

**NATÁLIA MATOS SOUZA AZEVEDO**

**DIAGNÓSTICO DE HEMORRAGIA INDUZIDA POR ESFORÇO ATRAVÉS  
DO LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS  
SUBMETIDOS AO TESTE DE SIMULAÇÃO DE VAQUEJADA**

**RECIFE**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**NATÁLIA MATOS SOUZA AZEVEDO**

**DIAGNÓSTICO DE HEMORRAGIA INDUZIDA POR ESFORÇO ATRAVÉS  
DO LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS  
SUBMETIDOS AO TESTE DE SIMULAÇÃO DE VAQUEJADA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de **DOUTOR** em Ciência Veterinária.

Orientador:  
Prof. Dr. Paulo Fernandes de Lima.

**RECIFE**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**DIAGNÓSTICO DE HEMORRAGIA INDUZIDA POR ESFORÇO ATRAVÉS**  
**DO LAVADO TRAQUEAL E BRONCOALVEOLAR EM CAVALOS**  
**SUBMETIDOS AO TESTE DE SIMULAÇÃO DE VAQUEJADA**

Tese de Doutorado elaborada por

**NATÁLIA MATOS SOUZA AZEVEDO**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. PAULO FERNANDES DE LIMA  
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. HÉLIO MANSO CORDEIRO FILHO  
Co-Orientador - Departamento de Zootecnia da UFRPE

Prof. Dr. MARCOS ANTONIO LEMOS DE OLIVEIRA  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. FABIANO SÉLLOS COSTA  
Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

Dr<sup>a</sup> ERIKA KORINFSKY WANDERLEY  
Médica Veterinária Autônoma

## DEDICATÓRIA

*A minha filha Marília Matos Azevedo,*

*A você que é o ar que respiro, a luz dos  
meus olhos, razão da minha existência. Te dedico  
minha vida e tudo mais que você precisar.  
TE AMO Marília.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela família que eu tenho e pela oportunidade de conhecer pessoas tão diferentes e especiais as quais fizeram com que a minha vida se tornasse especial a cada dia.

Aos meus pais, especialmente a minha mãe Maria José de Matos Souza, que diante das dificuldades encontradas nunca se deixou abalar, sempre se mostrou forte, corajosa me ensinando a ter princípios, a ser digna e acima de tudo a respeitar as pessoas. Você mãe é meu alicerce, meu exemplo, minha vida! Ao meu pai Geraldo de Oliveira Souza, agradeço ter herdado o amor pelos animais, sei o quanto estaria orgulhoso e feliz por ver suas filhas tão dedicadas a cuidar dessas criaturas que ele tanto amava.

À minha filha, Marília Matos Azevedo, que é tudo para mim!! Falar de você filha sempre deixará meus olhos marejados... Acho que tudo que fiz antes de você existir já tinha uma finalidade, esperar você chegar! E que felicidade filha quando você chegou! Obrigada por realizar meu sonho de ser mãe! Você me faz ser uma pessoa melhor, mais paciente, mais segura e sentir um amor indescritível ... enfim TE AMO!

À minha irmã Sandra Oliveira Souza, que sempre me incentivou a buscar novos conhecimentos, me apoiando em tudo que precisei. Essa conquista também é sua!!

Ao meu marido, Márlon de Vasconcelos Azevedo, ser humano de coração enorme, tento aprender com você todos os dias. Nos escolhemos para compartilhar, crescer e viver juntos! Que possamos continuar vivendo a felicidade plena! Te amo! Muito obrigada por estar presente e me ajudar em todas as etapas me apoiando, incentivando, me ajudando. Obrigada por tudo, sem você não teria conseguido!

À professor Paulo Fernandes de Lima que na academia foi muito mais que um professor para mim, foi um pai!! Ao longo desses 12 anos de orientação só tenho a lhe agradecer por tudo! Com ele aprendemos o amor pelo que fazemos, sempre nos espelhamos no senhor. Muito obrigado pela oportunidade de compartilhar tantas histórias!

Agradeço também aos meus eternos orientadores e professores: Marcos Lemos, Hélio Manso, Fabiano Séllos, Fernanda Cajú, Antônio Travassos, Joana, Alcir, Dona Sônia pela paciência de me ajudar nos meus questionamentos e pela amizade que construímos ao longo desses anos.

Agradeço aos meus amigos (não poderei citar nomes são muitos!) que sempre me apoiaram em tudo que quiz fazer, me ajudaram e sempre, sempre acreditaram em mim.

Agradeço aos meus sogros, Valdemir Azevedo Pereira e Maria Veroneide de Vasconcelos Azevedo que nos apoiou e estimulou a buscar o conhecimento, e sempre nos acolheu com um abraço fraterno e muito carinho. Os tenho como pais! Obrigada por me acolher como filha!!

Agradeço aos cavalos, que em seu silêncio sabe nos mostrar sua dor, nos faz descobrir e compreender o que os afligi. Enfim... é na tentativa de ajudá-los e de retribuir todos os seus ensinamentos é que continuo numa busca incessante do conhecimento.

**RESUMO**

No experimento I objetivou-se analisar a secreção traqueal de cavalos sadios submetidos ao teste de simulação de vaquejada através de exame endoscópico e lavado traqueal e observar o perfil citológico desses cavalos. No experimento II objetivou-se comparar a eficiência do lavado traqueal (LT) e broncoalveolar (LBA) em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada para diagnóstico da Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço. Além disso, determinar via endoscópica a ocorrência das principais afecções respiratórias que acometem os cavalos de vaquejada. Foram utilizados 21 animais puros e mestiços da raça quarto de milha (esteira puxar) sem preferência por sexo com idade variando entre quatro e quinze. Foi realizado exame clínico de todos os animais antes da prova aferindo-se frequência cardíaca, respiratória, temperatura, tempo de perfusão capilar, motilidade intestinal e ausculta pulmonar. Foi verificado o tempo médio para cada animal para análise da velocidade média e realizado colheita sanguínea para hemograma e dosagem do lactato sanguíneo em diferentes tempos (T0, T15, T30, T60). A simulação da vaquejada foi caracterizada por 5 corridas com o cavalo de puxar e o esteira utilizando o boi. Decorridos 30 a 60 minutos da prova foi realizado o exame endoscópico e o lavado traqueal e broncoalveolar. O material coletado foi enviado ao laboratório onde foi processado e contagem celular. No experimento 01 A contagem diferencial média de células do aspirado traqueal foi de  $45,37 \pm 8,25$  de células epiteliais; 0 de células caliciformes;  $25 \pm 9,59$  de neutrófilos;  $4,25 \pm 1,01$  de linfócitos;  $0,25 \pm 0,16$  eosinófilos;  $11,5 \pm 5,51$  de macrófagos espumosos;  $5,87 \pm 2,02$  de hemossiderófagos e  $0,87 \pm 0,74$  de células gigantes. Todos os animais apresentavam-se clinicamente normais e não havia nenhuma queixa de queda de performance. Segundo o exame físico realizado antes da prova observaram-se  $46,5 \pm 4,73$  batimentos cardíacos por minuto,  $33,75 \pm 3,36$  movimentos respiratórios por minuto. Durante a prova observou-se que os animais desenvolveram uma velocidade média de 40,11Km/h não foi observado em nenhum dos animais epistaxe ou secreção mucosa nasal ao exame externo. A quantidade de solução salina aspirada para a lavagem traqueal foi de  $18,87 \pm 0,63$ ml. Não foram identificadas diferenças nos parâmetros analisados entre os cavalos de puxar e de esteira. ( $P > 0,05$ ). No experimento 02 nenhum dos animais necessitou de prévia sedação para o exame clínico e para o exame endoscópico. Todos os animais apresentavam-se clinicamente normais e não havia nenhuma queixa de queda de performance. Segundo o exame físico realizado antes da prova observaram-se  $40,86 \pm 2,42$  batimentos cardíacos por minuto,  $22,57 \pm 4,38$

movimentos respiratórios por minuto. Após a prova não foi observado em nenhum dos animais epistaxe ou secreção mucosa nasal ao exame externo. Não foi observada diferença na contagem diferencial média de células do aspirado traqueal e broncoalveolar nos diferentes grupos estudados. Os achados endoscópicos encontrados nos cavalos 30 a 60 minutos pós prova, no qual foi observado: hiperplasia folicular linfóide em 9,5% dos animais, granuloma aritenóide em 4,8%, condrite na epiglote em 23,8% dos quais 9,5% eram de puxar e 14,28% de esteira; e hemiplegia laringeana em 4,8% dos animais. Quanto a presença de secreção traqueal observou-se que ocorreu em 52,38% dos animais (11/21), destes 42,8% eram de puxar e 9,5% de esteira e que a hemorragia pulmonar ocorreu em 4,8% (1/21) sendo este de esteira confirmando via endoscópica a ocorrência de HPIE. Os valores de lactato ( $15,84 \pm 1,13$  pré teste e  $35,21 \pm 0,99$  pós teste) e glicose ( $133,71 \pm 10,12$  pré teste e  $151,07 \pm 10,12$  pós teste) sanguíneos antes e após o exercício, demonstrando o perfil de consumo energético bem como a capacidade atlética dos animais. Com a realização dos experimentos permite-se concluir que o exame endoscópico e a citologia do lavado traqueal são ferramentas fundamentais para o diagnóstico de afecções respiratórias, haja vista que a endoscopia permite identificar desordens funcionais e a citologia possibilita a visualização do tipo celular predominante permitindo identificar a patologia existente como HPIE ou IAD. Além disso conclui-se que a vaquejada e as provas de velocidade são esportes equestres que induzem hemorragia pulmonar e que a HPIE é provavelmente um evento patológico relacionado a falha nos capilares pulmonares ou doenças pulmonares. Ainda é permitido concluir que o exame endoscópico, a citologia do lavado traqueal e broncoalveolar são ferramentas importantes para diagnosticar a HPIE e que o LT é tão sensível quanto o LBA e de maior facilidade na execução para detectar o tipo celular predominante nessa afecção, mesmo quando o animal for negativo ao exame endoscópico.

**Palavras-chave: HPIE, atleta, endoscopia, vaquejada.**



**ABSTRACT**

In experiment number 01 it was analyzed the tracheal fluid of healthy horses submitted to a “vaquejada” simulation test through endoscopy and tracheal lavage (TL) and it was observed the cytological profile of these horses. In experiment number 02 were compared the TL and bronchoalveolar lavage (BAL) in horses submitted to a “vaquejada” simulation test to diagnose EIPH. Besides that, was determined through endoscopy the occurrence of the main respiratory diseases that affects “vaquejada” horses. It was used 21 pure and mixed quarter horses (pulling and supporting horses) of both sexes and with ages that varies between 4 and 15 years old. It was performed a clinical exam in all horses before the simulation test where it was measured the heart and respiratory rates, temperature, capillary refill time, intestinal motility and pulmonary auscultation. It was verified the average time for each animal to analyze the average speed and performed a blood sample collection for CBC and blood lactate in different moments (T0, T15, T30, T60). 5 races with the pulling and the supporting horses using a bull characterized the simulation. 30 to 60 minutes after the test, was performed the endoscopy, TL and BAL. The samples were sent to a lab where it was processed. In experiment 01 the average differential cell counting was  $45,375 \pm 8,255$  epithelial cells; 0 goblets cells;  $25 \pm 9,59$  neutrophils;  $4,25 \pm 1,013$  lymphocytes;  $0,25 \pm 0,164$  eosinophil;  $11,5 \pm 5,510$  foamy macrophages;  $5,875 \pm 2,020$  hemosiderophages;  $0,87 \pm 0,743$  giant cells. All animals were clinically normal and there was no performance problems reported. According to the physical exam performed before the test, it was observed  $46,5 \pm 4,732$  beats per minute and  $33,75 \pm 3,369$  breaths per minute. During the test, the animals developed an average speed of 40,11 Km/h and no bleeding or nasal fluid was seen on the horses in an external exam. The quantity of saline solution acquired to do the TL was  $18,875 \pm 0,639$ . There were no parameters difference between the pulling and the supporting horses ( $P > 0,05$ ). In experiment 02 none of the horses needed sedation to do the clinical or endoscopic exam. All animals showed clinically normal and there were no performance problems reported. According to the physical exam performed before the test, it was founded  $40,86 \pm 2,42$  beats per minute and  $22,57 \pm 4,38$  breaths per minute. After the test, no bleeding or nasal fluid was seen on the horses in an external exam. There were no differences in the average differential cell counting of the tracheal and bronchoalveolar aspirate between the studied groups. The endoscopic findings seen in horses 30 to 60 minutes after the test were: follicular hyperplasia in 9,5% of the horses, arytenoid granuloma in 4,8%, epiglottic chondritis in

23,8% of the horses in which 9,5% was pulling horses and 14,28% was supporting horses; and laryngeal hemiplegia in 4,8% of the horses. Regarding the presence of tracheal fluid it was observed in 52,38% of the horses (11/21), in which 42,8% was pulling horses and 9,5% supporting horses, and that the EIPH occurred in 4,8% (1/21), which the horse was a supporting horse and the bleed was confirmed through endoscopy. The lactate levels and blood glucose levels was measured before and after exercise, showing the energy consumption and the athletic capacity of the horses. With these experiments we can conclude that the endoscopy and the TL cytology are fundamental tools to diagnose respiratory diseases, once the endoscopy shows functional disorders and the cytology allows visualization of the predominant cell type, identifying the existing pathology such as EIPH and IAD. Besides that, it was concluded that the “vaquejada” and the others speed tests are equestrian sports that induces the EIPH and that it is a pathological event related to a fail in the pulmonary capillaries or to pulmonary diseases. The endoscopic exam, the TL and BAL cytology are important tools to diagnose EIPH and the TL is as sensible as BAL and easier to be performed, detecting the predominant cell type in this disease even when the horse is negative to the endoscopic exam.

**Key-words: EIPH, vaquejada, athlete, horses.**

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 01

	<b>Página</b>
Tabela 1. Médias dos parâmetros analisados nos cavalos de esteira e puxar submetidos a vaquejada, Município de Itabaiana - PB	49
Tabela 2. Achados Endoscópicos e alterações observadas durante a realização do aspirado traqueal de cavalos de vaquejada, Itabaiana - PB	50

### CAPÍTULO 02

	<b>Página</b>
Tabela 1. Resultados do lavado traqueal e broncoalveolar nos cavalos de vaquejada 15 minutos após o teste de simulação de vaquejada.	61
Tabela 2. Biomarcadores fisiológicos em cavalos de vaquejada antes e após o teste de simulação de vaquejada.	61
Tabela 3. Percentagem dos achados endoscópicos em cavalos de vaquejada utilizados no teste de simulação de vaquejada.	62
Tabela 4. Resultado do ANOVA com dois fatores (tipo de exercício e fase do exercício) em cavalos de vaquejada.	63

**SUMÁRIO**

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS</b>	14
<b>2. OBJETIVOS</b>	17
<b>3. REVISÃO DE LITERATURA</b>	
3.1. Vaquejada	18
3.2. Função Pulmonar	18
3.3. Distúrbios respiratórios em cavalos atletas	21
3.4. Hemorragia Pulmonar Induzida por esforço	
3.4.1- Conceito e Etiologia	22
3.4.2- Diagnóstico	24
3.4.3- Interpretação dos achados citológicos	27
3.4.4- Efeitos do exercício nas vias aéreas	29
3.4.5- Tratamento	30
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	36
<b>5. ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	
<b>5.1 CAPÍTULO 1</b>	46
Analysis of tracheal secretion in healthy horses undergoing a vaquejada simulation test	
<b>5.2. CAPÍTULO 2</b>	54
Diagnóstico de hemorragia pulmonar induzida em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada	

## 1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVAS

A equideocultura é a terceira atividade agropecuária que mais emprega no Brasil e vem vivendo uma grande expansão de suas atividades nos últimos anos, sendo hoje responsável pela geração de mais de 6 milhões de empregos diretos, além do surgimento de inúmeras empresas farmacêuticas, que experimentam grande crescimento principalmente no ramo de nutracêuticos (ESALQ, 2006).

O nordeste é o grande impulsionador deste desenvolvimento, pois é a vaquejada que reúne mais de 600 animais em apenas uma prova e gera milhões em negócios todo final de semana, prova que está enraizada em nossa cultura, como grande manifestação popular, esta grande movimentação demonstra o poder desta atividade na economia local, tendo em vista que cada cavalo necessita que 3 três pessoas o acompanhem por prova o que totaliza 1800 pessoas envolvidas diretamente com o cavalo, sendo adicionado ainda veterinários, locutores, juizes e vaqueiros do curral, bem como todos os trabalhadores autônomos envolvidos de forma indireta nos serviços e alimentação e produção de arreios e acessórios.

A cidade de Cachoeirinha situada no agreste pernambucano, tem sua economia baseada na produção do couro e do aço visando sua utilização na equideocultura, assim como Aldeia, distrito de Camaragibe, que possui uma atividade equestre intensiva, com uma relação de 5,6 cavalos por cavalição, gerando uma importante fonte de receitas com o aluguel de boxes nos centros equestres, tendo como média salarial acima do salário mínimo adotado no Brasil (MANSO et al., 2008).

Tendo em vista a importância desses animais no cenário agropecuário busca-se minimizar cada vez mais perdas em decorrência de enfermidades que comprometam o desempenho atlético dos cavalos de vaquejada.

As afecções respiratórias são apontadas como o segundo grupo de enfermidades de maior prevalência em cavalos de corrida no Reino Unido e Alemanha (JEFFCOT et al., 1982). Martin et al. (2000), demonstraram em um estudo retrospectivo com 348 cavalos, uma correlação entre baixa performance em corridas e treinos e anormalidade em vias respiratórias sem manifestação clínica.

Impactos financeiros nas negociações de animais, assim como o baixo desempenho em provas esportivas observados em estudos como o de Preston et al. (2008), sinalizam para a importância de se manter a higidez desses animais, e acima de

tudo, diagnosticar o problema de maneira precoce para que se possa conduzir o tratamento da melhor forma.

Diversas técnicas são utilizadas para diagnosticar e classificar os processos inflamatórios, desde exame clínico, hematológicos, endoscópicos, que são mais difundidos. Além da análise laboratorial do lavado traqueal e broncoalveolar (exames menos usados na rotina clínica) (HOFFMAN, 1999; LESSA et al., 2002).

A hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) é uma síndrome prevalente em cavalos com episódios repetidos de hemoptise após exercício extenuante. A condição foi relatada a nível mundial e em muitos tipos de equino atletas, causando grande preocupação na indústria equina (RAFAEL et al., 1982; ROBERTS et al., 1993). Apesar de sua alta prevalência, pouco se sabe sobre os fatores predisponentes para HPIE. Parte da dificuldade em definir sua patofisiologia e tratamento é a falta de precisão dos métodos de diagnóstico a condição. Pascoe et al., (1981) definiu HPIE com base em observações endoscópicas de sangue nas vias aéreas após o esforço em cavalos de corrida, a epistaxe foi o primeiro sinal descrito em cavalos (COOK, 1974). Infelizmente, apenas a epistaxe tem uma baixa especificidade e uma baixa sensibilidade para a detecção de HPIE em cavalos. Até à data, o uso da endoscopia das vias aéreas traqueobrônquicas permanece o método mais aceito de detectar HPIE dentro de 30-90 minutos após o exercício. Porém, ainda é difícil determinar um verdadeiro-positivo (DOUCET e VIEL, 2002).

Na tentativa de excluir ao máximo a ocorrência de falso-negativo há um aprimoramento das técnicas de citologia do lavado traqueal e broncoalveolar. O lavado broncoalveolar (LBA) é um método pelo qual se obtêm amostras (células, secreções e moléculas) provenientes das porções mais distais do trato respiratório por meio da infusão de fluido isotônico e imediata aspiração do mesmo (FERNANDES et al., 2000). Esse método permite obter amostras para estudo citológico, estudos de função ou de atividade celular, além de determinações bioquímicas, como, por exemplo, dosagens de imunoglobulinas, enzimas e surfactante (SWEENEY & BEECH, 1991).

As principais indicações para a execução de LBA são as doenças pulmonares difusas ou multifocais não infecciosas, tais como: doença pulmonar obstrutiva crônica, hemorragia pulmonar induzida pelo esforço e doença inflamatória das vias aéreas (MANSMANN & KING, 1998; HOFFMAN, 1999).

As amostras citológicas de LBA de um cavalo normal apresentam macrófagos de aparência uniforme com mínima vacuolização citoplasmática (MOORE, 1996),

celularidade moderada e proporções iguais entre macrófagos alveolares e pequenos linfócitos. Pode existir um discreto “fundo” de muco. O número de células epiteliais e os tipos variam dependendo do ponto de aspiração. Ainda que muco e eosinófilos estejam ausentes, poucos neutrófilos podem estar presentes. Cavalos com HPIE apresentam um padrão citológico com presença de hemossiderina em macrófagos alveolares (COUETIL, 2007).

Diante do exposto esta atividade lucrativa é responsável pela distribuição de renda em nossa região. Qualquer afecção que venha a diminuir o rendimento funcional desses animais acarreta em prejuízos econômicos. Sendo as afecções respiratórias a segunda maior causa de diminuição de performance é de extrema importância determinar as principais enfermidades que acometem esse sistema em nossos cavalos de vaquejada, já que trabalham em condições climáticas e de tipo de pista completamente diferentes dos expostos a outras provas.

## **2. OBJETIVOS:**

### Objetivo Geral:

- Determinar a ocorrência desta enfermidade correlacionando os achados do exame clínico, hematológico, endoscópico e lavado traqueal e broncoalveolar em cavalos de vaquejada.

### Objetivos Específicos:

- Determinar via endoscópica a ocorrência das principais afecções respiratórias que acometem os cavalos de vaquejada;
- Determinar do perfil citológico do lavado traqueal e do lavado broncoalveolar.



### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1- Vaquejada:

A vaquejada é a prática equestre de maior significado econômico na região nordeste e tem sua origem nas antigas lidas da criação de bovinos no sertão. Segundo Câmara Cascudo, (2000) os animais eram criados em comum, soltos na caatinga e reunidos no inverno, em grandes currais, onde eram ferrados, marcados, negociados e soltos novamente nos campos. A vaquejada marcava apenas o encerramento festivo de uma etapa de trabalho que era essencialmente realizada pelos vaqueiros (ALMEIDA NETO, 2009).

Atualmente alguns estados do Nordeste já reconhecem legalmente a vaquejada como um esporte equestre, no entanto, ainda não há um regulamento que determine normas para a prática da atividade. Basicamente, a competição consiste em uma dupla de vaqueiros que em uma arena de areia (chamada pista de vaquejada) tem como objetivo derrubar um boi dentro de uma área específica (demarcada por duas linhas de cal). (ALMEIDA NETO, 2009).

O puxador tem a função de derrubar o boi pelo rabo e o outro vaqueiro é chamado de esteira o qual tem a função de alinhar o boi junto do puxador e não permitir que o boi pise a marca de cal. O puxador poderá ser inscrito uma ou mais vezes dependendo das normas de cada prova, já o esteira pode correr várias vezes, não havendo inscrições fixas de conjunto cavalo/cavaleiro, nem fiscalização relacionadas a: número de participações por animal, categorias relacionadas a idade, nem inspeções veterinárias pré-prova. É uma atividade equestre que pode ser classificada como de média / alta intensidade, de curta duração em que os animais atingem velocidade média de 35km/h (ALMEIDA NETO, 2009).

#### 3.2- Função Pulmonar:

O sistema respiratório provê oxigênio para manter o metabolismo tecidual e remove dióxido de carbono. O consumo de oxigênio e a produção de dióxido de carbono variam com a taxa metabólica que depende do nível de atividade do animal. Quando os animais se exercitam, seus músculos necessitam de mais oxigênio, o que leva a um aumento no seu consumo. Espécies mais aeróbicas, tais como cães e cavalos, tem o consumo de oxigênio máximo por quilograma mais elevado (CUNNINGHAN, 2005a).

As exigências de troca gasosa variam com o metabolismo e podem aumentar em até 30 vezes durante o exercício extenuante. Surpreendentemente, essas variações são normalmente acompanhadas de somente um pequeno custo energético. O custo energético da respiração aumenta em animais com doenças respiratórias, que levam a uma diminuição na quantidade de energia disponível para o exercício ou para ganho de peso. O proprietário então observa o mau desempenho do animal. O sistema respiratório é importante também na termorregulação; no metabolismo de substâncias endógenas; e na proteção do animal contra poeiras, gases tóxicos e agentes infecciosos inalados (CUNNINGHAN, 2005a).

O ar flui para os alvéolos através das narinas, da cavidade nasal, da faringe, da laringe, traquéia, brônquios e bronquíolos. Essas estruturas são chamadas de vias condutoras, pois as trocas gasosas não ocorrem nessas vias, sendo também conhecida como espaço morto anatômico. A ventilação do espaço morto também pode ocorrer dentro do alvéolo. Este espaço morto alveolar é causado pela ventilação dos alvéolos que são pouco perfundidos com sangue, tanto que as forças gasosas não podem ocorrer completamente (CUNNINGHAN, 2005a).

A ventilação é o movimento de gás para dentro e fora do pulmão, e é realizado pelos processos de inspiração e expiração. Na maioria das espécies em repouso a inspiração é um processo ativo, enquanto que a expiração é um processo passivo. Os cavalos são uma exceção dessa regra geral e apresenta uma fase ativa para expiração mesmo em repouso. Os músculos intercostais externos, internos, músculos abdominais e o diafragma também participam desse processo (CUNNINGHAN, 2005b).

As pressões pulmonares são muito maiores do que as pressões sistêmicas. As pressões arteriais pulmonares sistólica, diastólica e média são aproximadamente 25, 10 e 15mmHg respectivamente em mamíferos ao nível do mar. A pressão venosa pulmonar (5mmHg) é levemente maior do que a pressão atrial esquerda (3 a 4mmHg). A pequena diferença entre as pressões na artéria pulmonar e no átrio esquerdo indica que a circulação pulmonar oferece pouca resistência vascular ao fluxo sanguíneo (CUNNINGHAN, 2005b).

A pressão transmural é definida como a diferença de pressão entre o lado interno e o externo do vaso. Quando os vasos sanguíneos pulmonares contêm um volume de sangue, por exemplo, durante o exercício, a pressão dentro dos vasos aumenta. Isto leva a um aumento na pressão transmural, que faz com que os vasos se dilatam (CUNNINGHAN, 2005b).

Para transportar o oxigênio extra-requerido para o esforço muscular, o débito cardíaco aumenta de 6 a 8 vezes durante o exercício extenuante. Este aumento no fluxo sanguíneo deve passar através da circulação pulmonar, da qual capta oxigênio. Para acomodar o aumento do fluxo sanguíneo durante o exercício, os vasos sanguíneos pulmonares dilatam-se, isto é, a resistência vascular pulmonar diminui. Essa dilatação é em parte passiva como resultado do aumento da pressão intravascular, que resulta do aumento do fluxo sanguíneo. Além disso, a liberação de óxido nítrico do endotélio induzida pelo fluxo também causa relaxamento do músculo liso e dilatação do vaso (CUNNINGHAN, 2005b).

Na maioria das espécies, a pressão arterial pulmonar durante o exercício é cerca de 35mmHg, mas no cavalo ela aumenta para valores acima de 90mmHg. O aumento adicional é atribuído em grande parte a uma pressão atrial esquerda muito alta (50mmHg), que é provavelmente necessária para o rápido enchimento ventricular esquerdo quando a frequência cardíaca excede 200 batimentos por minuto. Estas altas pressões intravasculares associadas ao exercício causam um extravasamento de eritrócitos dos capilares pulmonares quando cavalos submetidos a exercício extenuante, conhecido como hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) (CUNNINGHAN, 2005b).

A troca de oxigênio e dióxido de carbono entre os alvéolos e o sangue capilar pulmonar ocorre por difusão. A área de superfície alveolar é aquela ocupada pelos capilares perfundidos. Durante o exercício, mais capilares tornam-se perfundidos pelo sangue, então a área de superfície disponível para difusão aumenta. No pulmão a barreira que separa o ar e o sangue é menor que 1µm de espessura. Além do movimento de gases através dessa barreira ar-sangue, a difusão também move gases no plasma, permitindo que o oxigênio tenha acesso ao eritrócito e a hemoglobina (CUNNINGHAN, 2005c).

Durante o exercício intenso, os músculos extraem uma grande parte do oxigênio do sangue, e assim o sangue venoso que retorna aos pulmões contém oxigênio. Além disso durante o exercício, o débito cardíaco é alto e a velocidade do fluxo sanguíneo através dos capilares é rápida. Mais oxigênio deve, portanto, ser transferido em menos tempo do que quando o animal está em repouso. Nessas condições extenuantes, o equilíbrio na difusão pode não ocorrer levando a hipóxia (DAVIDSON et al., 2011).

No pulmão doente, a difusão de oxigênio pode ser impedida como resultado da inflamação e do edema, que podem tornar mais espessa a barreira ar-sangue ou reduzir a área de superfície disponível para a troca gasosa (DAVIDSON et al., 2011).

Quando o sangue passa através dos capilares, ele é exposto aos tecidos que estão consumindo oxigênio e produzindo dióxido de carbono. Como resultado da diferença de pressão parcial entre os tecidos e capilares, o oxigênio difunde-se até os tecidos e o dióxido de carbono difunde-se até o sangue, até que as pressões parciais do sangue e dos tecidos sejam iguais (DAVIDSON et al., 2011).

### 3.3- Distúrbios respiratórios em cavalos atletas:

As doenças respiratórias foram identificadas como uma das principais causas de interrupção no treinamento e competições de cavalos de corrida puro-sangue (WILSHER et al., 2006).

Em um estudo foram analisados 146 cavalos puro sangue de corrida e destes 85 (58,21%) apresentavam distúrbios respiratórios via endoscopia. Encontrou-se respectivamente: deslocamento dorsal do palato mole (45,89%), hiperplasia linfóide faríngea (13,69%), hemiplegia laringea esquerda (9,58%), condrite aritenóidea (3,42%), assimetria de movimentos das cartilagens aritenóides (2,05%), empiema das bolsas gútrais (2,05%), aprisionamento da epiglote (0,68%) e epiglótites (0,68%) (SEMECO et al., 2011).

Outro trabalho desenvolvido na cidade de Garanhuns- PE com cavalos de vaquejada pós prova, constatou que dos 103 animais avaliados via endoscopia 66 (64,08%) apresentavam alterações no trato respiratório. Sendo as afecções encontradas a hiperplasia folicular linfóide (13,59%), encarceramento epiglótico (0,97%), neuropatia laringea recorrente (20,39%), hemorragia pulmonar induzida por esforço (24,27%) (ALMEIDA NETO, 2009).

Outras enfermidades podem ser diagnosticadas via exame endoscópico, ou lavado traqueal e broncoalveolar como a doença inflamatória das vias aéreas (DIA) e hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE).

Doença inflamatória das vias aéreas (DIA) e hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) são dois problemas comuns que afetam as vias aéreas inferiores de cavalos de corrida incorrendo em mau desempenho e queda de performance. A sua prevalência na população de cavalos puro-sangue é de 13,8% para DIA (WOOD et al., 2005a.) e 43,8-75,4% para HPIE (PASCOE et al., 1981;. RAPHAEL E SOMA, 1982;

NEWTON E WOOD, 2002), dependendo da população e o método de diagnóstico escolhido.

Doença inflamatória das vias aéreas (DIA) está associada a um baixo desempenho e acúmulo de muco e células inflamatórias nas vias aéreas. Cavalos com DIA frequentemente têm contagem relativa de neutrófilos aumentada no lavado broncoalveolar (LBA), menos comumente contagem relativa de eosinófilos e / ou mastócitos pode ser aumentada. A etiopatogenia da DIA é desconhecida e pode envolver fatores individuais e / ou respostas imunes adquiridas a vários fatores, incluindo os componentes respiráveis como poeira, micro-organismos, gases nocivos e ar-condicionado (KRISTOPHER et al., 2011).

A prevalência de DIA em cavalos de corrida tem sido relatada como sendo entre 11,2% e 50% (MCNAMARA et al., 1990; BURRELL et al., 1996; WOOD et al., 2005) sendo esta afecção uma condição prejudicial ao desempenho atlético (COUETIL et al., 2001; SANCHEZ et al., 2005) e uma importante causa de perdas na indústria equina (BAILEY et al., 1999). O diagnóstico é normalmente obtido por exame endoscópico da traquéia observando-se aumento na produção de muco, produção de pus e exame citológico partir da lavagem traqueal ou lavado broncoalveolar (LBA) do trato respiratório inferior (MOORE et al., 1996; COUËTIL et al., 2007).

Em estudo recente observou-se que dos 55 animais analisados 10 apresentavam HPIE e 22 DIA. Dos 10 animais que apresentaram HPIE 7 eram de baixa performance e 3 de performance intermediária (RICHARD et al., 2010a).

A hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) é uma síndrome prevalente em cavalos com episódios repetidos de hemoptise após exercício extenuante. (RAPHAEL e SOMA et al., 1982; ROBERTS et al., 1993). Apesar de sua alta prevalência (43.8 – 75.4%), segundo Pascoe et al., 1981; Raphael and Soma, 1982; Newton and Wood, 2002 pouco se sabe sobre os fatores predisponentes para HPIE. Parte da dificuldade em definir sua patofisiologia e tratamento é a falta de precisão dos métodos de diagnóstico.

### 3.4- Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço:

#### 3.4.1- Conceito e Etiologia:

Hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) é uma condição que ocorre frequentemente em cavalos durante o exercício máximo e é caracterizada por sangramento da vasculatura pulmonar (ERICKSON, 1994). Outros autores definem

HPIE como a presença de sangue na árvore traqueobrônquica resultante de capilares alveolares (SWEENEY e BEECH, 1991). Cook (1974) propuseram que este sangue é originado no pulmão. No entanto, sua hipótese não foi comprovada até que as vias respiratórias foram avaliadas através de endoscopia de fibra óptica e HPIE foi caracterizada pela presença de sangue de origem pulmonar pós-exercício, localizada nas vias aéreas traqueobrônquicas. (ARAYA et al., 2005).

Esta afecção é uma das principais causas de redução no desempenho atlético de cavalos de corrida e é frequentemente observada em cavalos puro sangue inglês (PSI), quarto de milha (QM) e american trotter (AT). Além disso, há evidências de que há incidência de HPIE em cavalos QM utilizados para provas rurais, tais como baliza e tambor, tem aumentado (BACCARIN 2005; BIRKS et al., 2003).

HPIE é uma doença de alta morbidade e baixa de mortalidade, afetando cavalos que sofrem exercício intenso. Ela também afeta outras espécies como camelos (AKBAR et al., 1994) e cães de corrida (KING et al., 1990). A condição é de etiologia desconhecida e, embora diferentes teorias têm sido propostas sobre patogênese, a opinião predominante é que as pressões vasculares altas pode induzir falha relacionada ao estresse dos capilares pulmonares, produzindo hemorragia e edema na região de troca gasosa dos pulmões (WEST et al., 1991; WEST et al., 1993; BIRKS et al., 1997; ERICKSON et al., 1997). Presença de sangue intrapulmonar induz uma resposta inflamatória com predominância de macrófagos, espessamento septal e desenvolvimento de fibrose alveolar (MCKANE E SLO-COMBE, 2002). Essas alterações são a causa provável da fibrose alveolar e bronquiolite que já foi suspeito de ser a causa originária de HPIE (ARAYA, 2005).

Atualmente se propõem várias hipóteses: 1) Inflamação crônica das vias aéreas no qual resulta em neovascularização bronquial (O'CALLAGHAN et al., 1987a,b,c). A neovascularização bronquial pode causar uma debilidade estrutural dos vasos alteração do fluxo sanguíneo. 2) Ruptura induzida por estresse dos capilares pulmonares (COYNE et al., 1990; MCCLAY et al., 1992; PASCOE et al., 1985). 3) Disfunção das plaquetas predispondo a hemorragia (JOHNSTONE et al., 1991). 4) Trauma mecânico do tecido pulmonar resultante da pressão das vísceras no momento do galope (SCHROTER et al., 1998).

Fator ativador de plaquetas (PAF, 1-O-alkil-2-acetil-sn-glicero-3-fosforilcolina) é um mediador pró-inflamatório potente, que está envolvido na angiogênese e podem afetar a função pulmonar, incluindo a via aérea e tônus vascular

ciliar, frequência de batimento e permeabilidade endotelial (GABRIJELCIC et al., 2004; GÖGGEL E UHLIG, 2005). PAF também podem estar envolvidos na obstrução recorrente das vias aéreas equina (FAIRBAIRN et al., 1996) e da inflamação pulmonar em cavalos jovens puro-sangue durante o treinamento favorecendo ao aparecimento da HPIE (MICHELOTTO et al., 2010). De acordo com Doucet e Viel, 2002, a hemorragia ocorre pela incapacidade do pulmão em reparar de forma adequada as regiões lesionadas e ao aumento do risco de doenças das vias aéreas caudais pelo avançar da idade.

McKane e Slocombe, 2002, propuseram que as doenças infecciosas do pulmão são fundamentais para a presença da HPIE, já que estas debilitam as paredes dos capilares alveolares, facilitando sua ruptura.

#### *3.4.2- Diagnóstico:*

O diagnóstico de HPIE é baseado em sinais clínicos e necropsia, mas o método mais comum na atualidade é a endoscopia das vias aéreas superiores sozinho ou combinado com uma lavagem traqueal (BIRKS et al., 2003) ou broncoalveolar e citologia desses lavados.

Cook, 1974 descreveu a epistaxe como primeiro sinal clínico em cavalos. Infelizmente, apenas a epistaxe tem uma baixa especificidade e uma baixa sensibilidade para a detecção de HPIE em cavalos. Pascoe (1981) definiu HPIE com base em observações endoscópicas de sangue nas vias aéreas após o esforço em cavalos de corrida, excluindo a possibilidade do sangue ser originado em outros locais e aspirada para traquéia, confirmando portanto sua origem pulmonar.

É provável que todos os cavalos de corrida apresentam algum grau de hemorragia pulmonar durante exercício intenso, mas apenas 1% apresentam epistaxe, 50% são positivos no exame endoscópico e 100% positivos na lavagem broncoalveolar. A patologia não é restrito a raças de corrida, há relatos em outras raças que realizam exercício de intensidade semelhante, como pólo, enduro (SWEENEY E BEECH, 1991). A prevalência de HPIE é de 87% para os cavalos trotadores e 95% para puro-sangue (Pascoe, 1991).

O uso da endoscopia das vias aéreas traqueobrônquicas permanece o método mais aceito de detectar HPIE dentro de 30-90 minutos após o exercício utilizando um endoscópio de fibra de 8 milímetros introduzido através de uma das narinas até chegar a carina traqueal (ARAYA et al, 2005). A presença de sangue foi classificada da seguinte forma: Grau 0 - sem presença de sangue observado; Grau 1 - presente no sangue no

nível da carina; Grau 2 - presença de sangue no nível da carina e traquéia; Grau 3 - presente no sangue no nível da carena, traqueia e na laringe; Grau 4 - presente no sangue no nível da carina, da traquéia, da laringe e narinas. Porém, ainda é difícil determinar um verdadeiro-positivo (DOUCET e VIEL, 2002).

Ao observar via endoscopia cavalos em repouso Doucet e Viel, 2002 verificaram que as alterações encontradas não poderiam ser atribuídas à HPIE. Hiperplasia folicular linfóide, hiperemia das vias aéreas, e descarga de muco podem ser secundária a processos inflamatórios das vias aéreas persistentes, causadas possivelmente por más condições ambientais e exposição frequente a vírus respiratórios nas pistas de corrida.

Na tentativa de excluir ao máximo a ocorrência de falso-negativo há um aprimoramento das técnicas de citologia do lavado traqueal e broncoalveolar. O lavado broncoalveolar (LBA) é um método pelo qual se obtêm amostras (células, secreções e moléculas) provenientes das porções mais distais do trato respiratório por meio da infusão de fluido isotônico e imediata aspiração do mesmo (FERNANDES et al., 2000). Esse método permite obter amostras para estudo citológico, estudos de função ou de atividade celular, além de determinações bioquímicas, como, por exemplo, dosagens de imunoglobulinas, enzimas e surfactante (SWEENEY & BEECH, 1991).

As principais indicações para a execução de LBA são as doenças pulmonares difusas ou multifocais não infecciosas, tais como: doença pulmonar obstrutiva crônica, hemorragia pulmonar induzida pelo esforço e doença inflamatória das vias aéreas (MANSMANN & KING, 1998; HOFFMAN, 1999).

As amostras citológicas de LBA de um cavalo normal apresentam macrófagos de aparência uniforme com mínima vacuolização citoplasmática (MOORE, 1996), celularidade moderada e proporções iguais entre macrófagos alveolares e pequenos linfócitos. Pode existir um discreto “fundo” de muco. O número de células epiteliais e os tipos variam dependendo do ponto de aspiração. Ainda que muco e eosinófilos estejam ausentes, poucos neutrófilos podem estar presentes (FREEMAN & ROSZEL, 1997).

Os achados citológicos do lavado broncoalveolar revelaram que cavalos com HPIE tiveram uma porcentagem significativamente mais elevada de eosinófilos do que os cavalos de controle. Houve também uma tendência para cavalos com HPIE ter contagens de células epiteliais mais elevadas do que os cavalos de controle, embora esta diferença não foi significativa ( $p = 0,07$ ) (DOUCET E VIEL, 2002).



Infiltração eosinofílica tem sido relatada em preparações histológicas de lobos caudodorsal do pulmão de cavalos com HPIE (O' CALLLAGHAN et al., 1987b; GUNSON et al., 1988), embora nenhuma explicação para esses achados foi oferecida até hoje. Gunson et al., (1988), sugeriram que metaloproteinases produzidas por estes eosinófilos poderiam desempenhar um papel na degradação das fibras de colágeno, levando a danos dos vasos sanguíneos, mas esta suposição não tem sido verificado em cavalos. Indiretamente, eosinófilos podem ser um marcador de doença pulmonar alérgica subjacente, ou poderiam ser células inflamatórias secundárias migrando para os locais de sangramento e causar mais danos através de seus mediadores (DOUCET e VIEL, 2002).

Quantificação de HPIE com base na avaliação citológica de fluidos respiratórios continua a ser um grande desafio. Muito pouco se sabe se o segmento a ser examinado por lavagem é representativa de toda a região do pulmão que pode ter sangramento. Por outro lado, Newton e Wood (2002) propôs uma definição de "alternativa" citológico de HPIE. Cavalos em que se observa > 50% dos macrófagos hemossiderófagos no lavado traqueal foram classificados como HPIE positivo. Esses autores examinaram 1.614 cavalos e relataram uma prevalência de HPIE em 51% em comparação com apenas 4% quando se observa sangue traqueal durante o exame endoscópico. Da mesma forma, Doucet e Viel (2002) descobriram que uma graduação para a hemossiderina alveolar a ser significativamente maior em cavalos com uma história de HPIE, em relação ao controle cavalos, e ser fortemente associada com a presença de grandes quantidades de glóbulos vermelhos no LBA. Apesar desses achados, ainda não há um método clínico ou laboratorial "padrão ouro" para fornecer um meio preciso e reprodutível para quantificar a gravidade da HPIE. (RICHARD et al., 2010).

Doucet e Viel (2002) ao estudar grupos de cavalos sangradores e não sangradores sugeriram que exame radiográfico poderia ser utilizado como método diagnóstico para HPIE, mas em seu estudo verificou que houve uma considerável variabilidade inter individual nos escores radiográficos para ambos os grupos. As lesões visíveis nas áreas caudodorsal dos pulmões não se limitaram aos cavalos HPIE e que as lesões radiológicas mais comumente observados para ambos os grupos foram espessamento brônquico, lesões generalizadas e focalizadas no interstício pulmonar. Como não houve diferença significativa entre os escores radiográficos para ambos os grupos, o exame radiográfico não é o exame de escolha para diagnóstico dessa enfermidade.

Neste mesmo trabalho de Doucet e Viel, confirmaram que os achados clínicos e principalmente percussão pulmonar são importantes no diagnóstico da HPIE. A ausculta não é um meio útil para a detecção de cavalos com HPIE (O' CALLAGHAN et al., 1987c; PASCOE, 1985). No entanto, 50% dos cavalos neste grupo tiveram resultados anormais de percussão nas regiões caudodorsal do tórax, em comparação com apenas 1 cavalo no grupo controle, sugerindo que a percussão do tórax pode ser um diagnóstico útil.

Estudos anteriores notaram que a incidência da HPIE aumenta com a idade (PASCOE et al., 1981; RAPHAEL and SOMA, 1982; HILLIDGE et al., 1984; HILLIDGE et al., 1985; LAPOINTE et al., 1993; SWEENY e SOMA, 1983; SPEIRS et al., 1982), enquanto outros não conseguiram demonstrar tal relação (LAPOINTE et al., 1993; SPEIRS et al., 1982). Os cavalos do grupo HPIE pode ter desenvolvido essa condição devido à incapacidade do pulmão em reparar adequadamente regiões danificadas por corridas e treinamento contínuo, exposição crônica à má condição ambiental condições na pista de corrida, aumentando o risco de doenças das vias aéreas com o aumento da idade.

Quanto aos achados hematológicos afirmaram que a contagem de plaquetas foi maior no grupo controle em relação ao grupo positivo a HPIE. Johnstone et al. (1991) também relataram uma ligeira diminuição no número de plaquetas em cavalos com HPIE em comparação com cavalos do grupo controle, embora a diferença não foi significativa. Seus resultados indicaram claramente que a fibrinólise e o consumo de plaquetas em áreas danificadas dos pulmões era a razão mais provável para este predisposição ao sangramento.

Na biópsia pulmonar foram observadas as seguintes alterações hiperplasia celular, a hipertrofia do músculo liso, e infiltração de células inflamatórias que tendem a ser maiores no grupo HPIE, porém estes achados não foram significativos. (DOUCET e VIEL, 2002).

#### *3.4.3- Interpretação dos Achados Citológicos:*

Um estudo realizado em 121 cavalos PSI, avaliados no período de 60 minutos após a corrida através de endoscopia e citologia do lavado traqueal, demonstrou uma incidência de HPIE de 76,9%, mesmo não tendo ocorrido epistaxe em nenhum dos cavalos estudados. Encontrou-se também que a condição da pista de areia influenciou a incidência da HPIE, sendo que na pista seca houve 82,2% de hemorragia, enquanto que houve 75% na pista úmida e 60% na pista molhada. O autor creditou a maior incidência

de HPIE em cavalos que correram na pista seca, à maior velocidade desenvolvida pelos cavalos neste tipo de pista. Na avaliação citológica dos lavados traqueais detectou-se hemossideróforos presentes em 64,4% dos cavalos avaliados. Não houve uma relação entre o aparecimento de hemossideróforos nos lavados traqueais e a colocação obtida nas corridas, contudo, com relação à observação de sangue, 65,5% dos cavalos considerados perdedores apresentaram algum grau de sangue na traquéia, enquanto que este valor foi de 34,4% para os cavalos ganhadores (EPPINGER, 1990).

Os hemossideróforos, considerados um achado importante para o diagnóstico da HPIE, foram demonstrados em secreções traqueais e lavados broncoalveolares (LBA) de cavalos portadores, mas também em cavalos sem história prévia e exame clínico indicativos de HPIE (DOUCET e VIEL, 2002).

Em outro estudo, a utilização da citologia do LBA para avaliar 62 cavalos PSI de corrida em treinamento, evidenciou que 73% dos cavalos examinados apresentavam eritrócitos livres, enquanto que 90% deles apresentavam hemossideróforos. Assim, os autores concluíram que a avaliação pela citologia do LBA identificou uma prevalência maior de HPIE que a avaliação endoscópica simplesmente (MCKANE et al., 1993).

A quantidade de eritrócitos no LBA (EPP et al., 2006; GEOR et al., 2001; KINDIG et al., 2001; MEYER et al., 1998), a exemplo da observação de hemossideróforos, também pode ser utilizada para a identificação e avaliação da HPIE. Demonstrou-se que, em relação aos cavalos controle, os cavalos com HPIE apresentaram quantidades maiores de eritrócitos imediatamente após o exercício, sendo que as avaliações citológicas voltaram ao normal após uma semana. Quanto à observação dos hemossideróforos, demonstraram que a presença destes aumentou no LBA uma semana após o exercício, permanecendo em número elevado pelo período de três semanas (MEYER et al., 1998).

A presença de hemossideróforos nas amostras de LBA, portanto, pode ser considerada a forma mais sensível para se avaliar a severidade da HPIE (SANCHEZ et al., 2005).

Outra maneira de realizar a avaliação dos hemossideróforos no LBA é através da gradação de hemossiderina, utilizando-se a coloração Azul da Prússia, sendo mais sensível na identificação da HPIE em relação a repetidas avaliações endoscópicas (BIAVA et al., 2006; DOUCET e VIEL, 2002). Contudo, o fato dos eritrócitos terem que ser degradados a hemoglobina e ferritina antes da hemossiderina ser formada, deve-

se ter o cuidado na avaliação das amostras, já que o tempo da colheita após a hemorragia pode influenciar no resultado.

Os efeitos da HPIE sobre o rendimento desportivo têm sido estudados, bem como as maneiras de identificar alterações importantes da hemorragia nas vias aéreas dos cavalos. Alterações pulmonares identificadas são a hiperplasia e hipertrofia de célula epitelial alveolar, com fibrose intersticial. Contudo, estas alterações não foram observadas após uma instilação de sangue nas vias aéreas (DERKSEN et al., 2007).

Assim, o prognóstico para um cavalo que apresenta HPIE pode ser dado pela identificação de células inflamatórias no LBA (DOUCET e VIEL, 2002) sendo que a presença de células inflamatórias, juntamente com os hemossiderófagos, confere um prognóstico reservado ao caso (VIEL e HEWSON, 2003).

A observação de eosinofilia em cavalos com HPIE foi feita no LBA (VIEL e HEWSON, 2003) e no LT (HEGEDUS et al., 2007). A presença aumentada de neutrófilos, também foi evidenciada nos cavalos de corrida com HPIE em relação aos seus controles (HEGEDUS et al., 2007), mas a observação de finos cordões de muco, macrófagos espumosos e um alto grau de celularidade, onde podem predominar tanto os neutrófilos como os linfócitos, também constitui um achado citológico para cavalos com HPIE (LESSA et al., 2007). Desta forma, a presença de células inflamatórias nas vias aéreas de cavalos com HPIE indica a associação entre a HPIE e a DIVA.

#### *3.4.4- Efeitos do exercício nas Vias Aéreas*

Os lavados colhidos das vias aéreas podem ser utilizados para outros tipos de avaliações e estudos, com finalidade principalmente à pesquisa, mas com resultados igualmente importantes ao médico veterinário clínico de equinos. Assim, é possível estudar os efeitos do exercício sobre a função imune celular, através da avaliação da produção de espécies reativas do oxigênio e do nitrogênio, da capacidade fagocítica de macrófagos e neutrófilos bem como a atividade linfocitária.

Uma das primeiras informações a respeito da influência do exercício na capacidade fagocítica dos macrófagos alveolares foi publicada por Wong et al. (1990), demonstrando que o exercício intenso reduziu a fagocitose, comprometendo a capacidade antimicrobiana dos macrófagos alveolares, o que resultou num aumento da susceptibilidade a infecções respiratórias em cavalos atletas.

A diminuição da capacidade fagocítica dos macrófagos alveolares após um exercício intenso, também foi demonstrada por Raidal et al. (2000). Neste estudo, a explosão oxidativa dos macrófagos alveolares e dos linfócitos obtidos do LBA aumentou, sendo que os autores puderam demonstrar que o exercício intenso é capaz de influenciar a função das células do sistema imune pulmonar.

A capacidade fagocítica dos macrófagos alveolares também esteve reduzida no LBA de potros PSI de corrida jovens, 24 horas após um exercício intenso. A função microbicida dos macrófagos alveolares, demonstrada pela capacidade de produção de peróxido de hidrogênio, esteve 79% menor após o exercício em relação ao grupo controle (MICHELOTTO et al., 2007 2007c). Portanto, este estudo corrobora com os anteriores, de que o exercício intenso influencia a função das células do sistema imune pulmonar, ao mesmo tempo em que aumenta a susceptibilidade às infecções respiratórias.

Assim, ainda são muitas as possibilidades de avaliação das amostras obtidas das vias aéreas, tais como o estudo dos mediadores da inflamação pulmonar nos cavalos, na DIVA e na obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), e também sua relação com o exercício, a fim de que o melhor entendimento do processo inflamatório permita o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. Igualmente, ainda é preciso conhecer melhor a prevalência das doenças pulmonares inflamatórias nas diferentes populações de cavalos atletas, falando-se em diferentes raças, atividade esportiva e mesmo localidades. Portanto, é de suma importância que o clínico utilize, de forma rotineira, a obtenção de amostras das vias aéreas, por aspirado e/ou por lavados, na busca pelo diagnóstico mais apurado bem como para a avaliação dos tratamentos empregados.

#### *3.4.5- Tratamento:*

Furosemida é um diurético de alça que atinge seu efeito diurético, bloqueando a absorção de cloreto na alça de Henle (BROADSTONE et al., 1990). Os efeitos diretos são diurese e hipocloremia. A diurese ocorre dentro de 15 a 30 minutos após a administração intravenosa, e resulta em uma redução de 10% no volume de plasma, que é essencialmente restaurado 4 horas após a administração, a hipocloremia contribui para uma alcalose metabólica leve que persiste durante exercício e 4 horas após a administração da furosemida.

Os benefícios potenciais de uma redução no volume de plasma incluem a diminuição do peso corporal (da mesma magnitude que a perda de líquidos), e uma redução da pressão arterial (particularmente importante na microcirculação pulmonar)

(HINCHCLIFF et al., 1990). As desvantagens do volume plasmático reduzido são o aumento da viscosidade do sangue (o que pode reduzir o fluxo de sangue através de leitos capilares, e, conseqüentemente, alterar as trocas gasosas e a oxigenação dos tecidos), a e uma redução do retorno venoso para o coração, o que pode levar à redução da pressão de preenchimento cardíaco e comprometimento da função circulatória.

Furosemida também tem alguns efeitos "indiretos" no sistema cardiovascular que parece ser independente do seu efeito diurético. Furosemida, aparentemente, estimula a produção de um "prostanóide" (possivelmente PGE) pelos rins. Foi reportado o aumento da concentração de PGE<sub>2</sub> na veia renal após administração de furosemida, embora seja possível que a substância é um mediador que estimula a produção PGE em endotélio vascular em todo o corpo (BROADSTONE et al., 1990). Esta hipótese é apoiada pelo intervalo de tempo entre a administração de furosemida (e diurese) e o aparecimento de alterações vasculares. Mudanças na resistência vascular e pressão arterial durante o exercício são insignificantes em uma hora pós aplicação de furosemida intravenosa (ERICKSON, 1992). Postulou-se que a substância é uma prostaglandina (ou pelo menos um ácido araquidônico metabólito), porque os seus efeitos podem ser bloqueados por inibidores da ciclooxigenase (por exemplo, a gripe-nixin, fenilbutazona) (BROADSTONE et al., 1990).

Os efeitos "indiretos" de furosemida são de grande alcance:

(a) a vasodilatação - redução na resistência vascular, tanto em repouso e durante o exercício . Um estudo estimou que a furosemida reduziu a pressão capilar pulmonar de 14 mmHg (79-65 mmHg) durante exercício extenuante (MANOHAR et al., 1994). Acredita-se que isto pode reduzir o potencial para a tensão de ruptura dos capilares pulmonares. A furosemida pode reduzir o potencial de falha de tensão dos vasos bronquiais, bem como a redução da pressão através das anastomoses broncopulmonares. Apesar destas mudanças nas pressões sistêmicas e pulmonares, frequência cardíaca, consumo de oxigênio e do débito cardíaco durante o exercício não são afetados por furosemida administração, como é o fluxo de sangue para o respiratório e os músculos locomotores;

(b) broncodilatação em cavalos com obstrução recorrente das via aérea (ORVA), furosemida reduz a resistência das vias aéreas, a partir de 15 minutos após a administração intravenosa atingindo um máximo de 4-5 horas depois.

(c) "normaliza" a capacidade de resposta das plaquetas durante e imediatamente após o exercício. O aumento da resposta de plaquetas parece ser maior em cavalos com

uma história de epistaxe, embora o mecanismo não é ainda conhecido (BAYLY et al., 1983). Bayly et al. (1983) sugeriram que a furosemida pode inibir produção a PGI<sub>2</sub> através do aumento do AMP cíclico. Isto pode ter um benefício significativo em limitar a severidade da hemorragia durante ou imediatamente após um episódio de HPIE.

Em um estudo realizado por Sweeney et al. (1990) a furosemida aparentemente melhorou tempos de corrida, tanto em cavalos com evidência endoscópica de HPIE (sangue na traquéia após uma corrida), e em cavalos sem evidência endoscópica de HPIE. No entanto, a administração de furosemida 4 horas antes de uma corrida não conseguiu impedir hemorragia em 61,5% dos cavalos HPIE-positivo. Os autores concluíram que a furosemida pode melhorar o desempenho por meio de fatores não relacionados com hemorragia pulmonar.

#### Broncodilatadores

Os broncodilatadores mais aplicáveis clinicamente e amplamente utilizados são os beta-2 agonistas, como o clenbuterol, albuterol e terbutalina. Eles exercem os seus efeitos em receptores beta-2 no músculo liso, embora em doses mais elevadas receptores beta-1 pode também ser estimulados (O' CALLAGHAN et al., 1987), com um consequente aumento na taxa cardíaca, e o desenvolvimento de tremores do músculo esquelético e de excitação (HOFFMAN et al., 1991). Os efeitos broncodilatadores destes compostos foram bem demonstrados em humanos (HOFFMAN et al., 1991). E em cavalos com ORVA (BROADSTONE et al., 1990, RUBIE et al., 1993). No entanto, não houve alterações em vias aéreas seja em repouso ou durante o exercício (SLOCOMBE et al., 1992).

Há alguma evidência de que o beta-2 agonistas podem inibir a liberação de antígeno induzido de histamina, leucotrienos e outros mediadores inflamatórios; eles também podem melhorar a função mucociliar, reduzir a permeabilidade microvascular, e inibir a fosfolipase A<sub>2</sub> (HOFFMAN et al., 1991). Estas ações podem ser de alguma importância na doença inflamatória das vias aéreas. Se a doença das vias aéreas predis põe ou inicia HPIE, há alguma base racional para o uso de beta-2 agonistas em cavalos com HPIE.

#### Ácido Acetil Salicílico

A aspirina age evitando a formação de trombos diminuindo a ocorrência do aumento da pressão e consequente ruptura de vasos. A supressão da agregação plaquetária induzida pela aspirina pode ter implicações clínicas significativas em HPIE. Entretanto, também pode piorar a hemorragia durante um episódio de HPIE,

embora seja necessária mais informação sobre os efeitos da aspirina em cavalos com HPIE (DODAM et al., 1993).

#### Antifibrinolíticos

Drogas que impedem a desagregação dos depósitos de fibrina (antifibrinolíticos) têm sido utilizados numa tentativa de limitar ou impedir EIPH em cavalos. Essas drogas incluem o ácido aminocapróico (Amicar ®) e ácido tranexâmico (Cyklokapron ®, o medicamento é comercializado para uso veterinário na Austrália como Vasolamin S ®). Estes medicamentos são utilizados na medicina humana para controlar o sangramento durante e após a cirurgia cardíaca e, em certos distúrbios hemostáticos, incluindo a hemofilia, apesar da falta de estudos controlados que demonstrem suas indicações e eficácia. As drogas agem inibindo competitivamente a ativação do plasminogênio em plasmin, enzima que degrada coágulos de fibrina, fibrinogênio e outras proteínas pró-coagulante do plasma. Um dos efeitos colaterais destes compostos é a formação de trombo (DODAM et al., 1993).

Nos seres humanos, o exercício provoca um aumento na atividade fibrinolítica em exercícios pesados (BAYLY et al., 1983). No entanto, não há nenhuma evidência de que isto ocorre em cavalos, mesmo durante o exercício extenuante (JOHNSTONE et al., 1991). Uma vez que os cavalos têm uma propensão para desenvolver trombos há pouco a recomendar o uso dessas drogas nesta espécie.

Prevenir a dissolução normal coágulos de fibrina no pulmão pode levar à oclusão do vaso e a mudanças locais no fluxo sanguíneo, o que pode aumentar o fluxo (e pressão) nos capilares adjacentes, tornando-as mais propensas ao estresse. Por outro lado, a formação de coágulos de fibrina podem prevenir hemorragia a partir de um vaso danificado durante a sessão de exercício seguinte. Relatos afirmam que o uso dessas drogas podem reduzir de forma enganosa a incidência de epistaxe.

#### Soro Concentrado Equino (CSE)

Soro equino Concentrado (CES; Sera, Inc., Shawnee Mission, KS) é um agregado de soro biológico coletado de vários cavalos doadores que contêm altos níveis de imunoglobulinas, complemento, e outras proteínas séricas. O CES equinos derivados (um produto adquirido por via intravenosa e administrado por via intratraqueal) e um produto derivado de fração de soro caprino (CSF; administrada por via intramuscular; Colorado Serum Co., Denver, CO), demonstraram evidência para a redução da inflamação crônica associada com doença das vias aéreas inferiores (ie, IAD e EIPH)



através de imuno-modulação em estudos (12). Imunomodulação via imunoglobulina intravenosa tem sido usado com sucesso para tratar a asma e doenças inflamatórias sistêmicas em humanos (RABINOVITCH et al., 1999; MAZER e GELFAND, 1991; SHOHAM-KESSARY et al, 1998).

O novo achado do estudo é que o CES reduziu significativamente EIPH e inflamação após o exercício máximo em cavalos puro-sangue, após 4 semanas de tratamento. Isto foi evidenciado por uma redução de  $46 \pm 12\%$  na concentração de hemácias no LBA entre o pré-tratamento e as 4 semanas pós-tratamento. Em inflamação após exercício máximo também diminuiu  $24 \pm 11\%$ , tal como evidenciado pela concentração de leucócitos no LBA. Em comparação, EIPH aumentado significativamente por  $245 \pm 113\%$ , ao passo que nenhuma alteração foi demonstrada na concentração de leucócitos no LBA para cavalos sob condições placebo (EPP et al, 2009).

#### Pentoxifilina

É proposto que existe uma correlação entre a fisiopatologia da HPIE e a hiperviscosidade do sangue, por tal motivo uma das alternativas ao tratamento é a pentoxifilina, um inibido da fosfodiesterase, que aumenta a deformidade dos glóbulos vermelhos e diminui a viscosidade do sangue, tendo portanto potencial para reduzir a severidade da hemorragia pulmonar induzida por esforço.

A pentoxifilina pertence a classe da metilxantina e é um derivado da teobromina (GEOR e WEISS, 1993; MARKS et al., 2001). Estudos em humanos e animais tem demonstrado que esta droga possui propriedades hemorreológicas, antiinflamatórias, imunomoduladoras e broncodilatadoras (LÉGUILLETTE et al., 2002; MARKS et al, 2001). O mecanismo de ação da pentoxifilina parece estar relacionado a inibição da enzima fosfodiesterase, que traz como consequência um aumento nos níveis de monofosfato de adenosina cíclico (cAMP) nas células (BARTON, 1995).

A farmacocinética da pentoxifilina no equino tem sido pouco estudada, porém um estudo sugere que a biodisponibilidade da pentoxifilina depois da administração oral é mais baixa nos equinos quando comparada com humanos e outros animais. Além disso, os principais metabólitos urinários foram diferentes dos encontrados em humanos (KWONG et al., 1989).

Tem se proposto que a biodisponibilidade relativa da pentoxifilina administrada via oral é mais alta que quando administrada via intravenosa. Como a HPIE é caracterizada por uma ruptura induzida por estresse dos capilares pulmonares em

conseqüência de aumento da pressão vascular pulmonar, o aumento da viscosidade sanguínea, promovido pela pentoxifilina, seria uma alternativa ao tratamento da hpie reduzindo sua ocorrência (SEMECO et al., 2011).

A pentoxifilina exerce seu efeito terapêutico no sangue circulante ao aumentar a flexibilidade da membrana do eritrócito, o qual confere uma melhora na deformidade do glóbulo vermelho (AMBRUS et al., 1990). Um estudo realizado em equinos sugere que a pentoxifilina pode ser benéfica para o fluxo sanguíneo microvascular. O tratamento com pentoxifilina não resultou em mudança da viscosidade do sangue em repouso, mas atenuou marcadamente o aumento da viscosidade do sangue após a contração esplênica induzida por epinefrina (GEOR et al., 1992). Em equinos observou-se que a deformidade dos eritrócitos se inicia 3 dias depois do início do tratamento com pentoxifilina e se mantém por 3 dias depois que se retira a droga (GEOR e WEISS, 1993).

O tratamento com pentoxifilina numa dose de 8,5mg/kg, via intravenosa, 15 minutos pré-exercício, não afetou a incidência da HPIE em puro sangue de corrida (MANOHAR et al., 2000). Tem se sugerido que a administração conjunta de pentoxifilina (8,5mg/Kg IV, 15 minutos pré-exercício) e furosemida (250mg/ IV, e horas pré-exercício) provavelmente não ofereça benefícios adicionais aos equinos que tem HPIE, e que a pentoxifilina não é eficiente em modificar os efeitos hemodinâmicos da furosemida a nível pulmonar durante o exercício (MANOHAR et al., 2001).

Segundo Semeco et al., 2011, após a administração da pentoxifilina observou-se que 40% dos animais não apresentaram HPIE e que 100% dos animais em que a droga não foi administrada observou-se a ocorrência de HPIE, sendo o tratamento eficaz.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKBAR, S.; DERKSE, F.; BILLAH, A.; Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing camels. **Veterinary Record** 135, 624– 625. 1994.

ALMEIDA NETO, J.B. Avaliação endoscópica do trato respiratório superior e inferior proximal em cavalos de vaquejada. **Tese de doutorado**. 2009.

AMBRUS, J.L.; ANAIN, D.M.; STADLER, S.; COBERT, B.L. SAVITSKY, J.P. Dose-response effects of pentoxifylline on erythrocyte filterability: Clinical and animal model studies. **Clin Pharmacol. Therap.** 48: 50-56. 1990. **Applied Physiology** 82, 1584–1592.

ARAYA, O.; PALMA, P.; SALVI, M.; BUSTAMANTE, H.; VITS, L. Endoscopic determination of exercise-induced pulmonary haemorrhage in Chilean Criollo horses. **The Veterinary Journal** 169 (2005) 311–313.

BACCARIN, R.Y.A. Diagnóstico e tratamento de pneumopatias de esforço. **Anais do II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta – IV Semana do Cavalo**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2005. P 12-28.

BAILEY, C.J.; REID, S.W.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J. Impact of injuries and disease on a cohort of two- and three-year-old thoroughbreds in training. **Vet. Rec.** 145, 487–493. 1999.

BARTON, M.H. Treatment of equine endotoxemia. **Proc. Am. Assoc. Equine Pract.** 41: 112-116. 1995.

BAYLY, W.M.; MEYERS, K.M.; KECK, M.T.; HUSTON, L.J.; GRANT, B.D. Effects of furosemide on exercise-induced alterations in haemostasis in Thoroughbred horses exhibiting post-exercise epistaxis. In: Snow DH, Persson SGB, Rose RJ (eds). **Equine Exercise Physiology**. 1st Proceedings ICEEP. Cambridge, UK: Granta Editions, 1983;64-70.

BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; DORNBUSCH, P.T.; MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; BIONDO, A.W.; CASSOU, F.; ZANOTTO, G.M.; TELLES, J.E.Q. Clinical and cytologic evaluation of respiratory tract from quarter horses following exercise. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p.60-65, 2006.

BIRKS, E.K.; DURANDO, M.M.; McBRIDE, S. Exercise- induced pulmonary hemorrhage. **Veterinary Clinics of North America: Equine Practice**, v.19, p. 87-100, 2003.

- BIRKS, K.C., MATHIEU-COSTELLO, O., Fu, Z., Tyler, W.S., West, J.W., 1997. Very high pressures are required to cause stress failure of pulmonary capillaries in Thoroughbred racehorses. **Journal of Veterinary**
- BROADSTONE, R.V.; DERKSEN, F.J.; ROBINSON, N.E. Pulmonary effects of furosemide. Proceedings. **Am Assoc Equine Pract.** 1990;36:189-191.
- BURREL, M.H.; WOOD, J.L.; WHITWELL, K.E.; CHANTER, N.; MACKINTOS, M.E.; MUMFORD, J.A. Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationships between disease and viruses, bacteria and environment. **Vet. Rec.** 139, 308–313. 1996.
- CÂMARA, C.L. **Vaqueiros e cantadores**. Rio de Janeiro: Ediouro, 392p. 2000.
- COOK WR. Epistaxis in the race horse. **Equine Vet J** 1974;6:45– 58.
- COUËTIL, L.L.; HOFFMAN, A.M.; HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 356-361, 2007.
- COUËTIL, L.L.; ROSENTHAL, F.S.; DeNICOLA, D.B.; CHICOLAT, C.D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. **Am. J. Vet. Res.** 62, 538–546. 2001.
- COYNE, C.P.; CARLSON, G.P.; SPENSLEY, M.S.; SMITH, J. Preliminary investigation of alterations in blood viscosity, cellular composition, and electrophoresis plasma protein fraction profile after competitive racing activity in thoroughbred horses. **Am J. Vet. Res.** 51: 1956-1963. 1990.
- CUNNINGHAMa, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, 2005, Caps 44.
- CUNNINGHAMb, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, 2005, Caps 45.
- CUNNINGHAMc, J.G. **Tratado de Fisiologia Veterinária**. Editora Guanabara Koogan, 2005, Caps 46.
- DAVIDSON, E.J.; HARRISa, M.; MARTIN, B.B.; NOLEN-WALTON, R.; BOSTON, R.C.; REEF, V. Exercising Blood Gas Analysis, Dynamic Upper Respiratory Tract Obstruction, and Postexercising Bronchoalveolar Lavage CytologydA Comparative Study in Poor Performing Horses. **Journal of Equine Veterinary Science** 31 (2011) 475-480.

- DERKSEN, F.J.; WILLIAMS, K.J.; UHAL, B.D.; SLOCOMBE, R.F.; FEIJTER-RUPP, H.; EBERHART, S.; BERNEY, C.; ROBINSON, N.E. Pulmonary response to airway instillation of autologous blood in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 4, p. 334-339, 2007.
- DODAM, J.R.; MOON, R.E.; OLSON, N.C.; EXPOSITO, A.J.; FAWCETT, T.A.; HUANG, Y.C.; THEIL, D.R.; CAMPORESI, E.; SWANSON, C.R. Effects of clenbuterol hydrochloride on pulmonary gas exchange and hemodynamics in anesthetized horses. (Abstr.) **Am J Vet Res** 1993;54:776-782.
- DOUCET, M.Y.; VIEL, L. Alveolar Macrophage Graded Hemosiderin Score from Bronchoalveolar Lavage in Horses with Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage and Controls. **J Vet Intern Med.** 2002; 16:281-286.
- EPP, T. S.; McDONOUGH, P.; MYERS, D. E.; CARLIN, D. J.; BEHNKE, B.J.; KINDIG, C.A.; POOLE, D.C.; Erickson, H.H. The Effectiveness of Immunotherapy in Treating Exercise-Induced Pulmonary Hemorrhage. **Journal of Equine Veterinary Science** Vol 29, No 6 (2009).
- EPP, T.S.; McDONOUGH, P.; PADILLA, D.J.; GENTILE, J.M.; EDWARDS, K.L.; ERICKSON, H.H.; POOLE, D.C. Exercise-induced pulmonary haemorrhage during submaximal exercise. **Equine Veterinary Journal Suppl.** v. 36, p. 502-507, 2006.
- EPPINGER, M. Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de equinos PSI (*Equus caballus*) em corridas de galope no Jockey Club do Paraná. Curitiba, 1990. **Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)**, Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná.
- ERICKSON, B.K.; ERICKSON, H.H.; COFFMAN, J.R. Pulmonary artery and aortic pressure changes during high intensity treadmill exercise in the horse: effect of frusemide and phentolamine. **Eq Vet J** 1992;24:215-219.
- ERICKSON, H.H. Exercise-induced pulmonary haemorrhage. **Equine Veterinary Journal** 18, 476-478. 1994.
- ERICKSON, H.H.; McAVOY, J.L.; WESTFALL, J.A. Exercise induced changes in the lung of Shetland ponies: ultrastructure and morphometry. **Journal of Submicroscopic Cytology and Pathology** 29, 1-6. 1997.
- ESALQ, 2006. Estudo do Complexo Agronegócio do cavalo. Disponível em [http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/cavalo\\_completo.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/pdf/cavalo_completo.pdf) em 22/09/2016.
- FAINE S., ADLER B., BOLIN C. & PEROLAT P. 2000. Leptospira and Leptospirosis. 2nd ed. MedSci, Melbourne. 272p.

- FAIRBAIRN, S.M.; MARR, K.A.; LEES, P.; CUNNINGHAM, F.M.; PAGE, C.P. Effects of platelet activating factor on the distribution of radiolabelled leucocytes and platelets in normal horses and asymptomatic horses with chronic obstructive pulmonary disease. **Research in Veterinary Science** 61, 107–113. 1996.
- FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de Rosenfeld. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 52, n. 6, p. 604-609, 2000.
- GABRIJELCIC, J.; CASAS, A.; RABINOVICH, R.A.; ROCA, J.; BARBERA, J.A.; CHUNG, K.F.; RODRIGUEZ-RODIN, R. Formoterol protects against platelet-activating factor-induced effects in asthma. **European Respiratory Journal** 23, 71–75. 2004.
- GEOR, R.J. WEISS, D.J.; BURRIS, S.M.; SMITH, C.M. Effects of furosemide and pentoxifylline on blood flow properties in horses. **Am. J. Vet. Res.** 53: 2043-2049. 1992.
- GEOR, R.J.; OMMUNDSON, L.; FENTON, G.; PAGAN, J.D. Effects of an external nasal strip and furosemide on pulmonary haemorrhage in thoroughbreds following high-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 6, p. 577-584, 2001.
- GEOR, R.J.; WEISS, D.J. Drugs affecting the hematologic system of the performance horse. **Vet. Clin. North. Am. Equine. Pract.** 9: 649-667. 1993.
- GOGGEL, R.; UHLIG, S. The inositol trisphosphate pathway mediates plateletactivating- factor-induced pulmonary oedema. **European Respiratory Journal** 25, 2005.
- GUNSON, D.E.; SWEENEY, C.R.; SOMA, L.R. Sudden death attributable to exercise-induced pulmonary hemorrhage in racehorses: nine cases (1981–1983). **J Am Vet Med Assoc** 1988;193:102–106.
- HEGEDÜS, R.M.; MICHIMA, L.E.S.; SOUZA, V .R.C.; DUTRA, G.H.P .; FERNANDES, W.R.; COELHO, C.S. Evaluation of tracheal wash of horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage with furosemide. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.2, p. 527-529, 2007.
- HILLIDGE, C.J.; LANE, T.J.; JOHNSON, E.L.. Preliminary investigations of exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing quarter horses. **J Equine Vet Sci** 1984;4:21–23.

- HILLIDGE, C.J.; LANE, T.J.; WHITLOCK, T.W. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in the racing Appaloosa horse. **J Equine Vet Sci** 1985;5:351–353.
- HINCHCLIFF, K.W.; McKEEVER, K.H.; MUIR, W.W. Extrarenal effects of furosemide. Proceedings. **Am Assoc Equine Pract.** 1990;36:193-197.
- HOFFMAN, A.M. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. **Equine Veterinary Education**, v.11, n.6, p.330-336, 1999.
- HOFFMAN, B.B.; LEFKOWITZ, R.J. Catecholamines and sympathomimetic drugs. In: Goodman Gillman A, Rail TW, Nies AS, Taylor P (eds). **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. NY: Pergamon Press Inc, 1991;187-220.
- JEFFCOTT, L.B., ROSSDALE, P.D., FREESTONE, J., FRANK, C.J. AND TOWERS-CLARK, P.F. An assessment of wastage in Thoroughbred racing from conception to 4 years of age. **Equine Veterinary Journal**. v 14, p 185-198. 1982.
- JOHNSTON, I.B.; VIEL, L.; CRANE, S.; WHITIN, T. Hemostatic studies in racing standardbred horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. Hemostatic parameters at rest and after moderate exercise. **Can. J. Vet. Res.** 55: 101-106.1991.
- KINDIG, C.A.; McDONOUGH, P.; FENTON, G.; POOLE, D.C.; ERICKSON, H.H. Efficacy of nasal strip and furosemide in mitigating EIPH in thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1396-1400, 2001.
- KING, R.; RASKIN, R.J. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing greyhound dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 4, 130–132.1990.
- KRISTOPHER J.H.; NICOLSONB, L.; COSTA, N.; Frankline, S.H.; Allenc, K.J.; DUNHAM, S.P. Evaluation of cytokine mRNA expression in bronchoalveolar lavage cells from horses with inflammatory airway disease. **Veterinary Immunology and Immunopathology** 140 (2011) 82–89.
- KWONG, E.C.; CHEN, F.C.; YOUNG, L.M. Urinary excretion of pentoxifylline and its metabolites by standardbred mares. **Can. J. Vet. Res.** 53: 147-153. 1989
- LANGONI H., DA SILVA A.V., PEZERICO S.B & DE LIMA V.Y. 2004. Antileptospira agglutinins in equine sera, from São Paulo, Goias, and Mato Grosso do Sul, Brazil, 1996-2001. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis.** 3:207-218.
- LÉGUILLETTE, R. DÉSEVAUX, C.; LAVOIE, J. Effects of pentoxifylline on pulmonary function and results of cytologic examination of bronchoalveolar lavage fluid in horses with recurrent airway obstruction. **Am. J. Vet. Res.** 63: 459-463. 2002.

LESSA, D.A.B.; MORI, E.; VIANA, E.B.; SANTOS, O.J.; MOREIRA, J.F.E.; FERNANDES, W.B. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literature parte 2: achados citológicos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.10, n. 1, p. 31-38, 2007.

LESSA, D.A.B.; VIANA, E.B.; ABRAMOVITC, G.; PAIVA, V.S.; FERNANDES, W.R. Aspectos citológicos do lavado broncoalveolar de equinos da Polícia Militar do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, Gramado, 2002. **Anais do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**. Gramado, 2002. CD-ROM.

MANOHAR, M.; GOETZ, T.E.; ROTHENBAUM, P.; HUMPHREY, S. Intravenous pentoxifylline does not affect the exercise-induced pulmonary arterial, capillary or venous hypertension in thoroughbred horses. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 23: 317-322. 2000.

MANOHAR, M.; GOETZ, T.E.; ROTHENBAUM, P.; HUMPHREY, S. Intravenous pentoxifylline does not enhance the pulmonary haemodynamic efficacy of furosemide in strenuously exercising thoroughbred horses. **Equine. Vet. J.** 33: 354-359. 2001.

MANOHAR, M.; HUTCHENS, E. CONEY, E. Furosemide attenuates the exercise-induced rise in pulmonary capillary blood pressure in horses. **Eq Vet J.** 1994; 26:51-54

MANSMANN, R. A.; KING, C. How to perform BAL in practice. In: 44th **American Association of Equine Practitioners Annual Convention**, 1998. Proceedings of the 44th American Association of Equine Practitioners. v. 44, p. 186-188, 1998.

MANSO, H.C. F.; SILVA, H. M. M. ; SILVA, M. P. M. ; MAURÍCIO, E. A. ; FERREIRA, L. M. C.; MANSO H. C. COSTA C. Sócio-Economia da Criação de Cavalos no Distrito de Aldeia, Camaragibe-Pe. **JEPEX**, 2008.

MARKS, S.L.; MERCHANT, S.; FOIL, C. Pentoxifylline: Wonder drug. **J. Am. Hosp. Assoc.** 37: 218-219. 2001.

MARTIN, B.B. JR.; REEF, V.B.; PARENTE, E.J.; SAGE, A.D. Causes of poor performance of horses during training, racing, or showing: 348 case (1992-1996). **Journal of American Veterinary Medical Association**. v. 216, n.4, p. 554-558. fev.2000.

MAZER, B.D.; GELFAND, E.W. An open-label study of high-dose intravenous immunoglobulin in severe childhood asthma. **J Allerg Clin Immunol** 1991;87:976-983.



- McCLAY, C.B.; WEISS, D.J.; SMITH, C.M.; GORDON, B. Evaluation of hemorheologic variables as implications for exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing thoroughbreds. **Am.J.Vet.Res.** 53: 1380-1385. 1992.
- McKANE, S.A.; CANFIELD, P.J.; ROSE, R.J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n.11, p. 401-404, 1993
- McKANE, S.A.; SLOCOMBE, R.F. Alveolar fibrosis and changes in equine lung morphometry in response to intrapulmonary blood. **Equine Veterinary Journal Supplement** 34, 451–458. 2002.
- McNAMARA, B.; BAUER, S.; LAFE, J. Endoscopic evaluation of exercise-induced pulmonary haemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 196, 443–445. 1990.
- MEYER, T.S.; FEDDE, M.R.; GAUGHAN, E.M.; LANGSETMO, I.; ERICKSON, H.H. Quantification of exercise-induced pulmonary haemorrhage with bronchoalveolar lavage. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 4, p. 284-288, 1998.
- MICHELOTTO Jr, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A.L.; BIEBERBACH, E.W.R.; FERNANDES, L.C.; NISHIYAMA, A. Platelet-activating factor and evidence of oxidative stress in the bronchoalveolar fluid of Thoroughbred colts during race training. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 24, 414–419. 2010.
- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; GRANDO, F.C.C.; ZANATTA, A.L.; FARIAS, C.L.A.; SILVA, F.T.; NISHIYAMA, A. Hydrogen peroxide production and phagocytic capacity of alveolar macrophages, and BALF cells catalase activity in young thoroughbred colts challenged by environment and exercise. In: **SYMPOSIUM OF THE VETERINARY COMPARATIVE RESPIRATORY SOCIETY, XXV.** 2007. Proceedings.Lafayette, Indiana, USA: VCRS, 2007.
- MOORE, B.R. Lower respiratory tract disease. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v.12, n.3, p.457-472, 1996.
- NEWTON, J.R.; WOOD, J.L. Evidence of an association between inflammatory. 2002.
- O'CALLAGHAN, M.V.; PASCOE, J.R.; TYLER, W.S.; MANSON, D.K. Exercise-induced pulmonary hemorrhag in the horse; results of a detailed clinical, post mortem, and imaging study, II. Gross lung pathology. **Equine Vet. J.** 19: 389-393. 1987a.

- O'CALLAGHAN, M.V.; PASCOE, J.R.; TYLER, W.S.; MANSON, D.K. Exercise-induced pulmonary hemorrhag in the horse; results of a detailed clinical, post mortem, and imaging study, V. Microscopic observations. **Equine Vet. J.** 19: 411-418. 1987b.
- O'CALLAGHAN, M.V.; PASCOE, J.R.; TYLER, W.S.; MANSON, D.K. Exercise-induced pulmonary hemorrhag in the horse; results of a detailed clinical, post mortem, and imaging study, VIII. Conclusions and implications. **Equine Vet. J.** 19: 428-434. 1987c.
- PASCOE, J.R.; FERRARO, G.L.; CANNON, J.H. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Thoroughbreds: A preliminary study. **Am J Vet Res** 1981;42:703–707.
- PASCOE, J.R.; McCABE, A.E.; FRANTI, C.E.; ARTHUR, R.M. Efficacy of furosemide in the treatment of exercise-induced pulmonary hemorrhage in throughbred racehorses. **Am. J. Vet. Res.** 46: 2000-2003. 1985.
- PEREIRA M.M. 2002. Clinicopathological and immunohistochemical features of the severe pulmonary form of leptospirosis. *Revta Soc. Bras. Med. Tropl* 35:395-399.
- PRESTON, S.A; TROY,N; TRUMBLE, D; ZIMMEL, D.N.; CHMIELEWSKI, T.L.; BROWN, M.P.; HERNANDEZ, J.A. Lameness, athletic performance and financial returns in yearling Thoroughbreds bought for the purpose of resale for profit. **Journal of the American Veterinary Medical Association.** v.232, n.1, p.85-90. Jan.2008.
- RABINOVITCH, N.; GELFAND, E.W.; LEUNG, D.Y.M. The role of immunoglobulin therapy in allergic diseases. **Allergy** 1999;54:662–668.
- RAIDAL, S.L.; LOVE, D.N.; BAILEY, G.D.; ROSE, R.J. The effect of high intensity exercise on the functional capacity of equine pulmonary alveolar macrophages and BAL-derived lymphocytes. **Research in Veterinary Science**, v. 68, p. 249-253, 2000.
- RAPHEL CF; SOMA LR. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbreds after racing and breezing. **Am J Vet Res** 1982;43: 1123–1127.
- RICHARD, E. A.; FORTIER, G.D.; PITEL, P.H.; DUPUIS, M.C. ; VALETTE, J.P.; ART, T.; DENOIX, J.M.; LEKEUX, P.M.; ERCK, E.V. ; Sub-clinical diseases affecting performance in Standardbred trotters: Diagnostic methods and predictive parameters. **The Veterinary Journal** 184 (2010) 282–289.
- ROBERTS, C.; HILLIDGE, C.; MARLIN, D. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing Thoroughbreds in Great Britain. **International EIPH Conference**, Guelph, Ontario, Canada, September 21–22, 849–857 1993.

- RUBIE, S.; ROBINSON, N.E.; STOLL, M.; BROADSTONE, R.V.; DERKSEN, F.J. Flunixin meglumine blocks frusemide-induced bronchodilatation in horses with chronic obstructive pulmonary disease. **Eq Vet J** 1993;25:138-142.
- SANCHEZ, A.; COUETIL, L.L.; WARD, M.P.; CLARK, S.P. Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. **J. Vet. Intern. Med.** 19, 87–92. 2005.
- SCHROTER, R.C.; MARLIN, D.J.; DENNY, E. Exercise-induced pulmonary haemorrhage (EIPH) in horses results from locomotory impact induced trauma – a novel, unifying concept. **Equine. Vet. J.** 30:186-192. 1998.
- SEMECO, E.; RODRÍGUES, M.; BÁSALO, A.; ARANGUREN, J.; FERNÁNDEZ, M. Prevalencia de las Enfermedades Obstructivas del Tracto respiratorio Superior em Equinos Purosangres de Carreras. **Revista Científica, FCV-LUZ/Vol. XXI, N°3**, 215-223,2011.
- SHOHAM-KESSARY, H.; NAOT, Y.; GERSHONe, H. Immune complex-like moieties in immunoglobulin for intravenous use (IVIG) bind complement and enhance phagocytosis of human erythrocytes. **Clin Exp Immunol** 1998;113:77–84.
- SLOCOMBE, R.F.; COVELLI, G.; BAYLY, W.M. Respiratory mechanics of horses during stepwise treadmill exercise tests, and the effect of clenbuterol pretreatment on them. **Aust Vet J** 1992;69:221-225.
- SPEIRS, V.C.; VANVEENENDAAL, J.C.; HARRISON, I.W. Pulmonary hemorrhage in Standardbred horses after racing. **Aust Vet J** 1982;59:38–40.
- SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. **Equine Respiratory Disorders**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1991. cap. 4, p. 55-61.
- SWEENWY, C.R.; SOMA, L.R.; MAXSON, A.D., THOMPSON, J.E.; HOLCOMBE, S.J.; SPENCER, P.A. Effects of furosemide on the racing times of Thoroughbreds. **Am J Vet Res** 1990;51:772-778.
- SWEENY, C.F.; SOMA, L.R. EIPH in horses after different competitive exercises. In: Snow DH, Persson SGB, Rose BJ, eds. **Equine Exercise Physiology**. Cambridge: Granta Editions, 1983:51–56.
- VIEL, L.; HEWSON, J. Bronchoalveolar lavage. In: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5 ed. , St. Louis: Saunders, 2003, p.407-411.
- WEST, J.B.; MATHIEU- COSTELLO, O.; JONES, J.H.; BIRKS, E.K.; LOGEMANN, R.B.; PASCOE, J.R.; TYLER, W.S. Stress failure of pulmonary capillaries in racehorses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Journal of Applied Physiology** 75, 1097–1109. 1993.

WEST, J.B.; TSUKIMOTO, K.; MATHIEU-COSTELLO, O.; PREDILETTO, R., Stress failure in pulmonary capillaries. **Journal of Applied Physiology**, 70, 1731–1742. 1991.

WILSHER, S., ALLEN, W.R., WOOD, J.L. Factors associated with failure of thoroughbred horses to train and race. *Equine Veterinary Journal* 38, 113–118, 2006.

WONG, C.W.; THOMPSON, H.L.; THONG, Y.W.; THORNTON, J.R. Effect of strenuous exercise stress on chemiluminescence response of equine alveolar macrophage. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, n.1, p. 33-35, 1990.

WOOD, J.L.; NEWTON, J.R.; CHANTER, N.; MUMFORD, J.A. **Inflammatory airway** 2005b

WOOD, J.L.N.; NEWTON, J.R.; CHANTER, N.; MUMFORD, J.A. **Inflammatory airway** 2005a.

## **5. ARTIGOS CIENTÍFICOS**

### **5.1-CAPÍTULO 1**

#### **ANALYSIS OF TRACHEAL SECRETION IN HEALTHY HORSES UNDERGOING A VAQUEJADA SIMULATION TEST**

# Analysis of traqueal secretion in healthy horses undergoing simulation test vaquejada

Natália Matos Souza Azevedo<sup>1</sup>#, Márton de Vasconcelos Azevedo<sup>1</sup>, Paulo Fernandes de Lima<sup>1</sup>, Hélio Cordeiro Manso Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil

<sup>2</sup>Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil

#Email: nataliams\_vet@hotmail.com

Received \*\*\*\* 2014

Copyright © 2014 by author(s) and Scientific Research Publishing Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

**This study aimed to evaluate the occurrence of EIPH in horses vaquejada endoscopic examination and tracheal wash and observe the cytological profile of these horses. We used eight horses race quarter mile run vaquejada. Clinical examination was carried out before the race. After the race was done endoscopy and tracheal wash with 20 ml of saline via the service channel of the endoscope. The samples were sent to the laboratory for processing and then make the slides. Six of 8 horses studied had hemosiderófagos in tracheal aspirates confirming the existence of pulmonary hemorrhage after exercise. No difference was observed between the analyzed parameters between the two groups of horses vaquejada ( $P>0.05$ ). Tracheal lavage and endoscopy can be used for evaluating this important disease of animal athletes.**

## Keywords

**EIPH; Horses; Sport; Endoscopy**

---

## 1. Introduction

As doenças respiratórias foram identificadas como uma das principais causas de interrupção no treinamento e competições de cavalos de corrida puro-sangue [1]. Doença inflamatória das vias aéreas (IAD) e hemorragia pulmonar induzida por exercício (HPIE) são dois problemas comuns que afetam as vias aéreas inferiores de cavalos de corrida incorrendo em mau desempenho e queda de performance [2].

Doença inflamatória das vias aéreas (IAD) está associada a um baixo desempenho e acúmulo de muco e células inflamatórias nas vias aéreas. Cavalos com IAD frequentemente têm contagem relativa de neutrófilos aumentada no lavado broncoalveolar (LBA), menos comumente contagem relativa de eosinófilos e / ou mastócitos pode ser aumentada. A etiopatogenia da IAD é desconhecida e pode envolver fatores individuais e / ou respostas imunes adquiridas a vários fatores, incluindo os componentes respiráveis como poeira, micro-organismos, gases nocivos e ar-condicionado [3].

A prevalência de IAD em cavalos de corrida tem sido relatada como sendo entre 11,2 % e 50 % [4] [5] [6] sendo esta afecção uma condição prejudicial ao desempenho atlético [7,8] e uma importante causa de perdas na indústria equina [9]. O diagnóstico é normalmente obtido por exame endoscópico da traquéia observando-se aumento na produção de muco, produção de pus e exame citológico partir da lavagem traqueal ou lavado bronco-alveolar (LBA) do trato respiratório inferior [10] [11].

A hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) é uma síndrome prevalente em cavalos com episódios repetidos de hemoptise após exercício extenuante [12]. Apesar de sua alta prevalência (43.8 – 75.4%), pouco se sabe sobre os fatores predisponentes para HPIE [13] [14] [15]. Parte da dificuldade em definir sua patofisiologia e tratamento é a falta de precisão dos métodos de diagnóstico.

Apenas a epistaxe tem uma baixa especificidade e uma baixa sensibilidade para a detecção de HPIE em cavalos. Até à data, o uso da endoscopia das vias aéreas traqueobrônquicas permanece o método mais aceito de detectar HPIE dentro de 30-90 minutos após o exercício. Porém, ainda é difícil determinar um verdadeiro-positivo [16]. A citologia de lavado traqueal (LT) é considerada mais específica do que somente o exame endoscópico, sendo descrita como uma ferramenta no diagnóstico da doença pulmonar [17], portanto a citologia torna-se fundamental devido à observação de células características dos processos hemorrágicos, tais como os hemossiderófagos [16] [18] [19].

Objetivou-se analisar a secreção traqueal de cavalos sadios submetidos ao teste de simulação de vaquejada através de exame endoscópico e lavado traqueal e observar o perfil citológico desses cavalos.

## 2. Material and Methods

Esse trabalho tem a aprovação do Comitê de Ética da UFRPE protocolo sob o número 23082.004734/2013.

Foram utilizados 8 animais da raça quarto de milha (4 de esteira e 4 de puxar) com idade variando entre 3 e 18 anos (média 10,5 anos), sendo duas fêmeas e seis machos. Foi realizado exame clínico de todos os animais antes da prova aferindo-se frequência cardíaca, respiratória, temperatura, tempo de perfusão capilar, motilidade intestinal e ausculta pulmonar. A velocidade média foi medida através da fórmula, onde a velocidade média é obtida através da divisão entre a distância percorrida e o tempo médio.

A simulação da vaquejada caracterizou-se por 5 corridas com o cavalo de puxar e o esteira utilizando o boi. Na prova convencional é necessário 3 corridas para passar para outra fase da prova, como a maioria dos cavalos passam dessa primeira etapa para não subestimar nem superestimar o número de corridas determinou-se 5 corridas.

Para o exame endoscópico o animal foi contido com o uso do cachimbo. Utilizou-se um endoscópio marca OLYMPUS CF Type EL (9 mm de diâmetro externo, 2,8 mm de diâmetro do canal de trabalho e 103 cm de comprimento). Após 30 a 60 minutos o término do exercício foi realizado o exame endoscópico avaliando-se o trato respiratório desde os meatos nasais até a traquéia, verificando presença de secreção (cor, quantidade e localização), hiperemia da mucosa e presença de alterações do trato respiratório observadas via endoscopia. As secreções visíveis a endoscopia foram classificadas segundo escore 1-5 [20].

Para o lavado traqueal o endoscópio, contendo a sonda para colheita transendoscópica (MILA® Delivery Catheter) em seu canal de trabalho, foi introduzido pelo meato nasal ventral em direção a traquéia. A sonda foi posicionada na traquéia em porção distal, anterior a carina, de acordo com uma técnica previamente utilizada [21]. Para a obtenção do LT, 20 ml de solução salina estéril foram instilados por meio de seringas plásticas estéreis (Injex®) e imediatamente aspirados. As amostras foram consideradas adequadas quando foi possível observar partículas suspensas ou filamentos de muco. O lavado obtido foi acondicionado na própria seringa de colheita e mantido sob refrigeração até o momento do processamento.

Alíquotas de 20 mL de lavado foram submetidas a centrifugação a 110 g por 5 min. em centrífuga RDE® modelo MC-16. O sobrenadante foi dispensado e o sedimento de células utilizado para confecção das lâminas pela técnica de esfregaço linear [22]. As lâminas foram fixadas em álcool metílico por 5 minutos e coradas pelo método de May-Grumwald-Giemsa.

Para a análise diferencial de células foram contadas 100 células no aumento de 1000 X [23], diferenciando-se as proporções dos diferentes tipos celulares (células epiteliais, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e hemossiderófagos).

Foi utilizada, inicialmente, a estatística descritiva dos parâmetros analisados e em seguida o teste T para comparar as médias entre os dois grupos de cavalos de vaquejada (puxar e esteira). Os resultados são expressos em média +/- erro padrão médio. Foi utilizado o programa SigamaStat®.

### 3. Results

A contagem diferencial média de células do aspirado traqueal foi de  $45,375 \pm 8,255$  de células epiteliais; 0 de células caliciformes;  $25 \pm 9,59$  de neutrófilos;  $4,25 \pm 1,013$  de linfócito;  $0,25 \pm 0,164$  eosinófilos;  $11,5 \pm 5,510$  de macrófagos espumosos;  $5,875 \pm 2,020$  de hemossideróforos;  $0,87 \pm 0,743$  de células gigantes (Tabela 1).

**Tabela 1.** Médias dos parâmetros analisados nos cavalos de esteira e de puxar submetidos a vaquejada, Município de Itabaina – PB.

Parâmetro	Tipos de Cavalos	
	Puxar (4)	Esteira (4)
FC	$42,800 \pm 4,363$ bpm	$52,667 \pm 10,729$ bpm
FR	$30,800 \pm 3,929$ mrpm	$38,667 \pm 5,925$ mrpm
Velocidade	$3,266 \pm 0,237$ Km/h	$3,857 \pm 0,230$ Km/h
LTr	$19,600 \pm 0,400$ ml	$17,667 \pm 1,453$ ml
% Células Epiteliais	$38,800 \pm 10,293$	$56,333 \pm 13,667$
Caliciformes	0	0
Neutrófilos	$37,200 \pm 12,575$	$4,667 \pm 0,667$
Linfócitos	$4,600 \pm 1,400$	$3,667 \pm 1,667$
Eosinófilos	$0,400 \pm 0,245$	0
Total	$12,400 \pm 3,326$	$31,00 \pm 13,577$
Macro HSF	$4,00 \pm 2,811$	$9,00 \pm 2,082$
Macro ME	$7,800 \pm 3,367$	$17,667 \pm 14,667$
Macro CG	$0,200 \pm 0,200$	$2,00 \pm 2,00$

Observação: médias na mesma linha seguidas de letras diferentes indicam que  $P < 0,05$  pelo teste T. Legenda: FC: Frequência Cardíaca; FR: Frequência Respiratória; LTr: Lavado traqueal recuperado; HSF: Hemossideróforos; ME: Macrófagos espumosos; CG: Células gigantes.

O exame endoscópico realizado de 30 a 60 minutos após a prova revelou presença de secreção traqueal em 5 dos 8 animais. As secreções, visíveis a endoscopia foram classificadas segundo escore de 1–5 [20]. Os animais 1, 2, e 8 apresentaram secreção quanto a coloração grau 1, quantidade grau 2 O animal 3 secreção grau 1, coloração grau 1. Animal 6 secreção grau 1 coloração grau 3. Todas as localizaram-se no 2º/3 da traqueia. Os resultados foram obtidos e tabulados (Tabela 2). Do animal 1 ao 5 a traquéia e a carina encontravam-se hiperativa, com hiperemia da mucosa, mas em nenhum dos animais observou-se presença de sangramento.

Em relação as alterações das vias superiores do trato respiratório observou-se no animal 4 presença de condrite da epiglote, animal 5 Hiperplasia Folicular Linfóide, no animal 6 Deslocamento Dorsal do Palato Mole e no animal 8 Hemiplegia Laringea.



**Tabela 2.** Achados Endoscópicos e Alterações observadas durante realização do aspirado traqueal de cavalos de vaquejada, Itabaiana-PB.

Animal	Vias Aéreas Superiores				Vias Aéreas Inferiores			
	HFL	Epiglote	DDPM	Hemiplegia Laringeana	Secreção Traqueal	Traquéia	Carina	Hemorragia Pulmonar
01	-	-	-	-	1-2-2/3	HR 4	HE	-
02	-	-	-	-	1-2-2/3	HR 4	HE	-
03	-	-	-	-	1-1-2/3	HR 4	HE	-
04	-	Condrite	-	-	-	HR 4	HE	-
05	Grau II	-	-	-	-	HR 4	HE	-
06	-	-	X	-	1-3-2/3	-	-	-
07	-	-	-	-	-	-	-	-
08	-	-	-	Grau III	1-2-2/3	-	-	-

Legenda: HR: Hipereativa, coloração avermelhada; HE: Hiperêmica.

Nenhum dos animais necessitou de prévia sedação para o exame clínico e para o exame endoscópico. Todos os animais apresentavam-se clinicamente normais e não havia nenhuma queixa de queda de performance. Segundo o exame físico realizado antes da prova observaram-se  $46,5 \pm 4,732$  batimentos cardíacos por minuto,  $33,75 \pm 3,369$  movimentos respiratórios por minuto. Durante a prova observou-se que os animais desenvolveram uma velocidade média de 40,11Km/h não foi observado em nenhum dos animais epistaxe ou secreção mucosa nasal ao exame externo. A quantidade de solução salina aspirada para a lavagem traqueal foi de  $18,875 \pm 0,639$ . Não foram identificadas diferenças nos parâmetros analisados entre os cavalos de puxar e de esteira. ( $P > 0,05$ ).

#### 4. Discussion

A história, exame clínico, endoscopia do trato respiratório e citologia do lavado traqueal são ferramentas valiosas para definir afecção respiratória [24]. Em nosso estudo observou-se que dentre todos esses aspectos a citologia do lavado traqueal é o diagnóstico mais eficaz, pois não foi observado alterações no exame clínico, na história clínica, nem na endoscopia que justificassem o perfil citológico apresentado pelos animais.

O lavado traqueal (LT) pode ser obtido durante a avaliação endoscópica das vias aéreas, podendo-se, avaliar as estruturas do trato respiratório bem como as quantidades de muco presentes haja vista que a quantidade de muco está diretamente relacionada com inflamação das vias aéreas e com queda no rendimento em cavalos atleta [25]. A presença de muco nas vias aéreas inferiores significa que provavelmente houve o envolvimento de uma inflamação neutrofílica, porém a ausência de muco não exclui inflamação pulmonar, a qual pode ter sido secundária ao acúmulo de células nas vias aéreas inferiores [26]. Nesse estudo foi possível a realização do LT com facilidade infundindo-se 20 ml de solução salina e recuperando-se em média  $18,875 \pm 0,639$  de solução e também foi possível observar a presença de muco em 5 dos 8 animais, os quais também apresentaram aumento de neutrófilos sugerindo a ocorrência da IAD.

É importante que as técnicas de avaliação citológica das vias aéreas sejam parte integrante da rotina em clínica de equinos, pois as desordens respiratórias ocupam um papel significativo na saúde e desempenho dos cavalos de todas as idades e funções desportivas [27].

Também, a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) e a hemorragia pulmonar induzida pelo esforço (HPIE) podem apresentar-se clinicamente pouco perceptíveis, mas podem causar prejuízo importante ao rendimento atlético por acentuarem a hipoxemia induzida pelo exercício [28]. O diagnóstico, a severidade e o prognóstico, bem como a prevalência de quadros como a DIVA e a HPIE, dependem da avaliação citológica, para que não ocorram equívocos ou diagnósticos incompletos [11] [16] [29].

De acordo com [2] que determinou valores de referência para os tipos celulares no lavado traqueal, observa-se em nosso estudo que os cavalos de puxar apresentam uma média elevada de neutrófilos, eosinófilos e hemossiderófagos, comprovando que apesar dos cavalos estarem aparentemente assintomáticos eles apresentam quadros citológicos compatíveis com IAD e HPIE.

E os cavalos de esteira também apresentaram aumento de hemossiderófagos confirmando a existência de HPIE.

Provavelmente os cavalos de corrida apresentam algum grau de hemorragia pulmonar durante o exercício, porém apenas 1% apresentam epistaxe, 50% são positivos à endoscopia e 100% são positivos no BAL (Lavado broncoalveolar) [30]. Nosso estudo confirma os achados de uma pesquisa anterior, pois dos 8 animais estudados, nenhum foi positivo a endoscopia e 6 apresentaram hemossiderófagos o que confirma algum grau de sangramento pós exercício [30]. Dos 6 animais que apresentaram hemossiderófagos 4 são considerados positivos a hemorragia pois o percentual encontrado foi maior que 5%, sendo 3 cavalos de esteira e 1 cavalo de puxar.

De modo semelhante, foram observados hemossiderófagos em lavados traqueais de 86% dos animais de corrida [31]. A elevada frequência com que os hemossiderófagos apareceram nos preparados citológicos já era esperada, pois todo equino submetido a exercício extenuante sofre de algum grau de hemorragia pulmonar [21].

Considerando também que o local onde comumente ocorrem episódios de hemorragia é o lobo caudal do pulmão, é provável que o LT seja um material mais diluído que o LBA quando consideramos a presença de hemossiderófagos [32]. Portanto, é possível que em nosso estudo, a ocorrência da HPIE possa estar sendo subestimada pela utilização do LT ao invés do LBA.

O percentual de neutrófilos nas vias aéreas de cavalos saudáveis deve ser < 20% do total para o LT [25] [33]. Nesse estudo 4 cavalos, sendo todos de puxar, (4,5,7,8) apresentaram aumento no percentual de neutrófilos e eosinófilos, sendo 1 deles acometido por hiperplasia folicular linfóide (animal 5), reforçando o comprometimento infeccioso viral. O animal 6 apresenta um grande número de macrófagos e células gigantes, provavelmente devido ao aparecimento de bacilos cocóides, o que levaria as células a se dividirem rapidamente para debelar a infecção. Seu aumento é um achado importante no processo inflamatório pulmonar [34] ao mesmo tempo que representa uma resposta imune do tipo Th2 [35]. Haja vista que as células gigantes são observadas com baixa frequência no lavado traqueal [25].

Apesar do exame endoscópico ser de fácil execução, ainda é pouco utilizado na rotina. Em um prévio estudo de 100 cavalos encaminhados 22 passaram por endoscopia, dos quais em 20 coletaram amostra traqueal para exame citológico [24]. O exame endoscópico é o único método capaz de definir disordens funcionais do trato respiratório superior [36] [37].

A análise via endoscópica de 510 equinos após o exercício revelou que 58,21% dos animais apresentavam enfermidades obstrutivas do trato respiratório superior tendo 17,80% mais de uma enfermidade obstrutiva [38].

Em nosso estudo através do exame endoscópico foi possível observar alterações funcionais do trato respiratório superior como hemiplegia laringeana, condrite da epiglote e deslocamento dorsal do palato mole, além disso o exame foi de fundamental importância pois possibilitou a visualização da mucosa traqueal, quantificar e localizar a secreção existente.

Ainda através da endoscopia, pode-se estimar a severidade da HPIE pela avaliação da quantidade de sangue presente nas vias aéreas, pois a presença de epistaxe foi observada somente em 0,25 a 13% dos cavalos Puro Sangue Inglês de corrida acometidos por HPIE [39]. Porém em nosso estudo não visualizamos nenhum grau de hemorragia pulmonar via endoscopia, ressaltando a importância da citologia do lavado traqueal, pois sem ele teríamos animais falsos negativos para a HPIE.

Neste estudo observou-se que a avaliação clínica não mostrou alterações relevantes, uma vez que todos os animais utilizados eram saudáveis e clinicamente normais. Sabe-se que a frequência cardíaca e respiratória normal antes do exercício não excluem a possibilidade da ocorrência de cavalos com algum grau de hemorragia pulmonar [40].

Assim como em outros estudos, a contenção química foi desnecessária para a realização do exame endoscópico, sendo suficiente apenas o uso do cachimbo [41].

## 5. Conclusion

O exame endoscópico e a citologia do lavado traqueal são ferramentas fundamentais para o diagnóstico de afecções respiratórias, haja vista que a endoscopia permite indentificar disordens funcionais e a citologia possibilita a visualização do tipo celular predominante permitindo identificar a patologia existente como HPIE ou IAD.

Maiores estudos são necessários para determinar a ocorrência de hemorragia pulmonar induzida por esforço e inflamação das vias aéreas em cavalos de vaquejada haja vista que é um esporte que apresenta condições distintas quando comparado a outras modalidades esportivas o que pode revelar condições patológicas diferentes.

## References

- [1] Wilsher, S., Allen, W.R. and Wood, J.L. (2006) Factors associated with failure of thoroughbred horses to train and race. *Equine Veterinary Journal*, **38**, 113-118. <http://dx.doi.org/10.2746/042516406776563305>.
- [2] Richard, E.A., Fortier, G.D., Lekeux, P.M. and Erck, E.V. (2010) Laboratory findings in respiratory fluids of the poorly-performing horse. *The Veterinary Journal*, **185**, 115-122. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.05.003>.
- [3] Hughes, K.J., Nicolson, L., Costa, N., Franklin, S.H., Allen, K.J. and Dunham, S.P. (2011) Evaluation of cytokine mRNA expression in bronchoalveolar lavage cells from horses with inflammatory airway disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **140**, 82-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.11.018>.
- [4] McNamara, B., Bauer, S. and Lafe, J. (1990) Endoscopic evaluation of exercise induced pulmonary haemorrhage and chronic obstructive pulmonary disease in association with poor performance in racing Standardbreds. *Journal of American Veterinary Medical Association*, **196**, 443-445.
- [5] Burrell, M.H., Wood, J.L., Whitwell, K.E., Chanter, N., Mackintosh, M.E. and Mumford, J.A. (1996) Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationships between disease and viruses, bacteria and environment. *Veterinary Record*, **139**, 308-313.
- [6] Wood, J.L.N., Newton, J.R., Chanter, N. and Mumford, J.A. (2005) Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. *Equine Veterinary Journal*, **37**, 236-242. <http://dx.doi.org/10.2746/0425164054530579>.
- [7] Couetil, L.L., Rosenthal, F.S., De Nicola, D.B. and Chilcoat, C.D. (2001) Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. *American Journal of Veterinary Research*, **62**, 538-546. <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.2001.62.538>.
- [8] Sanchez, A., Couetil, L.L., Ward, M.P. and Clark, S.P. (2005) Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **19**, 87-92. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02663.x>.
- [9] Bailey, C.J., Reid, S.W., Hodgson, D.R. and Rose, R.J. (1999) Impact of injuries and disease on a cohort of two- and three-year-old thoroughbreds in training. *Veterinary Record*, **145**, 487-493.
- [10] Moore, B.R., Krakowka, S., Robertson, J.T. and Cummins, J.M. (1995) Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from standardbred racehorses with inflammatory airway disease. *American Journal of Veterinary Research*, **56**, 562-567.
- [11] Couëttil, L.L., Hoffman, A.M., Hodgson, J., Buechner-Maxwell, V., Viel, L., Wood, J.L.N. and Lavoie, J.P. (2007) Inflammatory airway disease of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **21**, 356-361. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb02975.x>.
- [12] Roberts, C., Hillidge, C. and Marlin, D. (1993) Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing Thoroughbreds in Great Britain. International EIPH Conference, Ontario, 21-22.
- [13] Pascoe, J.R., Ferraro, G.L., Cannon, J.H., Arthur, R.M. and Wheat, J.D. (1981) Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Thoroughbreds: A preliminary study. *American Journal of Veterinary Research*, **42**, 703-707.
- [14] Raphael, C.F. and Soma, L.R. (1982) Exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbreds after racing and breeding. *American Journal of Veterinary Research*, **43**, 1123-1127.
- [15] Newton, J.R. and Wood, J.L. (2002) Evidence of an association between inflammatory airway disease and EIPH in young Thoroughbreds during training. *Equine Veterinary Journal*, **34**, 417-424. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.2002.tb05459.x>.
- [16] Doucet, M.Y. and Viel, L. (2002) Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. *Canadian Veterinary Journal*, **43**, 195-202.
- [17] Dixon, P.M. Raitlon, D.I. and McGorum, B.C. (1995) Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. *Equine Veterinary Journal*, **27**, 416-421. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.1995.tb04421.x>.
- [18] Hodgson, J.L. and Hodgson, D.R. (2003) Tracheal aspirates: indications, technique and interpretation. In: Robinson, N.E. Ed., *Current Therapy in Equine Medicine*, Saunders, St. Louis, 401-406.
- [19] Biava, J.S., Gonçalves, R.C., Biondo, A.W. and Telles, J.E.Q. (2008) Escore total de hemossiderófagos (THS) na hemorragia pulmonar induzida por exercício (EIPH) em cavalos quarto de milha. *Revista Acadêmica Ciências Agrárias Ambientais*, **6**, 335-340.
- [20] Holcombe, S.J. (2005) Epidemiology of airway inflammation and mucus in horses. *American Association of Equine Practitioners*, **51**, 337-340.
- [21] Whitwell, K.E. and Greet, T.R.C. (1984) Collection and evaluation of tracheobronchial washes in the horse. *Equine Veterinary Journal*, **16**, 499-508.
- [22] Cowell, R.L. and Tyler, R.D. (1992) *Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse*. Mosby, St Louis.
- [23] Hewson, J. and Viel, L. (2002) Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: Lekeux, P. *Equine Respiratory Diseases*. Saunders, St. Louis.
- [24] Szenci, O., Orsolya K., Balogh N., Lajos Z. and Nagy K. (2011) Diagnostic approaches for the assessment of equine chronic pulmonary disorders. *Journal of Equine Veterinary Science*, **31**, 400-410. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.018>.
- [25] Hodgson, J.L. and Hodgson, D.R. (2007) Collection and analysis of respiratory tract samples. In:

- McGorum, B.C., Dixon, P.M., Robinson, N.E. and Schumacher, J. Equine Respiratory Medicine and Surgery. Saunders, Philadelphia, 119-150.
- [26] Koblinger, K., Nicol, J., McDonald, K., Wasko, A., Logie, N., Weiss, M. and Leguillette, R. (2011) Endoscopic assessment of airway inflammation in horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **25**, 1118-1126. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00788.x>.
- [27] Viel, L. and Hewson, J. (2001) BAL cytology in horses with exercise intolerance: what does it tell us? World Equine Airways Symposium, Edinburgh.
- [28] Sánchez, A., Couëtil, L.L., Ward, M.P. and Clark, S.P. (2005) Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **19**, 87-92. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02663.x>.
- [29] McKane, S.A., Canfield, P.J. and Rose, R.J. (2008) Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. *Australian Veterinary Journal*, **70**, 401-404. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-0813.1993.tb06072.x>.
- [30] Araya, O., Palma, P., Salvi, M., Bustamante, H. and Vits, L. (2005) Endoscopic determination of exercise-induced pulmonary haemorrhage in Chilean Criollo horses. *The Veterinary Journal*, **169**, 311-313. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.02.002>.
- [31] Sweeney, C.R. and Humber, K.A. (1992) Cytologic findings of trachea-bronchial aspirates from 66 thoroughbred racehorses. *American Journal of Veterinary Research*, **53**, 1172-1175.
- [32] Derksen, F.J., Brown, C.M. and Sonea, I. (1989) Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. *Equine Veterinary Journal*, **21**, 23-26. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.1989.tb02084.x>.
- [33] Hoffman, A.M. (2008) Bronchoalveolar Lavage: Sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, **24**, 423-435. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2008.04.003>.
- [34] Anderson, S., Shires, V.L., Wilson, R.A. and Mountford, A.P. (1999) Formation of multinucleated giant cells in the mouse lung is promoted in the absence of interleukin-12. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, **20**, 371-378. [10.1165/ajrcmb.20.3.3317](https://doi.org/10.1165/ajrcmb.20.3.3317).
- [35] Helming, L. and Gordon, S. (2007) Macrophage fusion induced by IL-4 alternative activation is a multistage process involving multiple target molecules. *European Journal of Immunology*, **37**, 33-42. <http://dx.doi.org/10.1002/eji.200636788>.
- [36] Franklin, S.H., Naylor, J.R. and Lane, J.G. (2006) Video-endoscopic evaluation of the upper respiratory tract in 93 sport horses during exercise testing on a high-speed treadmill. *Equine Veterinary Journal*, **36**, 540-545. <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-3306.2006.tb05601.x>.
- [37] Davidson, E.J. and Martin, B.B. (2003) Diagnosis of upper respiratory tract diseases in the performance horse. *Veterinary Clinics North American Equine Practice*, **19**, 51-62. [http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0739\(02\)00066-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0749-0739(02)00066-4).
- [38] Semeco, E., Rodrigues, M., Básalo, A., Aranguren, J. and Fernández, M. (2011) Prevalencia de las enfermedades obstructivas del tracto respiratorio superior em equinos Purosangres de Carreras. *Revista Científica*, **21**, 215-223.
- [39] Erickson, H.H. and Poole, D.C. (2002) Exercise-induced pulmonary hemorrhage. In: Lekeux, P. Equine Respiratory Diseases. Ithaca, New York.
- [40] Baccarin, R.Y.A. (2005) Diagnóstico e tratamento das pneumopatias de esforço. II Simpósio Internacional do Cavalo Atleta e IV Semana do Cavalo – SIMCAV, Belo Horizonte, 12-28.
- [41] Almeida Neto, J.B. (2009) Avaliação endoscópica do trato respiratório superior e inferior proximal em cavalos de vaquejada. Ph.D. Thesis, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

## **5.2- CAPÍTULO 2**

### **DIAGNÓSTICO DE HEMORRAGIA PULMONAR INDUZIDA EM CAVALOS SUBMETIDOS AO TESTE DE SIMULAÇÃO DE VAQUEJADA**

## **Diagnóstico de hemorragia pulmonar induzida em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada**

Natália Matos Souza Azevedo<sup>1\*</sup>; Paulo Fernandes de Lima<sup>1</sup>; Márlon de Vasconcelos Azevedo<sup>1</sup>;  
Marcos Antonio Lemos de Oliveira<sup>1</sup>; Telga Lucena Alves Craveiro de Almeida<sup>2</sup>; Hélio Cordeiro  
Manso Filho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisa Equina, Departamento de Zootecnia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil.

\*nataliams\_vet@hotmail.com

### **RESUMO**

Objetivou-se comparar a eficiência do lavado traqueal (LT) e broncoalveolar (LBA) em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada para diagnóstico da Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço. Utilizou-se 21 cavalos em estado clínico aparentemente normal, os quais foram distribuídos em 2 grupos (oito de esteira e treze de puxar). Foi realizado exame clínico antes e após a prova e laboratorial para determinação do hemograma, glicose e lactato sanguíneo. Decorridos 30 a 60 minutos da realização da prova realizou-se exame clínico, endoscópico, LT e LBA para avaliação do tipo celular. A avaliação das variáveis LT e LBA não mostrou diferença ( $P \geq 0,05$ ) entre os grupos, porém em ambos os tipos de cavalos observou-se a presença de hemossiderófagos confirmando a existência de Hemorragia pulmonar induzida por esforço. Quanto aos achados endoscópicos observou-se: Hiperplasia Folicular linfóide em 9,5% dos animais, Granuloma aritenóide em 4,8%, condrite na epiglote em 23,8% dos quais 9,5% eram de puxar e 14,28% de esteira; além de hemiplegia laringeana em 4,8% dos animais. Quanto a presença de secreção traqueal observou-se que ocorreu em 52,38% dos animais sendo 42,8% naqueles de puxar e 9,5% nos de esteira. O exame endoscópico confirmou a ocorrência de HPIE e a hemorragia pulmonar ocorreu em 4,8%. Conclui-se que a vaquejada e as provas de velocidade são esportes equestres que induzem hemorragia pulmonar e que a HPIE é provavelmente um evento patológico relacionado a falha nos capilares pulmonares ou doenças pulmonares. Além disso é permitido concluir que o exame endoscópico, a citologia do lavado traqueal e broncoalveolar são ferramentas importantes para diagnosticar a HPIE, assim como o LT além de ser tão sensível quanto o LBA é de maior facilidade na execução para detectar o tipo celular predominante nessa afecção, mesmo quando o animal for negativo ao exame endoscópico.

**Palavras-chave:** HPIE, esporte, atleta, equinos.

**ABSTRACT**

It was aimed to compare the tracheal lavage (TL) and bronchoalveolar lavage (BAL) efficiency in horses submitted to a “vaquejada” simulation test to diagnose EIPH. It was used 21 horses in an apparently healthy stage, which were divided in 2 groups (8 supporting horses and 13 pulling horses). It was performed before and after the simulation, a clinical exam and laboratory tests such as CBC, glucose test and lactate test. 30 to 60 minutes after the simulation it was performed a clinical exam, endoscopy, TL and BAL to evaluate the cell type. Evaluating variables of TL and BAL it doesn't show any difference ( $P \geq 0,05$ ) between groups, therefore in a lot of horses it was observed the presence of hemossiderófagos confirming the existence of EIPH. Regarding the endoscopic findings it was observed: follicular hyperplasia in 9,5% of the horses, arytenoid granuloma in 4,8%, epiglottic chondritis in 23,8% of the horses in witch 9,5% was pulling horses and 14,28% was supporting horses; and laryngeal hemiplegia in 4,8% of the horses. Regarding the tracheal fluid, it was seen in 52,38% of the horses, in which 42,8% was pulling horses and 9,5% supporting horses. The endoscopy confirmed the EIPH, which in 4,8% occurred nasal epistaxis. It was concluded that “vaquejada” and other speed tests are equestrian sports that induces the EIPH and that it is a pathological event related to a fail in the pulmonary capillaries or to pulmonary diseases. Besides that, we can conclude that the endoscopic exam, the TL and BAL cytology are important tools to diagnose EIPH and the TL is as sensible as BAL and easier to be performed, detecting the predominant cell type in this disease even when the horse is negative to the endoscopic exam.

Key-words: EIPH, sport, athlete, equine.

## INTRODUÇÃO

A vaquejada, prática equestre de maior significado econômico no Brasil, tem sua origem nas antigas lidas da criação de bovinos no sertão nordestino. Nessa região ela já é reconhecida legalmente como um esporte equestre, regulado pela Associação Brasileira dos Criadores do Cavallo Quarto de Milha (ABQM). Essa competição consiste na corrida de uma dupla de cavaleiros, conhecida como vaqueiros, que tem como objetivo derrubar um boi dentro de uma área específica, a cerca de 90 metros da saída (ALMEIDA NETO, 2009). O puxador tem a função de derrubar o boi e o outro vaqueiro chamado de esteira, tem a função de alinhar o boi junto do puxador, e durante esse tipo de exercício o esforço do animal é elevado podendo inclusive levar ao aparecimento de enfermidades regularmente observados nos cavalos de velocidade, como a hemorragia pulmonar ou epistaxe.

As doenças respiratórias foram identificadas como uma das principais causas de interrupção no treinamento e competições de cavalos de corrida (WILSHER et al., 2006). Dentre elas, a hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) é uma síndrome prevalente em cavalos com episódios repetidos de hemoptise após exercício extenuante (RAPHAEL e SOMA et al., 1982; ROBERTS et al., 1993). Apesar de sua elevada prevalência em cavalos de corrida (43,8 –75,4%), pouco se sabe sobre os fatores predisponentes para HPIE (PASCOE et al., 1981; RAPHEL e SOMA, 1982; NEWTON e WOOD, 2002). Ainda nesse sentido há uma grande dificuldade em se definir sua patofisiologia e tratamento devido a falta de precisão dos métodos de diagnóstico.

Apenas a epistaxe tem uma baixa especificidade e uma baixa sensibilidade para a detecção de HPIE em cavalos. Até a data, o uso da endoscopia das vias aéreas traqueobrônquicas permanece o método mais aceito de detectar HPIE dentro de 30-90 minutos após o exercício. Porém, ainda é difícil determinar um verdadeiro-positivo (DOUCET E VIEL, 2002). A citologia de lavado traqueal (LT) é considerada mais específica do que somente o exame endoscópico, sendo descrita como uma ferramenta no diagnóstico da doença pulmonar (DIXON, 1995), portanto a citologia torna-se fundamental devido à observação de células características dos processos hemorrágicos, tais como os hemossiderófagos (DOUCET e VIEL, 2002; HODGSON e HODGSON, 2003; BIAVA et al., 2008).

Análise citológica do lavado broncoalveolar (LBA) é ideal para o diagnóstico de doença inflamatória das vias aéreas (DIVA), obstrução das vias aéreas recorrentes



(ORVA) assim como para outras enfermidades do trato respiratório inferior (ROBINSON 2001; COUËTIL et al., 2007). Apesar do lavado traqueal (LT) ser controverso para a investigação de DIVA e ORVA por causa de sua baixa correlação com LBA, é amplamente utilizado para o diagnóstico da inflamação das vias aéreas, pois é facilmente realizada durante o exame endoscópico e dá informações de diferentes segmentos das vias aéreas inferiores. Para uma investigação completa sugere-se a combinação dos 2 métodos (HODGSON e HODGSON, 2003).

Devido a importância da HPIE para o cavalo atleta e as dificuldades naturais para o diagnóstico da HPIE, que compromete não só a saúde mas também a performance dos atletas, foi desenvolvido um experimento que objetivou-se comparar a eficiência do lavado traqueal (LT) e broncoalveolar (LBA) em cavalos submetidos ao teste de simulação de vaquejada para diagnóstico da Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esse trabalho tem a aprovação do Comitê de Ética da UFRPE protocolo sob o número 23082.004734/2013.

### ANIMAIS

Foram utilizados 21 animais puros e/ou mestiços da raça quarto de milha sem distinção de raça ou sexo, com idade variando de quatro a quinze anos, distribuídos em 2 grupos (oito esteira e treze de puxar). Foi realizado exame clínico de todos os animais antes da prova aferindo-se frequência cardíaca, respiratória, temperatura, tempo de perfusão capilar, motilidade intestinal e ausculta pulmonar e colheita sanguínea para determinação do hemograma, glicose e lactato sanguíneo.

### TESTE DE SIMULAÇÃO DE VAQUEJADA

O teste de simulação da vaquejada caracterizou-se por 5 corridas com o cavalo de puxar e o esteira utilizando o boi, em sistema de rodízio (5 duplas por vez). A pista 150metros de comprimento por 17 metros de largura. O final da pista possui 45metros de largura.

### COLHEITA DE AMOSTRAS E ANÁLISES

A colheita sanguínea foi realizada através da venopunção da jugular com o auxílio de agulhas vacutainer e tubos com EDTA e com fluoreto de sódio, os quais foram acondicionados em caixas isotérmicas e enviadas ao laboratório para hemograma e dosagem de glicose e lactato.

Decorridos 30 a 60 minutos do término do exercício foi realizado o exame endoscópico com o auxílio de um endoscópio marca OLYMPUS CF Type EL (9mm de diâmetro externo, 2,8mm de diâmetro do canal de trabalho e 103cm de comprimento), avaliando-se o trato respiratório desde os meatos nasais até a traquéia, verificando presença de secreção (cor, quantidade e localização), hiperemia da mucosa e presença de alterações do trato respiratório observadas via endoscopia. As secreções visíveis a endoscopia foram classificadas segundo escore 1-5 (HOLCOMBE, 2005).

Para o lavado traqueal o endoscópio, contendo a sonda para colheita transendoscópica (MILA<sup>®</sup> Delivery Catheter) em seu canal de trabalho, foi introduzido pelo meato nasal ventral em direção a traquéia. O exame endoscópico e o lavado traqueal foi realizado segundo Whitwell e Greet. (1984). As amostras foram consideradas adequadas quando foi possível observar partículas suspensas ou filamentos de muco. O lavado obtido foi acondicionado na própria seringa de colheita e mantido sob refrigeração até o momento do processamento.

Imediatamente após o LT, foi realizado o LBA de acordo como preconizado por DOUCET e VIEL, 2002).

O fluido aspirado foi acondicionado em tubos falcon até o processamento em laboratório onde serão confeccionadas as lâminas e coradas pelo método de May-Grumwald-Giemsa.

Tanto as alíquotas de LT quanto as de LBA foram submetidas a centrifugação a 110g por 5 min. em centrífuga RDE<sup>®</sup> modelo MC-16. O sobrenadante foi dispensado e o sedimento de células utilizado para confecção das lâminas pela técnica de esfregaço linear, segundo Cowell e Tyler. (1992). As lâminas foram fixadas em álcool metílico por 5 minutos e coradas pelo método de May-Grumwald-Giemsa.

Para a análise diferencial de células foram contadas 100 células no aumento de 1000X (HEWSON e VIEL, 2002), diferenciando-se as proporções dos diferentes tipos celulares (células epiteliais, macrófagos, linfócitos, neutrófilos, eosinófilos e hemossiderófilos).

Os dados foram processados utilizando-se o tratamento estatístico ANOVA para avaliar a diferença entre os grupos e posteriormente o teste de Tukey para identificar as diferenças.

## RESULTADOS

Nenhum dos animais necessitou de prévia sedação para o exame clínico e para o exame endoscópico. Todos os animais apresentavam-se clinicamente normais e não havia nenhuma queixa de queda de performance. Segundo o exame físico realizado antes da prova observaram-se  $40,86 \pm 2,42$  batimentos cardíacos por minuto,  $22,57 \pm 4,38$  movimentos respiratórios por minuto, como observado na tabela 2. Após a prova não foi observado em nenhum dos animais epistaxe ou secreção mucosa nasal ao exame externo. Os animais desenvolveram uma velocidade média de 43,89Km/h.

A contagem diferencial média de células do aspirado traqueal e broncoalveolar nos diferentes grupos estudados está descrita na tabela 1, não foi observada diferença estatística.

A tabela 3 descreve os achados endoscópicos encontrados nos cavalos 30 a 60 minutos pós prova, no qual foi observado: Hiperplasia Folicular linfóide em 9,5% dos animais, Granuloma aritenóide em 4,8%, condrite na epiglote em 23,8% dos quais 9,5% eram de puxar e 14,28% de esteira; e hemiplegia laringeana em 4,8% dos animais. Quanto a presença de secreção traqueal observou-se que ocorreu em 52,38% dos animais (11/21), destes 42,8% eram de puxar e 9,5% de esteira e que a hemorragia pulmonar ocorreu em 4,8% (1/21) sendo este de esteira confirmado via endoscópica a ocorrência de HPIE.

A tabela 4 descreve os valores de lactato e glicose sanguíneos antes e após o exercício, demonstrando o perfil de consumo energético bem como a capacidade atlética dos animais.

Tabela 1: Resultados do lavado traqueal e broncoalveolar nos cavalos de vaquejada 15 minutos após o teste de simulação de vaquejada.

Tipos celulares	Lavado Traqueal (%)		Lavado Broncoalveolar (%)		
	Puxar (n=13)	Esteira (n=8)	Puxar (n=13)	Esteira (n=8)	
Hemossiderófagos	12,00±2,73	13,25±4,62	15,75±2,93	14,62±3,41	
Monócitos	4,33±3,13	5,60±4,35	9,00±7,00	6,20±5,20	
Linfócitos	70,75±3,62 A	57,00 ±5,62 B	66,12±3,96	57,12±3,57	
Segmentados	12,33±3,98	23,25±5,38	12,75±3,72 a	25,50±3,45	b

Observação: médias na mesma linha seguidas de letras diferentes indicam que  $P < 0,05$  pelo teste T, sendo letras maiúsculas para o lavado traqueal e letras minúsculas para o lavado broncoalveolar.

Tabela 2: Biomarcadores fisiológicos em cavalos de vaquejada antes e após o teste de simulação de vaquejada.

Biomarcador	Cavalo de Puxar		Cavalo Esteira	
	Pré-teste	Pós-Teste	Pré-teste	Pós-Teste
FC, bpm	40,86±2,42 B	60,30±2,07 A	41,43±2,91 B	58,57±4,85 A
FR, mrp	22,57±4,38 B	63,71±8,62 A	22,28±2,52 B	44,28±4,83 A
Temperatura retal, oC	37,73±0,17 B	38,86±0,27 A	37,79±0,23 B	38,26±0,18 AB

Observações: diferentes letras na mesma linha, significa que  $P < 0,05$  pelo teste de Holm-Sidak. FC: Frequência cardíaca; bom: batimentos por minuto; FR: Frequência respiratória; mrp: movimentos respiratórios por minuto.

Tabela 3: Percentagem dos achados endoscópicos em cavalos de vaquejada utilizados no teste de simulação de vaquejada.

Tipo de Exercício	Via aérea						
	Superiores				Inferiores		
	HFL	GA	Condrite epiglote	Hiperemia epiglote	HL	ST	HP
Todos	9,5%	4,8%	23,8%	4,8%	4,8%	52,38%	4,8%
Puxar	4,7%	4,8%	9,5%	4,8%		42,8%	
Esteira	4,7%		14,28%		4,8%	9,5%	4,8%

Observações: HFL: Hiperplasia Folicular Linfóide; GA: Granuloma aritenóide; HL: Hemiplegia laringeana; ST: Secreção Traqueal; HP: Hemorragia pulmonar.

Tabela 4: Resultado do ANOVA com dois fatores (tipo de exercício e fase do exercício) em cavalos de vaquejada.

Biomarcador	Fases dos Testes				Tipo de Exercício	Fase do exercício	Interação Tipo x Fase do Exercício
	Pré teste	T + 15min	T +30min	T + 60min			
<b>Glicose, mg/dL</b>					P>0,05	P<0,05	P>0,05
<b>Puxar</b>	142,14±14,32	177,00±14,32	150,86±14,32	152,43±14,32			
<b>Esteira</b>	125,29±14,32	184,86±14,32	170,00±14,32	149,71±14,32			
<b>Média/fase</b>	133,71±10,12 B	180,93±10,12 A	160,43±10,12 AB	151,07±10,12 AB			
<b>Lactato, mg/dL</b>					P<0,05	P<0,05	P<0,05
<b>Puxar</b>	15.80±1.52 Ba	40.31±1.41 Aa	37.13 ±1.41 Ba	38.47±1.41 Ba			
<b>Esteira</b>	15.88 ±1.67 Ba	37.04 ±1.41 Aa	38.33±1.41 Aa	31.94 ±1.41 Bb			
<b>Média/fase</b>	15.84±1.13	38.68±0.99	37.73±0.99	35.21±0.99			

Observações: diferentes letras maiúsculas na mesma linha e minúsculas na mesma coluna do biomarcador, significam que P<0,05 pelo teste de Holm-Sidak.

## DISCUSSÃO

Na tabela 2, observou-se que não houve diferença entre os grupos, tendo diferença quando avaliadas as fases em cada grupo pré e pós teste em todos os parâmetros. Os cavalos de puxar pré teste apresentavam FC 40,86±2,42 e pós teste 60,30±2,07 e os cavalos de esteira 41,43±2,91 pré teste e 58,57±4,85 pós teste. Para a FR observou-se 22,57±4,38 pré teste e 63,71±8,62 para cavalos de puxar e 22,28±2,52 pré teste e 44,28±4,83 pós teste. Segundo Manso Filho et al. (1997), a frequência cardíaca de cavalos da raça puro sangue e quarto de milha varia entre 35 e 50 bpm corroborando com nossos achados. Santiago et al. (2013) avaliando cavalos de

vaquejada encontrou uma frequência cardíaca e respiratória de 42 bpm em cavalos de puxar e 36 mrpm em cavalos de esteira quando em repouso.

Durante o exercício, os valores de frequência cardíaca, respiratória e temperatura retal aumentaram entre cavalos do mesmo grupo. Lopes et al. (2009) mostrou que a frequência cardíaca e respiratória podem atingir valores 61 bpm e 44 mrpm em cavalos vaquejada, mas esses autores não explicaram que tipo de exercício (duração e intensidade) que os animais foram submetidos.

Recentemente, Manso Filho et al. (2013), demonstrou que os cavalos de puxar tinham uma frequência cardíaca máxima de 200 bpm usando monitor de frequência cardíaca depois de terem executado o mesmo protocolo com cavalos de vaquejada. Assim como Santiago et al. (2013), nesse estudo a frequência cardíaca foi medida apenas após o término do exercício usando um estetoscópio e esta metodologia não detectou esse nível de frequência cardíaca.

No entanto, é importante observar que em ambos os grupos a frequência cardíaca foi detectada abaixo de 60 bpm 15 min após o teste, mostrando que os cavalos tinham bom nível de treinamento. Em seu estudo, Santiago et al. (2013) encontrou valores abaixo de 50bpm 15 min após o teste.

Uma observação importante foi que a frequência respiratória em cavalos de puxar foi maior 15 min após o final do teste ( $63,71 \pm 8,62$ ), quando comparados aos cavalos de esteira ( $44,28 \pm 4,83$ ), apesar da diferença não ser estatisticamente significativa. Estas adaptações fisiológicas após exercício de alta intensidade observada nos cavalos puxar provavelmente demonstram que o nível de consumo de oxigênio pós exercício foi maior nestes cavalos quando comparado com os cavalos de esteira e pode refletir o seu modelo de gasto de energia, onde os cavalos puxar fazem mais exercício anaeróbico quando comparado com cavalos de esteira. Pode-se também sugerir que os cavalos de puxar exercem um esforço maior quando comparados aos de esteira.

Na tabela 1 encontram-se os tipos celulares observados nos LT e LBA após o teste de vaquejada. No lavado traqueal e no broncoalveolar não houve diferença estatística entre os grupos avaliados, porém em ambos os tipos de cavalos nos dois tipos de lavado observou-se a presença de hemossiderófagos que são células características de processos hemorrágicos.

Normalmente, cavalos são diagnosticados com HPIE quando vestígios de sangue são detectados na traqueia durante a endoscopia e/ou se houver presença de eritrócitos ou homossiderófagos no LBA (SÁNCHEZ et al., 2005). No estudo de Michelotto Jr et

al. (2011) a presença de hemossideróforos no LBA foi escolhido como marcador de HPIE e esteve associado com inflamação pulmonar nos animais avaliados determinado pelo aumento na atividade do mediador pró- inflamatório fator de ativação plaquetária e nos indicadores de estresse oxidativo (SILVA et al., 2013).

ARAYA et al., 2005 propôs um método semiquantitativo da gravidade da HPIE, através da contagem de eritrócitos recuperados no fluido do lavado broncoalveolar (LBA), realizado entre 30 e 60 minutos após o exercício. Adicionalmente, a presença dos hemossideróforos pode ser utilizada para detectar episódios prévios de hemorragia, pois eles mantêm-se presentes nas vias aéreas por até 3 semanas após um episódio de HPIE.

Em nosso estudo foi demonstrado a eficiência do LT e do LBA quando comparados a endoscopia, pois foram observados apenas 4,8% dos animais positivos na endoscopia em ambos os grupos e para LT  $12,000 \pm 2,732$  para animais de puxar,  $13,250 \pm 4,620$  para animais de esteira, LBA  $15,750 \pm 2,938$  para animais de puxar e  $14,625 \pm 3,412$  para animais de esteira, não sendo observado diferença entre LT e LBA.

Estes achados nos permitem afirmar que LT e LBA tem eficácia semelhante, sendo LT um procedimento de fácil execução e realizado simultaneamente ao exame endoscópico ou de forma menos onerosa por via transtraqueal.

Segundo Richard et al. (2010) admite-se no lavado traqueal a presença de  $0,9 \pm 1,9$  de hemossideróforos em cavalos normais. Mazan et al. (2005) em cavalos saudáveis não devemos encontrar hemossideróforos no lavado broncoalveolar. Silva et al. (2012) trabalhando com cavalos de pólo detectou a presença de hemossideróforos no lavado traqueal em todos os cavalos estudados. De modo semelhante, Sweeney et al. (1992) obtiveram hemossideróforos em lavados traqueais de 86% dos animais de corrida. Em nosso estudo observou-se que o percentual de cavalos sangradores no LT é menor (12%), possivelmente devido ao fato desses animais serem submetidos a um esforço submáximo ou a HPIE tratar-se de um evento patológico.

Holcombe (2006), considera como evento fisiopatológico para a HPIE, descrevendo que se trata de uma ruptura dos capilares pulmonares (falência pulmonar capilar) devido ao aumento da pressão transmural através do capilar, gerada tanto pelo aumento da pressão arterial pulmonar como pelas pressões pleurais negativas, sendo o bastante a presença hemossideróforos acima dos padrões normais, para caracterizar a enfermidade. Apesar de aceitar-se que são requeridas pressões elevadas para que ocorra a falência dos capilares pulmonares (WEST e MATHIEU-COSTELLO, 1994), cavalos



que realizaram exercício submáximo também apresentaram HPIE caracterizando a hemorragia como um evento patológico (EPP et al., 2006; VICCINO, 2007). Segundo nossos achados foram encontrados esse tipo celular em 15% dos cavalos de puxar e 14% dos cavalos de esteira no LBA, o que pode sugerir que o HPIE trata-se de um evento patológico, pois para ser um evento fisiológico teríamos que encontrar resultados semelhantes aos outros estudos, (ou seja um percentual elevado de cavalos acometidos) constituindo um dilema para o entendimento da fisiopatologia da HPIE (WEST, 2000).

Macrófagos e eosinófilos foram raramente encontrados (duas células em apenas 2 animais) demonstrando que possivelmente o LBA não seja o método diagnóstico de eleição para observar a presença desses tipos celulares, o que seria de grande valia para análise da HPIE, pois Kutasi et al. (2011) ao realizar cortes histológicos dos lobos caudais do pulmão de cavalos positivos para HPIE encontrou eosinófilos e justificou sua presença, ao fato desse tipo celular produzir metaloproteinases que poderiam degradar as fibras de colágeno, levando a um dano vascular e HPIE. Assim como a presença de macrófagos, pois verificou-se uma correlação entre o aumento desse tipo celular com hemorragia.

Em ambos os grupos tanto no LT como no LBA houve um aumento nos neutrófilos (segmentados), sendo significativo apenas no LBA. Segundo Kutasi et al. (2011) neutrofilia de 23% já é um sinal importante de um distúrbio pulmonar crônico, mas os valores de corte variam muito de acordo com a técnica utilizada e a população estudada. Demonstrando que os cavalos de esteira são mais susceptíveis a distúrbios pulmonares crônicos que cavalos de puxar, possivelmente isso deve-se ao fato de que em provas o cavalo de esteira é mais exigido por correr para mais de um cavalo de puxar. Porém em nosso estudo os cavalos foram submetidos a esforços iguais devendo estes achados refletirem experiências anteriores.

A tabela 3 descreve os achados endoscópicos encontrados nos cavalos 30 a 60 minutos pós prova, no qual foi encontrado: Hiperplasia Folicular linfóide em 9,5% dos animais, Granuloma aritenóide em 4,8%, condrite na epiglote em 23,8% dos quais 9,5% eram de puxar e 14,28% de esteira; e hemiplegia laringeana em 4,8% dos animais. ALMEIDA NETO (2009) encontrou 13,59% de animais acometidos pela hiperplasia folicular linfóide, o qual acredita que a possível causa dessa afecção seja em decorrência as condições inerentes a vaquejada, como frequentes exposições a poeiras e viagens constantes, desencadeando respostas inflamatórias faríngeas.

Para Holcombe (2005) os cavalos jovens desenvolvem inflamação nas vias aéreas craniais quando iniciam sua vida atlética, pois se tornam expostos a vários estímulos alergênicos ao serem submetidos aos treinamentos e viagens. Entretanto, a concentração e o tamanho dos folículos normalmente alteram-se com a idade, diminuindo rapidamente após três anos, conforme os animais desenvolvem imunidade. Em nosso estudo foi observado a ocorrência desta enfermidade, porém nenhum animal apresentou queda de performance corroborando com outros autores (BAYLY & SLOCOMBE, 1997; KING et al., 1994; TIMONEY, 1988) que afirmam que esta enfermidade pouco ou nada interfere na função do trato respiratório superior.

Em nosso estudo 4,8% dos animais foram acometidos pela hemiplegia laringeana. ALMEIDA NETO. (2009) também trabalhando com cavalos de vaquejada encontrou 20,39%. Resultados encontrados na literatura variaram de 1,8 a 16,65% (MUCCIACITO JÚNIOR, 2006). Essa variabilidade nos resultados depende fundamentalmente dos critérios adotados para o diagnóstico como por exemplo presença ou não de sinais clínicos de afecções do trato respiratório, realização do exame endoscópico em repouso ou em esteira, imediatamente após o exercício ou em repouso e qual o sistema de graduação empregado.

Via endoscópica foi encontrado hemorragia pulmonar em 4,8% dos animais estudados diferindo de resultados encontrados em cavalos de outras modalidades como corrida por exemplo. Essa diferença deve-se ao fato da vaquejada ser um esporte com exigências diferentes da corrida, tais como velocidade (que é menor que nas provas de corrida), tamanho e peso dos bois, qualidade técnica e peso corporal dos vaqueiros.

Quanto a presença de secreção traqueal observou-se que ocorreu em 52,38% dos animais (11/21), destes 42,8% eram de puxar e 9,5% de esteira e que a hemorragia pulmonar ocorreu em 4,8% (1/21) sendo este de esteira confirmando via endoscópica a ocorrência de HPIE. As secreções, visíveis a endoscopia foram classificadas segundo escore de 1-5 (HOLCOMBE, 2005). Pascoe (1981) definiu HPIE com base em observações endoscópicas de sangue nas vias aéreas após o esforço em cavalos de corrida, excluindo a possibilidade do sangue ser originado em outros locais e aspirado para traquéia, confirmando portanto sua origem pulmonar. Porém o exame endoscópico ainda é um método impreciso no diagnóstico da HPIE pois muitos cavalos sangram, mas esse sangramento não atinge a traquéia impossibilitando sua visualização via endoscopia. Segundo Sweeney e Beech. (1991) é provável que todos os cavalos de corrida apresentam algum grau de hemorragia pulmonar durante exercício intenso, mas

apenas 1% apresentam epistaxe, 50% são positivos no exame endoscópico e 100% positivos na lavagem broncoalveolar.

Na tabela 4 observa-se um aumento na glicólise devido ao aumento da glicose 15 minutos após a realização do teste e no T30 e T60 uma diminuição deste marcador próximo aos níveis basais para os dois grupos de cavalos. Corroborando com nossos achados, segundo Eaton, 1994 durante o exercício de alta velocidade as células somente podem manter o suprimento adequado de adenosina trifosfato (ATP) às células musculares pelo uso anaeróbico da glicose (Santiago, 2013). Em relação ao lactato seu aumento poderá ser usado para indicar a capacidade atlética do cavalo haja vista que animais que apresentam grande capacidade aeróbica geralmente têm baixas concentrações de lactato em resposta ao exercício e tem seu retorno aos valores basais em aproximadamente 1 hora após o término do exercício, assim como observamos no nosso estudo, no qual podemos inferir que os atletas possuíam um bom nível de treinamento.

## CONCLUSÕES

Conclui-se que a vaquejada é um esporte equestre que induz hemorragia pulmonar. Além disso é permitido concluir que o exame endoscópico, a citologia do lavado traqueal e broncoalveolar são ferramentas importantes para diagnosticar a HPIE, assim como que além de ser tão sensível quanto o LBA e de maior facilidade na execução para detectar o tipo celular predominante nessa afecção, mesmo quando o animal for negativo ao exame endoscópico.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA NETO, José Bezerra de. Avaliação endoscópica do trato respiratório superior e inferior proximal em cavalos de vaquejada. **Tese de Doutorado**, 2009.
2. ARAYA, O.; PALMA, P.; SALVI, M.; BUSTAMANTE, H.; VITS, L. Endoscopic determination of exercise-induced pulmonary haemorrhage in Chilean Criollo horses. Short communication. **The Veterinary Journal** 169 (2005) 311–313.

3. BAYLY, W.M.; SLOCOMBE, R. Airflow mechanics in models of equine obstructive airway disease under conditions simulating exercise. **Research Veterinary Science**, v.62, p.205-211, 1997.
4. BIAVA, J.S.;GONÇALVES, R.C.; BIONDO, A.W.; *et al.* Escore total de hemossiderófagos (THS) na hemorragia pulmonar induzida por exercício(EIPH) em cavalos quarto de milha. **Revista Acadêmica ciências agrárias ambientais**, v.6, n.3, p.335-340, 2008.
5. COUËTIL, L.L.; HOFFMAN, A.M.; HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 356-361, 2007.
6. COWELL RL.;TYLER RD, **Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse**. 2nd edition. Mosby St Louis, 1992.
7. DIXON, P.M.; RAILTON, D.I.; MCGORUM, B.C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. Part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. **Equine Veterinary Journal**. V.27, p.416-421. 1995.
8. DOUCET, M. Y.; VIEL, L. Clinical, radiographic, endoscopic, bronchoalveolar lavage and lung biopsy findings in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage. **Canadian Veterinary Journal**, v. 43, p 195-202, 2002.
9. EATON, M. D. Energetics and Performance – Structural Considerations in Equine Sports Medicine. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Ed.) **The Athletic Horse**. W. B. Saunders Company, 1994. cap. 4, p. 49-62.
- 10.EPP, T.S.; McDONOUGH, P.; PADILLA, D.J.; GENTILE, J.M.; EDWARDS, K.L.; ERICKSON, H.H.; POOLE, D.C. Exercise-induced pulmonary haemorrhage during submaximal exercise. **Equine Veterinary Journal Suppl**. v. 36, p. 502-507, 2006.
11. HEWSON, J e VIEL, L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. **Equine Respiratory Diseases**. 2002. Disponível em

<[http://www.ivis.org/special\\_books/Lekeux/viel/ chapter\\_frm.asp?LA=1](http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/ chapter_frm.asp?LA=1) >.  
Acesso em: 06.mai.2013.

12. HODGSON, J.L. ; HODGSON, D.R. Tracheal aspirates: indications, technique and interpretation. In: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5.ed., St. Louis: Saunders, 2003, p.401-406.
13. HOLCOMBE, S. J. Epidemiology of airway inflammation and mucus in horses. In Proceedings: **American Association of Equine Practitioners**, v. 51, p: 337 – 340, 2005.
14. HOLCOMBE, S.J., ROBINSON, N.E., DERKSEN, F.J., BERTOLD, B., GENOVESE, R., MILLER, R., DE FEITER RUPP, H., CARR, E.A., EBERHART, S.W., BORUTA, D., KANEENE, J.B. Effect of tracheal mucus and tracheal cytology on racing performance in Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal** 38, 300–304, 2006.
15. KING, C.; EVANS, D. ROSE, R. Cardiorespiratory and metabolic responses to exercise in horses with various abnormalities of the upper respiratory tract. **Equine Veterinary Journal**, V.26, P.220-225, 1994
16. KUTASI, O.; BALOGH, N.; LAJOS, Z.; NAGY, K.; SZENCI, O.; Diagnostic Approaches for the Assessment of Equine Chronic Pulmonary Disorders. **Journal of Equine Veterinary Science** 31 (2011) 400-410.
17. MANSO FILHO HC, COSTA HEC, SANTOS FL, MARQUES SR, VALENÇA RMB, CUNHA FSA. Evaluations of heart rates in endurance horses at the place of competition. **IV Congresso de Iniciação Científica/ UFRPE**, Imprensa Universitária, Recife, pp 90–93, 1997
18. LOPES KRF, BATISTA JS, DIAS RVC, SOTO-BLANCO B Influência das competições de vaquejada sobre os parâmetros indicadores de estresse em equinos. **Ciência Animal Brasileira** 10(2):538–543. 2009.
19. MANSO FILHO, H.C.; MANSO, H.E.C.C.C.; CARDOSO, E.A.; MELO, R.E.; SILVA, F.S.; ABREU, J.M.G. Avaliação da frequência cardíaca e do esforço físico em cavalos atletas pelo uso do frequencímetro. **Ciência Veterinária nos Trópicos** (in press). 2013.

20. MAZAN MR, VIN R, HOFFMAN AM. Radiographic scoring lacks predictive value in inflammatory airway disease. **Equine Vet J** 2005;37:541-5.
21. McKANE, S.A.; CANFIELD, P.J.; ROSE, R.J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary**, 1993.
22. MICHELOTTO, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A.L. et al. Pulmonary inflammation due to exercise-induced pulmonary haemorrhage in Thoroughbred colts during race training. **The Veterinary Journal**, v.190, n.2, p.e3-e6, 2011.
23. MUCCIACITO JÚNIOR, D.A. Estudo da correlação entre hemorragia pulmonar induzida por exercício e alterações das vias aéreas anteriores e traquéia identificadas por exame endoscópico em equinos da raça Puro Sangue Inglês no Jockey Club de São Paulo. 2006. 140f. **Dissertação** (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Clínica Cirúrgica Veterinária, Universidade de São Paulo.
24. NEWTON, J.R.; WOOD, J.L. **Evidence of an association between inflammatory**. 2002.
25. PASCOE JR, FERRARO GL, CANNON JH, et al. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in racing Thoroughbreds: A preliminary study. **Am J Vet Res** 1981;42:703–707.
26. RAPHEL CF, SOMA LR. Exercise-induced pulmonary hemorrhage in Thoroughbreds after racing and breeding. **Am J Vet Res** 1982;43: 1123–1127.
27. RICHARD EA, FORTIER GD, LEKEUX PM, VAN ERCK E. Laboratory findings in respiratory fluids of the poorly-performing horse. **Vet J** 2010;185:115-22.
28. RICHARD, E. A.; FORTIER, G.D.; PITEL, P.H.; DUPUIS, M.C. ; VALETTE, J.P.; ART, T.; DENOIX, J.M.; LEKEUX, P.M.; ERCK, E.V. ; Sub-clinical diseases affecting performance in Standardbred trotters: Diagnostic methods and predictive parameters. **The Veterinary Journal** 184 (2010) 282–289.
29. ROBERTS C, HILLIDGE C, MARLIN D. Exercise-induced pulmonary haemorrhage in racing Thoroughbreds in Great Britain. **International EIPH Conference**, Guelph, Ontario, Canada, September 21–22, 1993.

- 30.ROBINSON N. International workshop on equine chronic airway disease. **Equine Vet J** 2001;33:519.
- 31.SÁNCHEZ, A.; COUËTIL, L.L.; WARD, M.P.; CLARK, S.P. Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 1, p. 87–92, 2005.
- 32.SANTIAGO, T.A.; MANSO, H.E.C.C.C.; ABREU, J.M.G.; MELO, S.K.M.; MANSO FILHO, H.C. Blood biomarkers of the horse after field Vaquejada test. **Comp Clin Pathol** DOI 10.1007/s00580-013-1683-y, 2013.
- 33.SILVA, K.M.; OTAKA, J.N.P.; JORGE, M.L.A.L.; GONÇALVES, C.A.P.; ALENCAR, N.X.; LESSA, D.A.B. Escore de Hemossiderina em Citologia de Lavados Traqueais para Avaliação da Hemorragia Pulmonar Induzida por Exercício em Cavalos de Pólo. **Archives of Veterinary Science** ISSN 1517-784X v.17, n.2, p.40-45, 2012.
- 34.SILVA, M.M.; EISENBACK, Y.D.; DURÃES, E.M.N.; SILVA, K.R.; LUIS BASTOS, F.C.; MICHELOTTO JÚNIOR, P.V. Evidência de Hemorragia Pulmonar Induzida pelo Exercício em Cavalos de Salto. **Archives of Veterinary Science** ISSN 1517-784X v.18, n.3, p.61-67, 2013.
35. SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. **Equine Respiratory Disorders**. Philadelphia: Lea&Febiger, 1991. cap. 4, p. 55-61.
- 36.SWEENEY, C.R.; HUMBER, K.A. Cytologic findings of tracheobronchial aspirates from 66 thoroughbred racehorses. **American Journal of Veterinary Research**, v.53, n.7, p.1172-5,1992.
- 37.TIMONEY, J. Shedding and maintenance of Streptococcus equi in typical and atypical strangles. In: **Proceedings of the Fifth International Conference**. Lexington: University Press of Kentucky; Lexington, p.28-33, 1988.
- 38.VICINO, C. Ocorrência de hemorragia pulmonar induzida por esforço em cavalos de salto no estado de São Paulo. São Paulo, 66f. **Dissertação** (Mestrado), Curso de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo. 2007.
- 39.WEST, J.B. Pulmonary capillary stress failure. **Journal of Applied Physiology**, v.89, n.6, p.2483-2489, 2000.

40. WEST, J.B.; MATHIEU-COSTELLO, O. Stress failure of pulmonary capillaries as a mechanism for exercise induced pulmonary haemorrhage in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v.26, n.6, p.441-447, 1994.
41. WHITWELL, K.E.; GREET, T.R.C. Collection and evaluation of tracheobronchial washes in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v.16, n.6, p.499-508, 1984.
42. WILSHER, S., ALLEN, W.R., WOOD, J.L. Factors associated with failure of thoroughbred horses to train and race. **Equine Veterinary Journal** 38, 113–118, 2006.