/2 (P42/44 MAPK) após incubação de células epiteliais laminares com insulina. A sinalização da via também ocorreu em pôneis obesos alimentados com dietas ricas em carboidratos não estruturais e cavalos *Standardbred* induzidos pelo modelo p-EHC, observando um aumento na sinalização das duas vias Akt e ERK 1/2 (Lane et al., 2017). Entretanto outros estudos não encontraram essa mesma associação (Nanayakkara et al., 2019; Meier et al., 2020), trazendo dúvidas e a necessidade de mais estudos para melhor esclarecimento de como o IGF-1R é ativado e como se relaciona com o desenvolvimento da laminite endocrinopática por meio da hiperinsulinemia. Essa investigação possibilitaria a utilização de anti-IGF-1R como tratamento, retardando a proliferação celular e o enfraquecimento do tecido laminar (Baskerville et al., 2018).

Sabe-se que além de um papel endócrino e metabólico, a adiposidade regional ou generalizada relaciona-se a um fenótipo inflamatório importante na patogênese da laminite endocrinopática (Carter et al., 2009; Suagee et al., 2013). Mecanismos como a lipotoxicidade podem comprometer as vias de sinalização da insulina causando resistência à insulina e a disfunção endotelial (Muniyappa et al., 2007). Apesar da

obesidade ter um papel importante em causar a resistência à insulina a partir da produção de citocinas, a hiperinsulinemia também pode estimular indiretamente a produção de citocinas pró-inflamatórias (Suagee et al., 2013).

Foram encontrados estudos que correlacionaram a obesidade, citocinas inflamatórias a resistência à insulina e episódios de laminite (Treiber et al., 2006; Carter et al., 2009; Treiber et al., 2009; Burns et al., 2014; Menzies-Gow et al., 2014; Menzies-Gow, Harris e Elliott, 2017; Cantarelli et al., 2018; Jacob et al., 2018; De Laat; Sillence; Reiche, 2019). O tecido adiposo apesar de não estar necessariamente interligado com a resistência à insulina dos tecidos (Burns et al., 2010; Bamford et al., 2016), apresenta uma forte relação com a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos adipócitos. Chamadas adipocinas, o TNF- α , IL-6, IL-1 β , amilóide sérica A, leptina e adiponectina podem estar envolvidas direta ou indiretamente na sensibilidade à insulina (Vick et al., 2007) e patogênese da laminite (Suagee et al., 2013). A adiposidade regional “na base da cauda” (Cantarelli et al., 2018) e no ligamento nugal, com maior expressão de IL-1 β e IL-6 (Burns et al., 2010) foi fortemente correlacionado com a presença de diminuição da sensibilidade à insulina ou resistência à insulina em animais obesos.

O TNF- α , citocina pró-inflamatória produzida pelo tecido adiposo, pode estar envolvido na patogênese da laminite (Treiber et al., 2009). O aumento de TNF- α foi associado a predisposição a laminite (Treiber et al., 2009) e apesar de sua concentração variar de acordo com a idade (Carter et al., 2009) ou sexo (Suagee et al., 2013) pode causar resistência à insulina a partir da interferência nas vias de sinalização pela produção de espécies reativas de oxigênio mitocondriais (Nishikawa et al., 2007). A associação que entre citocinas inflamatórias, obesidade e sensibilidade à insulina é

descrita no estudo de Vick et al. (2007), não incluído nesta revisão, corroborando com os achados citados anteriormente.

Estudos encontraram associações entre concentração diminuída de adiponectina e a desregulação da insulina (Bamford et al., 2016) independentemente do escore corporal do animal (Jacob et al., 2018). A hipoadponectinemia parece ser um fator de risco para laminite observado antes do início dos sinais, atuando na diminuição da vasodilatação laminar e em associação com a hiperinsulinemia alteram a expressão de IGF-1R (Menzies-Gow, Harris e Elliott, 2017). Essa relação se dá pelo fato de a adiponectina apresentar como principal papel a melhora da sensibilidade dos tecidos à insulina e da função vascular (Pajvani et al., 2003), sendo a adipocina essencial para a manutenção do metabolismo de ativação da insulina.

Concentrações elevadas de leptina encontradas em associação com a obesidade em cavalos (Jacob et al., 2018) corroboram com às observadas em humanos, onde homens e mulheres obesos têm níveis maiores de leptina sérica (Mechanick, Zhao e Garvey, 2018) e em outros trabalhos com cavalos (Bamford et al., 2016; Reynolds et al., 2019). Parecendo ser seu papel no equilíbrio energético e sua proporcionalidade positiva com o tamanho dos adipócitos o principal motivo para estar aumentada em obesos (Mechanick, Zhao e Garvey, 2018; Reynolds et al., 2019). A hiperleptinemia também foi associada com hiperinsulinemia (Morgan, McGowan, T. e McGowan, C., 2014) e episódios de laminite em pôneis por meio das alterações das vias de sinalização da insulina (Carter et al., 2009).

Cavalos diagnosticados com SME associada à obesidade apresentam alterações no metabolismo e funcionamento do tecido adiposo que podem colaborar com o desenvolvimento de desregulação da insulina, entretanto essa relação ainda não está completamente compreendida (Reynolds et al., 2019). Alterações lipídicas foram encontradas em estudos com cavalos e pôneis (Treiber et al., 2006; Carter et al., 2009; Valle et al., 2013) e em associação a hiperinsulinemia (Suagee et al., 2013; Morgan, McGowan, T. e McGowan, C., 2014), alterações estas também encontradas em humanos, nos quais alterações no metabolismo de ácidos graxos causaram resistência à insulina (Shulman, 2000).

Apesar de alguns trabalhos incluídos encontrarem predisposições entre raças para o SME ou desregulação à insulina, esta variável necessita de mais estudos epidemiológicos robustos para confirmar sua correlação com o desenvolvimento da laminite (De Laat, 2019). Durham et al. (2019) observaram maior predisposição de SME e desregulação da insulina em pôneis resultados esses que corroboram com De Laat, Sillence e Reiche (2019), que encontraram ainda uma associação negativa entre altura da cernelha e concentração sérica de insulina.

Idade foi encontrada como fator de risco para laminite crônica equina (Wylie et al., 2012) e para PPID (Ireland e McGowan, 2018; De Laat, Sillence e Reiche, 2019), porém não foi encontrada correlação com SME. Entretanto sabe-se que alterações metabólicas ocorrem com o envelhecimento, como o aumento de TNF- α (Carter et al., 2009 e Vick et al., 2007). Idade também foi associada com a diminuição da sensibilidade à insulina (Vick et al., 2007), porém esta associação não foi observada nos estudos incluídos nesta revisão. Segundo pesquisadores da área não há um consenso na

presença de associações entre idade, sexo e a predisposição à laminite (De Laat, 2019) tornando necessário mais estudos epidemiológicos, neste caso, da laminite endocrinopática, para se obter melhores informações de frequência e prevalência da doença de acordo com as características dos cavalos como sexo, raça e idade.

A predisposição genética relacionada a presença de alelos de risco para SME e laminite ainda apresentam evidências fracas, necessitando de mais estudos para confirmar esse fator de risco associado. Entretanto há indícios de que o alelo do homopolímero de guanina FAM174A 11 seja um risco para SME em cavalos Árabes (Roy et al., 2020) e outras raças de cavalos (Lewis et al., 2017) corroborando com outro estudo que encontrou esta associação em pôneis (Cash et al., 2020).

Algumas limitações foram encontradas para o desenvolvimento da presente revisão sistemática como a ausência de um segundo avaliador na seleção dos estudos apresentando um domínio parcial do assunto por parte dos autores, limitação essa que pode ter impactado no viés de seleção das publicações incluídas. Entretanto, visto que se realizou uma busca manual por artigos fortemente citados e por aqueles considerados “artigos sentinela”, acreditamos que este viés de seleção não representou perda significativa, além da rigorosidade nos critérios de elegibilidade que se restringiram a artigos originais com designs de maior poder estatístico. Alguns estudos encontrados pela estratégia de busca avaliaram laminite endocrinopática como um todo e não agrupando os animais de acordo com a causa, SME ou PPID. Sendo assim muitos foram excluídos, visto que o foco da revisão aqui desenvolvida foi apresentar fatores da laminite associada à SME, essa exclusão pode ter permitido perdas de informações da afecção. Outra limitação que vem sendo observado por outros autores em toda a história

das pesquisas de laminite, é a ausência de um consenso diante da definição de laminite. Frente a este problema alguns trabalhos podem ter sido eliminados por falta de uma avaliação e diagnóstico fidedigno da afecção. Quanto a avaliação da qualidade dos estudos, a classificação utilizada se baseia na classificação para estudos na medicina humana dificultando a interpretação para estudos na medicina veterinária.

Conclusão

Esta revisão confirma a importância central da desregulação da insulina no desenvolvimento da laminite endocrinopática e permite esclarecer os principais mecanismos envolvidos. Podendo ser extrapolada para o uso na prática clínica a partir da prevenção e acompanhamento de fatores que podem estar presente em animais com suspeita clínica, como acompanhamento da concentração sanguínea de insulina, dieta equilibrada e associada a exercícios em equinos obesos, predispostos ou que apresentam resistência à insulina. Entretanto mais estudos são necessários para maior esclarecimento da fisiopatogenia complexa envolvida nesta afecção, em especial aqueles que esclareçam quais vias são ativadas em cada fase da laminite para que se possa objetivar a prevenção a partir dos eventos precoces que desencadeiam a afecção.

Referências

- Asplin, K E., McGowan, C.M., Pollitt, C.C., Curlewis, J., Silience M.N. (2007a). Role of insulin in glucose uptake in the equine hoof. 25th Annual American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) Forum, Seattle, WA, 2007a. Hoboken, N. J.: Wiley.
- Asplin, K.E., Patterson-Kane, J.C., Silience, M.N., Pollitt, C.C., McGowan, C.M., 2010. Histopathology of insulin-induced laminitis in ponies. *Equine Veterinary Journal* 42, 700-706.
- Asplin, K.E., Silience, M.N., Pollitt, C.C., McGowan, C.M, 2007b. Induction of laminitis by prolonged hyperinsulinaemia in clinically normal ponies. *Veterinary Journal* 174, 530-535.

- Bailey, S.R., Habershon-Butcher, J.L., Ransom, K.J., Elliott, J., Menzies-Gow, N.J., 2008. Hypertension and insulin resistance in a mixed-breed population of ponies predisposed to laminitis. *American Journal of Veterinary Research* 69(1), 122-9.
- Bamford, N.J., Potter, S.J., Baskerville, C.L., Harris, P.A., Bailey, S.R., 2016. Effect of increased adiposity on insulin sensitivity and adipokine concentrations in different equine breeds adapted to cereal-rich or fat-rich meals. *Veterinary Journal* 214, 14-20.
- Baskerville, C.L., Chockalingham, S., Harris, P.A., Bailey, S. R., 2018. The effect of insulin on equine lamellar basal epithelial cells mediated by the insulin-like growth factor-1 receptor. *Peer Journal* 6, 5945.
- Bennett, M., McGowan, C.M., 2021. Science-in-brief: Report on the Global Equine Endocrinology Symposium. *Equine Veterinary Journal* 53, 414–416.
- Burns, T.A.; Geor, R.J., Mudge, M.C., McCutcheon, L.J., Hinchcliff, K.W., Belknap, J. K., 2010. Proinflammatory Cytokine and Chemokine Gene Expression Profiles in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue Depots of Insulin-Resistant and Insulin-Sensitive Light Breed Horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24(4), 932-939.
- Burns, T.A., Watts, M.R., Weber, P.S., McCutcheon, L.J., Geor, R.J., Belknap, J.K., 2014. Effect of Dietary Nonstructural Carbohydrate Content on Activation of 5'-Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase in Liver, Skeletal Muscle, and Digital Laminae of Lean and Obese Ponies. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 28(4), 1280–1288.
- Burns, T.A., Watts, M.R., Weber, P.S., Mccutcheon, L.J., Geor, R J., Belknap, J.K., 2013. Distribution of insulin receptor and insulin-like growth factor-1 receptor in the digital laminae of mixed-breed ponies: An immunohistochemical study. *Equine Veterinary Journal* 45(3), 326–332.
- Campolo, A., Frantz, M.W., De Laat M.A., Hartson, S.D., Furr, M.O., Lacombe, V.A., 2020. Differential Proteomic Expression of Equine Cardiac and Lamellar Tissue During Insulin-Induced Laminitis. *Frontiers in Veterinary Science* 7.
- Cantarelli, C., Dau, S.L., Stefanello, S., Azevedo, M.S., De Bastiani, G.R., Palma, H.E., Brass, K.E., De La Côte, F.D., 2018. Evaluation of oral sugar test response for detection of equine metabolic syndrome in obese Crioulo horses. *Domestic Animal Endocrinology* 63, 31–37.
- Carter, R.A., Treiber, K.H., Geor, R.J., Douglass, L., Harris, P.A., 2009. Prediction of incipient pasture-associated laminitis from hyperinsulinaemia, hyperleptinaemia and generalised and localised obesity in a cohort of ponies. *Equine Veterinary Journal* 41(2), 171–178.
- Cash, C.M., Fitzgerald, D.M., Spence, R.J., De Laat, M.A., 2020. Preliminary analysis of the FAM174A gene suggests it lacks a strong association with equine metabolic syndrome in ponies. *Domestic Animal Endocrinology* 72, 106439.
- Coleman, M.C., Belknap, J.K., Eades, S.C., Galantino-Homer, H.L., Hunt, R.J. Geor, R.J. et al., 2018. Case-control study of risk factors for pasture-and

- endocrinopathy-associated laminitis in North American horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 253(4), 470–478.
- De Laat, M. A., 2019 Science in brief: progress in endocrinopathic laminitis research: have we got a foothold? *Equine Veterinary Journal* 51, 141-142.
- De Laat, M.A., Clement, C.K., Silience, M.N., McGowan, C.M., Pollitt, C.C., Lacombe, V.A., 2015. The impact of prolonged hyperinsulinaemia on glucose transport in equine skeletal muscle and digital lamellae. *Equine Veterinary Journal* 47(4), 494–501.
- De Laat, M.A., Kyaw-Tanner, M.T., Nourian, A.R., McGowan, C.M., Silience, M.N., Pollitt, C.C., 2011. The developmental and acute phases of insulin-induced laminitis involve minimal metalloproteinase activity. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 140(3–4), 275–28.
- De Laat, M.A., Kyaw-Tanner, M.T., Silience, M.N., McGowan, C.M., Pollitt, C.C., 2012b. Advanced glycation end products in horses with insulin-induced laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 145(1–2), 395–401.
- De Laat, M.A., McGowan, C.M., Silience, M.N., Pollit, C.C., 2010b. Hyperinsulinemic Laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 26(2), 257-264.
- De Laat, M.A., McGowan, C.M., Silience, M.N., Pollitt, C.C., 2010a Equine laminitis: Induced by 48 h hyperinsulinaemia in Standardbred horses. *Equine Veterinary Journal* 42(2), 129–135.
- De Laat, M.A., Pollitt, C.C., Kyaw-Tanner, M.T., McGowan, C.M., Silience, M.N., 2013. A potential role for lamellar insulin-like growth factor-1 receptor in the pathogenesis of hyperinsulinaemic laminitis. *Veterinary Journal* 197(2), 302–306.
- De Laat, M.A., Silience, M.N., McGowan, C.M.; Pollitt, C.C., 2012a. Continuous intravenous infusion of glucose induces endogenous hyperinsulinaemia and lamellar histopathology in Standardbred horses. *Veterinary Journal* 191(3), 317–322.
- De Laat, M.A., Silience, M.N., Reiche, D.B., 2019 Phenotypic, hormonal, and clinical characteristics of equine endocrinopathic laminitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(3), 1456–1463.
- Durham, A.E., Frank, N., McGowan, C.M., Menzies-Gow, N.J., Roelfsema, E., Vervuert, I., Feige, K., Fey, K., 2019. ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33, 335-349.
- Frank, N., Geor, R.J., Bailey, S.R., Durham, A.E., Johnson, P.J., American College of Veterinary Internal Medicine, 2010. Equine metabolic syndrome. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 24(3), 467 – 475.
- Geor, R.J., Harris, P.A., 2009. Dietary management of obesity and insulin resistance: countering risk for laminitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 25(1).
- Geor, R.J., Harris, P.A. Laminitis. In: Geor, R. J., Harris, P. A., Coenen, M. (Ed.). *Equine Applied and Clinical Nutrition*. Filadélfia: Saunders Elsevier, 2013, p. 469-486.

- Higgins, J.P.T., Thomas, J., Chandler, J., Cumpston, M., Li, T., Page, M.J., Welch, V. A. (editors). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. 2nd Edition. Chichester (UK): John Wiley & Sons, 2019.
- Ireland, J.L., McGowan, C.M., 2018. Epidemiology of pituitary *pars intermedia* dysfunction: a systematic literature review of clinical presentation, disease prevalence and risk factors. *Veterinary Journal* 235, 22-33.
- Jacob, S.I., Murray, K.J., Rendahl, A.K., Geor, R.J., Schultz, N.E., McCue, M.E., 2018. Metabolic perturbations in Welsh Ponies with insulin dysregulation, obesity, and laminitis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 32(3), 1215–1233.
- Karikoski, N.P., Horn, I., McGowan, T.W., McGowan, C.M., 2011. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domestic Animal Endocrinology* 41(3), 111–117.
- Karikoski, N.P., Patterson-Kane, J.C., Asplin, K.E., McGowan, T.W., McNutt, M., Singer, E.R., McGowan, C.M. Morphological and cellular changes in secondary epidermal laminae of horses with insulin-induced laminitis. *American Journal of Veterinary Research*, v. 75, n. 2, p. 161-168, 2014.
- Keen, J.A., McGorum, B.C., Hillier, C., Nally, J.E., 2013. Short-term incubation of equine laminar veins with cortisol and insulin alters contractility in vitro: possible implications for the pathogenesis of equine laminitis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 36(4), 382-8.
- Kheder, M.H., Bailey, S.R., Dudley, K.J., Sillence, M.N., De Laat, M.A., 2018. Equine glucagon-like peptide-1 receptor physiology. *Peer Journal* 6, e4316.
- Lane, H.E., Burns, T.A., Hegedus, O.C., Watts, M.R., Weber, P.S., Woltman, K.A., Geor, R.J., McCutcheon, L.J., Eades, S.C., Mathes, L.E., Belknap, J.K., 2017. Lamellar events related to insulin-like growth factor-1 receptor signalling in two models relevant to endocrinopathic laminitis. *Equine Veterinary Journal* 49(5), 643-654.
- Lee, M., Lee, E., Jin, S. H., Ahn, S., Kim, S. O., Kim, J., Choi, D., Lim, K., Lee, S., Noh, M., 2018. Leptin regulates the pro-inflammatory response in human epidermal keratinocytes. *Archives of Dermatological Research* 310(4), 351-362.
- Leise, B., 2018. The role of neutrophils in equine laminitis. *Cell and Tissue Research* 371(3), 541-550.
- Lewis, S.L., Holl, H.M., Streeter, C., Posbergh, C., Schanbacher, B.J., Place, N.J., Mallicote, M.F., Long, M.T., Brooks, S.A., 2017. Genomewide association study reveals a risk locus for equine metabolic syndrome in the Arabian horse. *Journal of Animal Science* 95(3), 1071–1079.
- Li, G., Barrett, E.J., Wang, H., Chai, W., Liu, Z., 2005. Insulin at physiological concentrations selectively activates insulin but not insulin-like growth factor I (IGF-I) or insulin/IGF-I hybrid receptors in endothelial cells. *Endocrinology* 146, 4690–4696.

- Loftus, J.P., Belknap, J.K., Stankiewicz, K.M., Black, S.J., 2007. Laminar xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in the prodromal stage of black-walnut induced equine laminitis. *Equine Veterinary Journal* 39, 48-53.
- Loftus, L.P., Johnson, P.J., Belknap, J.K., Pettigrew, A., Black, S.J., 2009. Leukocyte-derived and endogenous matrix metalloproteinases in the lamellae of horses with naturally acquired and experimentally induced laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 129(3-4), 221-230.
- McGowan, C., 2008. The role of insulin in endocrinopathic laminitis. *Journal of Equine Veterinary Science* 28(10), 603-607.
- Mechanick, J.I., Zhao, S., Garvey, W.T., 2018. Leptin, an adipokine with central importance in the global obesity problem. *Global Heart* 13(2), 113-127.
- Meier, A.D., De Laat, M.A., Reiche, D.B., Sillence, M.N., 2020. Glucagon-like peptide-1, insulin-like growth factor-1, and adiponectin in insulin-dysregulated ponies: effects of feeding a high nonstructural carbohydrate diet and association with prospective laminitis. *Domestic Animal Endocrinology* 71.
- Meier, A.D., De Laat, M.A., Reiche, D.B., Pollitt, C.C., Walsh, D.M., McGree, J.M., Sillence, M.N., 2018. The oral glucose test predicts laminitis risk in ponies fed a diet high in nonstructural carbohydrates. *Domestic Animal Endocrinology* 63(1-9).
- Menzies-Gow, N.J., 2011. Laminitis epidemiology data: still severely lacking... *The Veterinary Journal* 189, 242.
- Menzies-Gow, N.J., Harris, P.A., Elliott J., 2017. Prospective cohort study evaluating risk factors for the development of pasture-associated laminitis in the United Kingdom. *Equine Veterinary Journal* 49(3), 300-306.
- Menzies-Gow, N.J., Wray, H., Bailey, S.R., Harris, P.A., Elliott, J., 2014. The effect of exercise on plasma concentrations of inflammatory markers in normal and previously laminitic ponies. *Equine Veterinary Journal* 46(3), 317-321.
- Menzies-Gow, N., 2018. Laminitis in horses. *In Practice* 90(9), 411-419.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., 2009. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: The PRISMA statement. *Journal of Clinical Epidemiology* 62, 1006-1012.
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P., Stewart, L.A., Prisma-P Group, 2015. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews* 1(4), 1-9.
- Morgan, R.A., Keen, J.A., Walker, B.R., Hadoke, P.W.F., 2016. Vascular Dysfunction in Horses with Endocrinopathic Laminitis. *PLoS ONE* 11(9), e0163815.
- Morgan, R.A., McGowan, T.W., McGowan, C.M., 2014. Prevalence and risk factors for hyperinsulinaemia in ponies in Queensland, Australia. *Australian Veterinary Journal* 92(4), 101-106.
- Muniyappa, R., Montagnani, M., Koh, K.K., Quon, M.J., 2007. Cardiovascular actions of insulin. *Endocrine Reviews* 28(5), 463-491.

- Nanayakkara, S.N., Rahnama, S., Harris, P.A., Anderson, S.T., De Laat, M.A., Bailey, S., Sillence, M.N., 2019. Characterization of insulin and IGF-1 receptor binding in equine liver and lamellar tissue: implications for endocrinopathic laminitis. *Domestic Animal Endocrinology* 66, 21–26.
- Nishikawa, T., Kukidome, D., Sonoda, K., Fujisawa, K., Matsuhisa, T. et al., 2007. Impact of mitochondrial ROS production in the pathogenesis of insulin resistance. *Diabetes Research and Clinical Practice* 77, S161-S164.
- Nourian, A.R., Asplin, K.E., McGowan, C.M., Sillence, M.N., Pollitt, C.C., 2009. Equine laminitis: Ultrastructural lesions detected in ponies following hyperinsulinaemia. *Equine Veterinary Journal* 41(7), 671–677.
- Oxford Centre for Evidence-based Medicine: levels of evidence (março 2009) [Internet]. 2009 Mar [citado 2021 ago 26]. Disponível em: <http://www.cebm.net/oxford-centre-evidence-based-medicine-levels-evidence-march-2009>.
- Pajvani, U.B., Du, X., Combs, T.P., Berg, A.H.; Rajala, M.W., Schulthess, T., Engel, J., Brownlee, M., Scherer, P.E., 2003. Structure–function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *Journal of Biological Chemistry* 278, 9073–9085.
- Pass, M.A., Pollitt, S., Pollitt, C.C., 1998. Decreased glucose metabolism causes separation of hoof lamellae in vitro: a trigger for laminitis? *Equine Veterinary Journal Supplement* 26, 133–138.
- Pollitt, C.C., 2008. Equine laminitis: current concepts. Australia: RIRDC.
- Ramasamy, R., Yan, S.F. Schmidt, A.M., 2012. Advanced glycation endproducts: from precursors to RAGE: round and round we go. *Amino Acids* 42, 1151–1161.
- Reynolds, A., Keen, J.A., Fordham, T., Morgan, R.A., 2019. Adipose tissue dysfunction in obese horses with equine metabolic syndrome. *Equine Veterinary Journal* 51, 760–766.
- Roy, M.M., Norton, E.M., Rendahl, A.K., Schultz, N.E., McFarlane, D., Geor, R.J., Mickelson J. R.; McCue, M. E., 2020. Assessment of the FAM174A 11G allele as a risk allele for equine metabolic syndrome. *Animal Genetics* 51(4), 607–610.
- Shulman, G.I., 2000. Cellular mechanisms of insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation* 106, 171–176.
- Suagee, J.K., Corl, B.A., Crisman, M.V., Pleasant, R.S., Thatcher, C.D., Geor, R.J., 2013. Relationships between body condition score and plasma inflammatory cytokines, insulin, and lipids in a mixed population of light-breed horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 27(1), 157-63.
- Treiber, K.H., Kronfeld, D.S., Hess, T.M., Byrd, B.M., Splan, R.K., Staniar, W.B., 2006. Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture-associated laminitis in ponies. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 228(10), 1538-45.
- Treiber, K., Carter, R., Gay, L., Williams, C., Geor, R., 2009. Inflammatory and redox status of ponies with a history of pasture-associated laminitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 129(3–4), 216–220.

- Valle, E., Storace, D., Sanguineti, R., Carter, R., Odetti, P., Geor, R., Bergero, D., 2013. Association of the glycoxidative stress marker pentosidine with equine laminitis. *Veterinary Journal* 196(3), 445–450.
- Vick, M.M., Adams, A.A., Murphy, B.A., Sessions, D.R., Horohov, D.W., Cook, R.F., Shelton, B.J., Fitzgerald, B.P., 2007. Relationships among inflammatory cytokines, obesity, and insulin sensitivity in the horse. *Journal of Animal Science* 85, 1144-1155.
- Walsh, D.M., McGowan, C.M., McGowan, T., Lamb, S.V., Schanbacher, B.J., Place, N. J., 2009. Correlation of Plasma Insulin Concentration with Laminitis Score in a Field Study of Equine Cushing's Disease and Equine Metabolic Syndrome. *Journal of Equine Veterinary Science* 29(2), 87–94.
- Watts, M.R., Hegedus, O.C., Eades, S.C., Belknap, J.K., Burns, T.A., 2019. Association of sustained supraphysiologic hyperinsulinemia and inflammatory signaling within the digital lamellae in light-breed horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 33(3), 1483–1492.
- Wray, H., Elliott, J., Bailey, S.R., Harris, P.A., Menzies-Gow, N.J., 2013. Plasma concentrations of inflammatory markers in previously laminitic ponies. *Equine Veterinary Journal* 45(5), 546–551.
- Wylie, C.E., Collins, S.N., Verheyen, K.L.P., Newton, J.R., 2012. Risk factors for equine laminitis: a systematic review with quality appraisal of published evidence. *The Veterinary Journal* 193, 58-66.