

CLARISSE MARIE-LAURE BREDÁ

**GRAU DE ESPESSAMENTO DA CARINA BRÔNQUICA
E DE QUANTIDADE DE MUÇO NA TRAQUEIA COMO
INDICADOR DE INFLAMAÇÃO DAS VIAS
RESPIRATÓRIAS INFERIORES EM EQUINOS**

Orientador: Doutor João Rodrigues

Co-orientador: Doutor Manuel Pequito

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

CLARISSE MARIE-LAURE BREDÁ

**GRAU DE ESPESSAMENTO DA CARINA BRÔNQUICA E
DE QUANTIDADE DE MUÇO NA TRAQUEIA COMO
INDICADOR DE INFLAMAÇÃO DAS VIAS
RESPIRATÓRIAS INFERIORES EM EQUINOS**

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária no curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Orientador: Doutor João Rodrigues

Co-orientador: Doutor Manuel Pequito

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2014

Agradecimentos

Embora uma dissertação seja, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, a sua realização não seria possível sem a contribuição de diversas pessoas, às quais pretendo deixar os meus sinceros agradecimentos:

Ao Professor João Rodrigues, meu orientador, pela total disponibilidade que demonstrou para me esclarecer sobre as inevitáveis dúvidas que foram surgindo, pela partilha de informação, e por me ter apoiado e aconselhado em inúmeras ocasiões.

Ao Professor Manuel Pequito, o meu sincero agradecimento pela co-orientação neste trabalho. Muito obrigada pelo profissionalismo, pela sincera amizade e pela total disponibilidade que sempre revelou para comigo. O seu apoio foi determinante na elaboração deste trabalho.

À Dra. Valérie Picandet, por todos os ensinamentos durante o decorrer do estágio, que muito elevaram os meus conhecimentos científicos e, sem dúvida, muito estimularam o meu desejo de querer, sempre, saber mais e a vontade constante de querer fazer melhor.

A todos os Professores da FMV-ULHT, por todo o esforço e dedicação para levar o nosso curso avante, pelo conhecimento transmitido ao longo dos anos.

À minha família, em especial aos meus pais, ao meu irmão e aos meus avós, um enorme obrigada por acreditarem sempre em mim e naquilo que faço e por todos os ensinamentos de vida. Espero que esta etapa, que agora termino, possa, de alguma forma, retribuir e compensar todo o carinho, apoio e dedicação que, constantemente, me ofereceram. A eles, dedico todo este trabalho.

Ao José Henriques, meu namorado, pela grande ajuda na elaboração deste trabalho e por todo o apoio e amizade ao longo do curso, principalmente nesta última fase.

A todos os meus colegas e amigos, em especial à Mariana Sardinha e Inês Sousa pela grande entreatajuda, amizade, e boémia ao longo destes anos.

À Lília Arcanjo por todo o apoio e incentivo que me deu ao longo de todo este meu percurso académico.

À Clinique Equine de Livet, em especial à Maddalena Bacchetta e as cinco internas, pela amizade e pela disponibilidade em ajudar, sempre que necessário.

Resumo

O tema abordado neste trabalho incide sobre grau de espessamento da carina brônquica e de quantidade de muco na traqueia como indicador de inflamação das vias respiratórias inferiores em equinos. Estas alterações são observadas em doenças respiratórias como a doença inflamatória das vias aéreas e a doença obstrutiva recorrente. Estas doenças afectam um grande número de cavalos, e os indicadores foram medidos através de uma endoscopia das vias aéreas.

Uma vez que a relevância da medição de parâmetros como o grau de espessamento da carina brônquica e a quantidade de muco na traqueia estão pouco estudados, o objetivo deste trabalho é contribuir para um melhor esclarecimento sobre o mesmo, bem como, determinar esta mesma relevância.

Foram realizadas endoscopias e lavagens broncoalveolares a 253 animais, nas quais foram estabelecidos *scores* de muco na traqueia e na carina brônquica e avaliado o grau de espessamento da carina brônquica. Através de testes estatísticos foram avaliadas as relações entre estes mesmos *scores* e as percentagens das células resultantes da citologia da lavagem broncoalveolar. Outro teste efetuado foi a avaliação da relação entre a idade e a quantidade de muco.

Os resultados do trabalho comprovaram que a utilização de escalas de quantidade de muco e do espessamento da carina brônquica não é um indicador fiável de inflamação das vias aéreas inferiores dos equinos. No entanto, a avaliação do espessamento da carina brônquica é fiável quando avaliamos esta quanto à presença ou não de espessamento. Outra conclusão retirada deste estudo é que a idade do animal é proporcional à quantidade de muco presente na traqueia.

Palavras-chave: doenças respiratórias, endoscopia, lavagem broncoalveolar, carina brônquica, equinos.

Abstract

The issue addressed in this paper focuses on the degree of thickening of the bronchial carina and amount of mucus in the trachea as an indicator of inflammation of the lower respiratory tract in horses. These changes are seen in respiratory diseases such as inflammatory airway disease and recurrent obstructive disease. These diseases affect a large number of horses, and the indicators were measured using an endoscopy of the airways.

Since the relevance of the measurement of parameters such as the degree of thickening of the bronchial carina and the amount of mucus in the trachea are understudied, the aim of this work is to contribute to a better clarification on these topics, as well as determine this relevance's level.

Endoscopies and bronchoalveolar lavages were performed on 253 animals, in which were established scores regarding presence of mucus in the trachea and bronchial carina, and was also assessed the degree of thickening of the bronchial carina. Through the use of statistical tests it was possible to assess the relation between the established scores, as well as the percentages of cells resulting from the cytology of bronchoalveolar lavage. It was also performed a test to assess the relation between age and the amount of mucus.

The findings demonstrate that the use of scales for the amount of mucus and the thickening of the bronchial carina is not a reliable indicator of inflammation of the lower airways of horses. Nevertheless, the assessment of the thickening of the bronchial carina is reliable when it is assessed regarding the presence or absence of thickening. Another conclusion to be drawn from this study is that the age of the animal is proportional to the amount of mucus existing in the trachea.

Key-words: respiratory diseases, endoscopy, bronchoalveolar lavage, bronchial carina, equines.

Índice

AGRADECIMENTOS.....	2
RESUMO	4
ABSTRACT	5
ÍNDICE DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	8
ÍNDICE DE TABELAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
1.INTRODUÇÃO	12
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1. Doença inflamatória das vias aéreas	13
2.1.1. Definição	13
2.1.2. Incidência e epidemiologia	13
2.1.3. Etiopatogenia	14
2.1.4. Apresentação clínica	16
2.1.5. Diagnóstico	17
2.1.6. Diagnósticos diferenciais.....	24
2.1.7. Tratamento	26
2.1.8. Profilaxia	35
2.1.9. Prognóstico	36
2.2. Doença obstrutiva recorrente das vias aéreas	36
2.2.1. Definição	36
2.2.2. Epidemiologia.....	37
2.2.3. Apresentação clínica	38
2.2.4. Etiopatogenia	39
2.2.5. Diagnóstico	42
2.2.6. Diagnósticos Diferenciais.....	45
2.2.7. Tratamento	45
2.2.8. Profilaxia	45
2.2.9. Prognóstico	46
3. ESTUDO	47
3.1. Justificação.....	47
3.2. Objetivos.....	47

3.3.	Materiais & métodos	48
3.3.1.	Amostra	48
3.3.2.	Crítérios de seleção	48
3.3.3.	Limitações ao estudo	48
3.3.4.	Avaliação endoscópica por vídeo	48
3.3.5.	Citologia da lavagem broncoalveolar.....	50
3.3.6.	Análise estatística.....	50
3.4.	Resultados.....	51
3.5.	Discussão	55
4.	Conclusão.....	58
5.	Bibliografia.....	59

Índice de abreviaturas e símbolos

% - Percentagem

< - Menor que

> - Maior que

ACVIM - American College of Veterinary Internal Medicine

ADN - Ácido Desoxirribonucleico

AINES - Anti-Inflamatórios Não Esteróides

C_{dyn} - Complacência dinâmica

cm - Centímetro

EADDS – Equine aerosol drug delivery system

EHV - Equine Herpesvirus

H₂O - Símbolo químico da água

HPIE - Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço

IAD - Inflammatory Airway Disease

IFN - Interferão

Ig - Imunoglobulina

IL - Interleucina

IM - Intramuscular

IV - Intravenosa

kg - Quilograma

LBA - Lavagem Broncoalveolar

LT - Lavagem traqueal

mg - Miligrama

ml - Mililitro

mm - Milímetro

mm/hg - Milímetros de mercúrio

nm - Nanômetro

°C - Graus Celsius

PaO₂ - Pressão arterial de oxigênio

PCR - Polymerase Chain Reaction

PO - *Per os*

P_{plmax} - Pressão transpulmonar

RAO - Recurrent Airway Obstruction

RL - Resistência Pulmonar

SID - *Semel in die*

Th - *T helper*

UI - Unidades Internacionais

VO₂ max - Volume de oxigénio máximo

α - Alfa

β - Beta

Δ - Variações / alterações

μg - Micrograma

μm - Micrómetros

Índice de Tabelas

Tabela 1: Valores normais da citologia da lavagem broncoalveolar (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).....	22
Tabela 2: Terapia por via sistêmica de doença inflamatória das vias aéreas (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).....	29
Tabela 3: Terapia por aerossol e nebulização de doença inflamatória das vias aéreas (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).....	32
Tabela 4: <i>Score</i> de muco no lúmen da traqueia (Adaptado de Ramzan <i>et al.</i> , 2008).....	49
Tabela 5: <i>Score</i> de espessamento da carina brônquica (Adaptado de Picandet <i>et al.</i> , 2009)...	49

Índice de Figuras

<u>Figura 1: Técnica de lavagem broncoalveolar sem endoscópio (foto do autor).</u>	20
<u>Figura 2: Material de lavagem broncoalveolar (foto do autor).</u>	20
<u>Figura 3: Amostra resultante da lavagem broncoalveolar (foto do autor).</u>	21
<u>Figura 4: Citologia da lavagem broncoalveolar de um cavalo afectado por IAD, preparada com a coloração Wright's. (a) Vários neutrófilos não degenerados (setas vermelhas), macrófagos alveolares (seta preta), e alguns linfócitos (seta azul). (b) Mastócito (seta), junto a um macrófago alveolar e um pequeno linfócito. (c) Eosinófilo (seta); (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).</u>	22
<u>Figura 5: Vários dispositivos de fornecimento de aerossol utilizadas no cavalo. (a) Compressor (PRONEB®) ligado a um nebulizador montado num dispositivo Equine Aeromask™. (b) Tratamento com o dispositivo Equine Aeromask™. (c) Tratamento com o dispositivo AeroHippus. (d) Tratamento com o dispositivo Equine Haler™. (e) Tratamento com o dispositivo 3M™ Equine (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).</u>	34
<u>Figura 6: Citologia da lavagem broncoalveolar de um cavalo afectado por RAO, preparada com a coloração Wright's. Vários neutrófilos não degenerados (setas vermelhas), macrófagos alveolares (setas pretas), e alguns linfócitos (setas azuis); (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).</u>	43
<u>Figura 7: Diferentes graus de acumulação de muco no lúmen da traqueia (foto cedida pela Dra. Valérie Picandet).</u>	49
<u>Figura 8: Diferentes graus de espessamento da carina brônquica (foto cedida pela Dra. Valérie Picandet).</u>	49
<u>Figura 9: Relação entre a idade do cavalo e a quantidade de muco presente na traqueia e carina brônquica.</u>	51
<u>Figura 10: Relação entre o grau de muco e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).</u>	52
<u>Figura 11: Relação entre o grau de carina brônquica e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).</u>	52
<u>Figura 12: Relação entre a presença ou ausência de muco e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).</u>	53
<u>Figura 13: Relação entre a presença ou ausência de espessamento da carina brônquica e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).</u>	54

1. Introdução

As doenças respiratórias continuam a ser um grande problema na medicina equina suscitando o interesse de inúmeros investigadores. Nos equinos atletas a doença respiratória é a causa mais importante na diminuição da performance desportiva, interrupção do treino e invalidez prematura para competições, a seguir às doenças musculoesqueléticas. As afecções respiratórias mais comuns que surgem no trato respiratório inferior serão discutidas neste trabalho, e são elas a doença inflamatória das vias aéreas – Inflammatory Airway Disease (IAD) – e a doença obstrutiva recorrente das vias aéreas – Recurrent Airway Obstruction (RAO).

A endoscopia é a ferramenta de diagnóstico mais importante para a avaliação de afeções respiratórias nos equinos. Sistemas de pontuação endoscópicos têm sido utilizados para a avaliação subjetiva, semi-quantitativa de acumulação e aparecimento de secreções das vias aéreas e para a quantificação do espessamento da carina brônquica. Contudo, a falta de validação de *scores* de muco e de carina brônquica a nível endoscópico, torna a interpretação dos resultados, a comparação entre estudos e comunicação entre clínicos difíceis e incertos.

O objetivo principal deste trabalho é avaliar a relevância clínica da quantificação do espessamento da carina brônquica e da presença de muco na traqueia e carina brônquica como método de diagnóstico de inflamação das vias aéreas inferiores em equinos.

Para este efeito, foram realizados vários testes estatísticos de forma a perceber a potencial utilização de sistemas de pontuação para a acumulação de muco e para o espessamento da carina brônquica como indicadores de inflamação das vias aéreas inferiores dos equinos.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Doença inflamatória das vias aéreas

2.1.1. Definição

A doença inflamatória das vias aéreas (IAD) afeta majoritariamente os cavalos de desporto, principalmente os que se destinam às corridas. A duração da doença inflamatória das vias aéreas inferiores é cerca de 4 a 22 semanas, com uma média de 8 semanas (Couëtil & Hawkins, 2013).

O *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM), no seu *Consensus Statement* propôs a utilização dos seguintes critérios mínimos para definir o fenótipo IAD em cavalos de qualquer idade: baixa performance, intolerância ao exercício, tosse com ou sem excesso de muco traqueal, inflamação não séptica detetada pelo exame citológico da lavagem broncoalveolar (LBA), disfunção pulmonar com base em evidências de obstrução das vias aéreas inferiores, hiperresponsividade, ou comprometimento na troca gasosa arterial tanto em repouso como durante o exercício. Nos critérios de exclusão de IAD, encontra-se descrito a evidência de sinais sistémicos de infeção – febre, alterações hematológicas compatíveis com infeção – e aumento do esforço respiratório em repouso (Couëtil *et al.*, 2007).

2.1.2. Incidência e epidemiologia

A IAD é a doença crónica das vias aéreas mais comum em cavalos de corrida (Couëtil & Hawkins, 2013) e foi identificada como a segunda maior causa de falha desportiva em jovens puro-sangue (Van Erck-Westergen *et al.*, 2013). No entanto, a doença pode ocorrer em cavalos de todas as disciplinas e de todas as idades. Em cavalos que não são de corrida ou em cavalos de desporto, a IAD é geralmente diagnosticada numa idade mais avançada do que em cavalos de corrida (Robinson, 2003). Segundo Sweeney (1992 a), a prevalência é de 20% a 80% entre os cavalos de corrida em treino. Esta variação na prevalência pode ser refletida nos diferentes métodos de diagnóstico utilizados. Por exemplo, a quantidade de exsudado traqueal detetado por endoscopia aumenta em função da intensidade do exercício e, consequentemente, poderá perder-se o diagnóstico de IAD se a endoscopia for realizada em repouso. Um segundo fator que contribui para o intervalo em taxas de prevalência é a idade do cavalo avaliado. Num estudo epidemiológico de cavalos jovens de corrida na Grã-Bretanha, a taxa de prevalência de IAD diminuiu com a idade. No resultado deste estudo observou-se que em cavalos de 4 anos de idade

a taxa foi de 2%, em comparação com 9% em cavalos de 2 anos. A relação entre IAD em cavalos jovens e a RAO em cavalos adultos é desconhecido (Wood *et al.*, 2005).

Na maioria dos jovens cavalos de corrida a IAD soluciona-se, mas mantém-se persistente numa minoria (Robinson, 2003). Robinson (2001) sustenta que IAD progride para RAO.

2.1.3. Etiopatogenia

A causa definitiva da inflamação das vias aéreas inferiores observada em cavalos com IAD é atualmente desconhecida. Pode ser multifatorial, com uma relativa importância de um agente causador dependente da idade do cavalo, do seu meio ambiente e da sua utilização desportiva. A IAD reflete a resposta do pulmão à presença de um ou todos os seguintes fatores: um baixo grau de infeções bacterianas ou virais persistentes, sangue autólogo proveniente de hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) e a inalação de poeiras estáveis, fungos, endotoxinas, partículas ou poluentes ambientais, como o sulfeto de hidrogénio, amónia, ozono, dióxido de enxofre, óxido de nitrogénio e monóxido de carbono (Ainsworth & Cheetham, 2010).

O papel da infeção bacteriana é controverso. A inflamação da traqueia e a presença de bactérias são comuns em cavalos, especialmente nos cavalos de corrida. A probabilidade de isolar bactérias a partir de amostras recolhidas em cavalos de corrida na lavagem traqueal (LT) em treino está fortemente associada com a gravidade da inflamação. No entanto, as bactérias podem estar presentes na traqueia devido à contaminação durante a amostragem ou pode representar uma colonização transitória das vias aéreas proximais. Em cavalos afetados com IAD não ocorre crescimento bacteriano a partir de amostras da LT em 54% dos mesmos. Além disso, a traqueia não é um ambiente estéril e bactérias potencialmente patogénicas podem ser isoladas por LT em 25% dos cavalos saudáveis, com o isolamento de organismos não patogénicos em 75% desses cavalos (Fortier *et al.*, 2009).

O sangue autólogo derivado do rompimento de capilares pulmonares durante o exercício intenso, também tem sido apontado como uma das causas de IAD. A instilação de sangue provoca uma reação inflamatória pulmonar de neutrófilos nos pulmões, o que sugere que a hemorragia pulmonar pode contribuir para IAD (Tyler *et al.*, 1991). No estudo de McKane & Slocombe (2002), a inoculação de sangue na árvore brônquica de cavalos de corrida induziu uma resposta inflamatória 8 a 14 dias mais tarde, caracterizada pelo aumento da atividade dos

macrófagos, espessamento da carina brônquica e presença de colagénio. A associação entre IAD e HPIE está descrita em alguns estudos, mas noutros não está confirmada (Couëtil & Hawkins, 2013).

Agentes não infecciosos poderão ter um papel fundamental no desenvolvimento da IAD (Gerber *et al.*, 2003). Cavalos alojados em estábulos estão potencialmente expostos a altas cargas de partículas de aerossol e gases, de forma cumulativa. Altas concentrações de poeira são comuns no ambiente de estábulos convencionais e vários estudos têm identificado a introdução de cavalos em estábulos como um fator de risco para IAD (McGorum *et al.*, 1998). Dentro deste contexto, a fração respirável pode conter uma grande variedade de partículas orgânicas e inorgânicas, incluindo endotoxinas, partículas ultra finas (<100 nm de diâmetro), microrganismos, restos de ácaros, material vegetal, pós inorgânicos e gases nocivos (Couëtil *et al.*, 2007).

Os poluentes ambientais têm sido apontados como uma das causas de IAD. A exposição a poluentes atmosféricos tais como o ozono, o dióxido de azoto, o monóxido de carbono e o dióxido de enxofre e gases nocivos presentes em estábulos, tais como o amoníaco, o sulfureto de hidrogénio e de metano, têm o potencial de causar IAD em cavalos (Wood *et al.*, 2005). No caso do ozono, Mills *et al.* (1996) verificaram que quando os cavalos saudáveis foram expostos ao ozono, os índices de *stress* oxidante no fluido de revestimento epitelial pulmonar aumentam, o que foi semelhante aos encontrados em cavalos com um mau desempenho. No entanto, estas alterações podem ocorrer em doença pulmonar não induzida por ozono (Ainsworth & Cheetham, 2010).

A contribuição relativa dos diferentes fatores ambientais e dos estábulos é, em grande parte, desconhecida para IAD. Em contraste, existe evidência clínica e experimental considerável para o papel de alergénios em forma de aerossóis e endotoxinas de feno e de camas na etiologia de RAO (Pirie *et al.*, 2002). Alguns cavalos com IAD demonstram maior percentagem de eosinófilos ou mastócitos, sugerindo um mecanismo de hipersensibilidade de tipo I em resposta a alergénios (Couëtil & Hawkins, 2013).

Outro fator ambiental que pode contribuir para o desenvolvimento de IAD é a temperatura do ar inspirado. Em estudos experimentais com cavalos a realização de exercício submáximo com refrigeração do ar inspirado até -5°C foi associado com um aumento modesto na percentagem de neutrófilos na LBA – 16% *versus* 11% no grupo controlo – medido 24 horas após o fim do exercício. Aumentos

significativos de IL (interleucinas) 1, IL-5, IL-6, IL-8 e IL-10 na LBA foram observados (Davis *et al.*, 2007).

2.1.4. Apresentação clínica

Sinais clínicos

A IAD é frequentemente subclínica, mas em alguns casos pode estar associada a um mau desempenho desportivo, ao aumento das secreções respiratórias e tosse (Burrell *et al.*, 1996). A tosse pode ocorrer em repouso ou em exercício, mas a ausência de tosse não exclui o diagnóstico de IAD (Couëtil *et al.*, 2007). Assim, a tosse é relatada em 38% dos cavalos de corrida com IAD, mas 85% dos cavalos que apresentam tosse têm IAD. Estudos epidemiológicos de cavalos de corrida puro-sangue em treino demonstraram uma forte associação entre tosse, a quantidade de muco presente nas vias aéreas superiores e a hiperplasia linfóide da faringe (Couëtil & Hawkins, 2013).

O corrimento nasal, seroso a mucopurulento, também é um dos sintomas comumente observados; ocorre, geralmente, mais em cavalos jovens e é raro em cavalos mais velhos (Burrell *et al.*, 1996). Quanto à auscultação torácica, é usualmente normal mas os cavalos afetados podem, ocasionalmente, apresentar aumento dos murmúrios vesiculares ou sibilos, particularmente durante manobras de reinalação (Couëtil & Hawkins, 2013). Em cavalos que apresentam uma IAD moderada a grave, poderão ter as taxas respiratórias aumentadas e a respiração abdominal reforçada. No entanto, se as alterações de pressão pleural máximas são medidas, elas estarão dentro do intervalo normal de referência – <10 cm H₂O (Couëtil *et al.*, 2001).

O efeito da IAD no desempenho desportivo é dependente do nível de exercício e da gravidade da doença. As trocas gasosas pulmonares são o fator limitante de desempenho em cavalos de desporto, pois é observada uma hipoxia arterial acentuada induzida pelo exercício e uma hipercápnia desenvolvida por cavalos de corrida saudáveis. Durante uma corrida, os cavalos encontram-se acima da capacidade aeróbia máxima – VO₂ máx. Nesta situação, um grau relativamente leve de IAD pode prejudicar significativamente as trocas gasosas, resultando na diminuição do desempenho. A doença inflamatória das vias aéreas inferiores é pouco provável de causar intolerância ao exercício num cavalo de *dressage*, que utiliza 50% de VO₂ máx., mas poderá afectar quando a doença provocar uma acentuada obstrução do fluxo de ar ou uma tosse frequente (Widmer, 2009).

Endoscopia

Os sinais clínicos acima descritos são inespecíficos da doença IAD. Testes de diagnóstico adicionais devem ser considerados em cavalos que não respondem à terapia sintomática ou para confirmar um diagnóstico presuntivo de IAD (Couëtil *et al.*, 2007).

A endoscopia é o método complementar para diagnóstico da IAD. Esta deverá ser realizada após o exercício visto que é o período em que há uma maior quantidade de muco traqueal (Couëtil *et al.*, 2007). Os cavalos afetados podem apresentar múltiplos depósitos de muco ao longo da traqueia, uma grande acumulação de muco na entrada torácica, ou ainda um fluxo contínuo de largura variável. Uma excessiva quantidade de muco nas vias aéreas é comum em cavalos de corrida afetados, com maior prevalência em poldros e em cavalos de 2 anos de idade, diminuindo o muco presente com a idade. Nos cavalos de lazer o mesmo não acontece, ou seja, a quantidade de muco observada nas vias aéreas aumenta com a idade. Em cavalos saudáveis, a quantidade de secreções traqueais não são afetadas pela idade (Couëtil & Hawkins, 2013).

Alguns relatos afirmam que a inflamação pulmonar está associada ao espessamento do septo traqueal (Koch *et al.*, 2007).

2.1.5. Diagnóstico

Sinais clínicos

Uma anamnese detalhada e um exame físico completo de animais com IAD deve apresentar sinais clínicos incluindo tosse, aumento das secreções respiratórias e mau desempenho (Burrell *et al.*, 1996).

Lavagem traqueal

Este procedimento permite a colheita de amostras de secreções traqueais adequadas para citologia, mas limitadas para culturas microbiológicas fidedignas. Para a realização da técnica é necessário o uso do endoscópio. Este permite a visualização das vias aéreas inferiores e ao mesmo tempo permite a aspiração alvo de sítios específicos. Um endoscópio flexível é passado na forma habitual através da cavidade nasal para a traqueia. Quando a ponta atinge a traqueia distal, o cateter é passado para baixo do canal de biopsia, até que seja observado na extremidade.

Uma solução salina estéril (10-15 ml) é injetada através do cateter, o qual forma uma acumulação à entrada torácica. A ponta do cateter é posicionada nesta acumulação e a amostra é aspirada. Apenas uma pequena porção do fluido fornecido é suscetível de ser recuperado (Taylor *et al.*, 2010).

A presença de inflamação traqueal não foi considerada suficiente para caracterizar IAD, em parte devido à discordância da citologia da LT e da citologia da LBA, tal como a discordância entre os achados citológicos da LT e o desempenho desportivo. A associação entre a inflamação da LT – neutrófilos > 20% – e a tosse é reconhecida, mas o uso da citologia da LT foi considerado insuficiente para o diagnóstico de IAD (Couëtil *et al.*, 2007); (Ainsworth & Cheetham, 2010).

Lavagem broncoalveolar

A LBA é um método para recuperar uma amostra de células que ocupam as paredes das vias respiratórias e dos alvéolos. A citologia da LBA fornece uma "janela" microscópica sobre o estado dos tecidos adjacentes a espaços aéreos (Hoffman, 1999). A LBA é ideal para a avaliação das vias aéreas inferiores e doenças alveolares (Taylor *et al.*, 2010). A técnica da LBA tem sido amplamente utilizada para caracterizar a prevalência e consequências clínicas da inflamação das vias aéreas em cavalos e para separar os aspetos temporais dos mediadores inflamatórios – citocinas, mieloperoxidasas, proteases/antiproteases – em RAO e IAD, bem como potenciais terapias para estas condições (Hoffman, 2008). É considerado um teste de diagnóstico sensível para IAD (Hoffman, 1999).

O método da LBA foi originalmente concebido pelo Laurent Viel na Universidade de Guelph em Ontario nos últimos anos da década de 70, para melhor caracterizar a doença das vias aéreas inferiores em cavalos (Hoffman, 2008). Em primeiro lugar, desenvolveu uma técnica à qual era necessário o uso de um endoscópio e, posteriormente, desenvolveu uma técnica não endoscópica (Hoffman, 1999). Quando realizada “às cegas”, o segmento de pulmão lavado é desconhecido e a técnica não deve, portanto, ser utilizada na suspeita ou em caso de doenças pulmonares focais. A endoscopia permite a colocação mais precisa da sonda de lavagem, mas o local pode ser, por vezes, de difícil acesso (Taylor *et al.*, 2010).

Estudos anteriores examinaram a reprodutibilidade e influências do local, do volume de lavagem e da LBA sobre os resultados da citologia da mesma (Hoffman, 2008). A técnica da LBA não teve nenhum efeito sobre a subsequente citologia. O exercício não alterou a citologia da LBA, embora seja habitual executar a LBA após o exercício, pois o muco pode ser observado

mais facilmente (Clark *et al.*, 1995). dos tipos de células diferença em pulmões, esquerdo aumento de pulmão esquerdo (1992 b).



neste momento Embora a maioria não mostraram uma amostras dos dois e direito, havia um mastócitos no (Sweeney *et al.*,

Segundo Hoffman (2008), o uso de uma lavagem de volume maior – 300 a 500 ml – ultrapassa estas inconsistências, provavelmente devido à maior área de superfície da amostra.

A LBA deve ser um procedimento realizado com o animal em estação, sedado e poderá ser realizada com endoscópio ou utilizando a técnica dita cega, ou seja, sem endoscópio – Figura 1 (Taylor *et al.*, 2010). Certos aspectos, para uma boa realização da técnica de LBA, deverão ser respeitados: o animal deverá ser contido de forma a evitar o movimento da cabeça para não haver uma mudança de posição da sonda de lavagem e do possível endoscópio utilizado, o reflexo de tosse deverá ser minimizado durante o procedimento e uma sedação de curta duração é apropriada sendo o tempo da realização da técnica menos de 10 minutos (Hoffman, 1999). Na contenção química é habitual utilizar xilazina – 0,5-0,75 mg/kg por via intravenosa [IV] – ou detomidina – 0,005-0,01 mg/kg IV – com ou sem a adição de butorfanol – 0,02-0,04 mg/kg IV – antes da introdução do instrumento (Hoffman, 2008). A xilazina e a detomidina têm propriedades broncodilatadoras que poderão diminuir a tosse e o broncoespasmo (Hoffman, 1999). O butorfanol reduz significativamente a tosse quando realizada a LBA (Westermann *et al.*, 2005). Como contenção física, um aziar poderá ser necessário para evitar movimentações da cabeça do animal e facilitar a entrada do instrumento pela cavidade nasal (Hoffman, 1999).

Para reduzir a probabilidade de ocorrência de tosse, um broncodilatador é administrado
Figura 1: Técnica de lavagem broncoalveolar sem endoscópio (foto do autor).

antes da lavagem. Um broncodilatador de rápido efeito como o albuterol aerossol – 450 µg –, o brometo de itratrópio aerossol ou a aminofilina – 1mg/kg – intravenosa podem ser utilizados. Para fornecer mais contenção e minimizar a tosse e desconforto, uma solução de lidocaína – 150 ml, 0.5% – aquecida e preparada dentro de várias seringas de 60 ml, é instilada para as vias aéreas enquanto a sonda está a ser colocada (Hoffman, 1999). Na técnica sem endoscópio, as sondas têm geralmente um diâmetro externo de 11 mm e têm um balonete insuflável na extremidade distal (Figura 2). Com a cabeça do cavalo estendida, a sonda é colocada da mesma forma que o endoscópio, através da nasofaringe na traqueia, até que um reflexo da tosse seja provocado. Quando a sonda se encontrar colocada e não avançar mais – a sonda comumente entra no pulmão dorsocaudal direito –, o balonete é insuflado suavemente com 5 a 10 ml de ar e a lavagem é realizada.



Figura 2: Material de lavagem broncoalveolar (foto do autor).

Na técnica com endoscópio, o endoscópio é no mínimo de 120 cm e é passado na forma habitual até à carina e, em seguida, até um brônquio principal. Avança-se

para baixo da árvore brônquica e a lavagem é realizada através de um cateter introduzido no canal de biópsia (Taylor *et al.*, 2010).

O volume e o tipo de fluido usado para a LBA são uma questão de preferência pessoal. A maioria dos médicos veterinários utiliza soro fisiológico estéril, pré-aquecido (Taylor *et al.*, 2010). Para a contagem citológica da LBA ser consistente, deverá ser utilizado um grande volume de uma solução isotônica para a realização da amostragem – 300-500 ml (Hoffman, 2008). A taxa de recuperação para este fluido varia, mas é normalmente entre os 50 a 80%. Amostras normais de LBA apresentam uma substância espumosa devido à presença do surfactante (Figura 3), o que indica uma boa amostra (Taylor *et al.*, 2010).



Figura 3: Amostra resultante da lavagem broncoalveolar (foto do autor).

A LBA fornece os tipos de células específicas que afetam cada cavalo auxiliando assim nas decisões de tratamento (Hoffman, 1999). Uma população heterogênea de células pode ser observada na LBA dos cavalos afetados com IAD: mastócitos, eosinófilos e neutrófilos (Lavoie *et al.*, 2011). A análise citológica da LBA demonstra um aumento da contagem total de células nucleadas, uma neutrofilia leve – 5-20% –, linfocitose e monocitose. Em alguns cavalos jovens de corrida com IAD, a percentagem de mastócitos – <2% – e eosinófilos – <1% – na LBA são aumentadas (Ainsworth & Cheetham, 2010). A gravidade da neutrofilia na LBA é geralmente mais pronunciada na RAO do que na IAD (Couëtil & Hawkins, 2013).

Na Tabela 1 podem ser observados os valores normais da citologia da LBA.

Tabela 1: Valores normais da citologia da lavagem broncoalveolar (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

Células	Valores normais
---------	-----------------

Neutrófilos	<5%
Mastócitos	<2%
Eosinófilos	<1%
Linfócitos	30-60%
Monócitos	40-70%

Valores anormais de citologia de LBA têm sido associados a mau desempenho desportivo e intolerância ao exercício em cavalos de todas as disciplinas (Couëtil *et al.*, 2007). De um modo geral, a LBA é considerada muito segura e suficientemente sensível para detetar inflamação a nível citológico. A boa correlação entre a contagem de células diferenciais da citologia da LBA e hipoxia induzida pelo esforço ou acidose láctica por obstrução das vias aéreas, ou hiperresponsividade das vias aéreas, atesta a relevância da LBA para a avaliação de estrutura e função das vias aéreas dos equinos. Assim, a citologia da LBA tem uma importante vantagem sobre a citologia da LT. A citologia da LBA está relacionada com os sinais clínicos e as consequências fisiopatológicas da IAD, e essa observação levou um conjunto de especialistas a incorporar os achados citológicos da LBA (Figura 4) em vez dos achados da LT na definição do IAD (Hoffman, 2008).

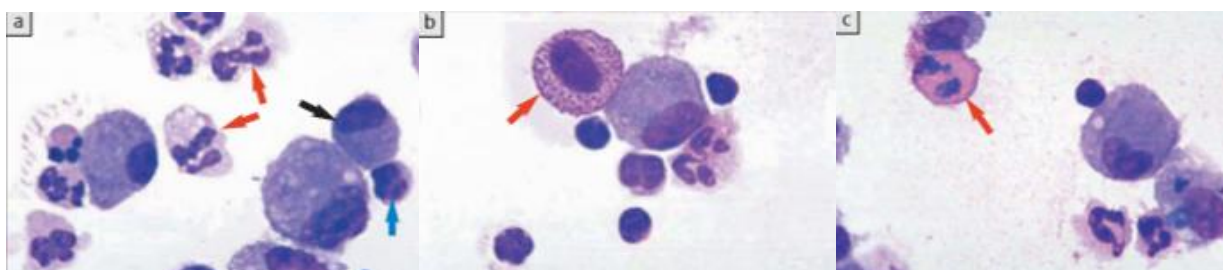


Figura 4: Citologia da lavagem broncoalveolar de um cavalo afectado por IAD, preparada com a coloração Wright's. (a) Vários neutrófilos não degenerados (setas vermelhas), macrófagos alveolares (seta preta), e alguns linfócitos (seta azul). (b) Mastócito (seta), junto a um macrófago alveolar e um pequeno linfócito. (c) Eosinófilo (seta); (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

Radiografia torácica

A radiografia é outro método de diagnóstico que pode ser útil para o diagnóstico de IAD mas sobretudo é utilizado com método de exclusão de outros diagnósticos diferenciais. A radiografia por si só é insuficiente para o diagnóstico de IAD. Um estudo revelou que um padrão brônquico foi frequentemente associado a cavalos com IAD mas a sensibilidade da radiografia é muito baixa para ser utilizado como método de diagnóstico individual (Mazan *et al.*, 2005).

Além disso, achados radiográficos não são estatisticamente relacionados com citologias de LBA compatíveis com a doença das vias aéreas (Couëtil *et al.*, 2007).

Teste de função pulmonar

Critérios iniciais para diagnosticar IAD enfatizaram o carácter definitivo da análise da LBA, mas não do teste de função pulmonar. A adição de testes de função pulmonar tem como utilidade abordar a alta prevalência de distúrbios funcionais encontrados em cavalos com IAD (Couëtil *et al.*, 2007). Vários estudos têm documentado o impacto negativo da IAD na função pulmonar em repouso e durante o exercício. A troca gasosa é prejudicada durante o exercício em cavalos com IAD (Sanchez *et al.*, 2005); (Van Erck-Westergren *et al.*, 2013). A mecânica pulmonar padrão está geralmente dentro de valores de referência em cavalos de corrida com IAD, mas pode ser detetada usando o método de reinalação. Recentemente, testes de função pulmonar mais sensíveis, tais como a expiração forçada e a mecânica de oscilações forçadas indicam que os cavalos com IAD têm obstrução das vias aéreas (Couëtil *et al.*, 2007). A quantificação direta de obstrução das vias aéreas requer equipamentos sofisticados e conhecimentos disponíveis somente em centros de referência especializados. Um outro meio de detecção de obstrução das vias aéreas é testar a reatividade das vias aéreas em resposta a uma substância irritante, tal como a histamina inalada. Uma resposta exagerada das vias aéreas, nomeadamente broncoconstrição, a um irritante denomina-se hiperresponsividade das vias aéreas. A hiperresponsividade é uma característica proeminente da IAD em cavalos com aumento de eosinófilos e mastócitos na LBA. Este aumento da broncoconstrição em resposta a substâncias irritantes inaladas desempenha um papel importante na patogénese da tosse e, presumivelmente, na intolerância ao exercício (Taylor *et al.*, 2010).

2.1.6. Diagnósticos diferenciais

Os achados clínicos associados com IAD são inespecíficos e são comuns a uma diversidade de outras doenças respiratórias de cavalos, tais como obstrução recorrente das vias aéreas (RAO), doença das vias aéreas superiores, broncopneumonia, pleuropneumonia, doenças

virais – gripe equina, herpesvírus equino [EHVs], rinovírus, HPIE, neoplasia e pneumonia parasitária (Couëtil & Hawkins, 2013).

Obstrução recorrente das vias aéreas

Na doença obstrutiva recorrente – “Reccurent Airway Obstruction” (RAO) – certos sinais clínicos como dificuldades respiratórias e uma intolerância grave ao exercício são observados. Numa fase de remissão de RAO estes sinais acima descritos poderão ser mais ténues o que poderá dificultar a distinção entre RAO e IAD. Nestes casos, a citologia da LBA e um teste de função pulmonar é requerido para chegar a um diagnóstico definitivo. No caso dos cavalos afetados com RAO, a citologia da LBA revela um aumento marcado de neutrófilos – $>20\%$ –, o que em cavalos afetados com IAD é menos pronunciado – $<20\%$. O aumento de células metacrómicas (mastócitos e basófilos) e eosinófilos é descrito nos cavalos com IAD mas não está associado a cavalos com RAO (Couëtil *et al.*, 2007).

Doença das vias aéreas superiores

Várias condições das vias aéreas superiores (hematoma do etmóide, sinusite) levam à obstrução das vias aéreas o que pode causar intolerância ao exercício e episódios ocasionais de tosse como observado em IAD (Couëtil *et al.*, 2007).

A presença de sons respiratórios anormais em repouso ou durante o exercício e a ausência de muco e inflamação nas vias aéreas inferiores, ajudam a diferenciar a doença inflamatória das vias aéreas superiores da doença inflamatória das vias aéreas inferiores. Como auxílio, a endoscopia das vias aéreas superiores e estudos radiográficos permitem a identificação de doenças das vias aéreas superiores (Couëtil *et al.*, 2007).

Broncopneumonia – Pleuropneumonia

Manifestações de infeção grave como febre, depressão, anorexia e perda de peso estão usualmente presentes em broncopneumonias ou pleuropneumonias de origem bacteriana ou fúngica, mas ausentes em IAD (Couëtil *et al.*, 2007).

A avaliação torácica através da radiografia e da ecografia auxilia a diferenciação destas doenças (broncopneumonia e pleuropneumonia) com a doença inflamatória das vias aéreas inferiores (Couëtil *et al.*, 2007). Na radiografia e ecografia são observadas zonas de consolidação pulmonar e efusão pleural no caso de broncopneumonia e pleuropneumonia (Couëtil & Hawkins, 2013).

No exame hematológico, uma leucocitose com neutrofilia pode ser encontrada numa infecção respiratória de origem bacteriana e, na fase aguda de uma infecção bacteriana, um aumento de neutrófilos imaturos pode ser observado (Couëtil *et al.*, 2007).

A análise citológica da LT pode ajudar na diferenciação de IAD com uma infecção pulmonar. Alguns cavalos com IAD podem apresentar uma LT séptica mas nestes casos os animais não se encontram sistemicamente doentes (Couëtil *et al.*, 2007).

Infecção viral

Cavalos que apresentam uma infecção viral das vias respiratórias usualmente revelam sinais clínicos mais graves, referentes às vias respiratórias, que os cavalos afetados com IAD. Dentro desses sinais clínicos podemos encontrar febre, letargia, tosse e corrimento nasal (Couëtil *et al.*, 2007).

A presença de um vírus específico pode ser documentada através do ADN ou por deteção de antigénio (PCR, imunofluorescência), ou por isolamento do mesmo ou ainda por um aumento de anticorpos ao longo da doença (Couëtil *et al.*, 2007).

Hemorragia Pulmonar Induzida pelo Esforço

A Hemorragia Pulmonar Induzida por Esforço (HPIE) é uma causa comum de mau desempenho desportivo em cavalos de corrida (Hinchcliff *et al.*, 2005). O diagnóstico é obtido aquando da presença de sangue numa traqueoscopia ou através da detecção de aumento do teor de hemossiderina nos macrófagos alveolares (Doucet & Viel, 2002). A hemorragia ocorre quase exclusivamente nas áreas pulmonares caudodorsais e está associada com bronquiolite macrófagica e fibrose (O'Callaghan *et al.*, 1987). Tem sido sugerido que a presença de inflamação das vias aéreas inferiores predispõe a HPIE, mas vários estudos não encontraram nenhuma correlação significativa entre hemosideróforos e contagem de neutrófilos na LBA de cavalos com IAD (Clark *et al.*, 1995; Sanchez *et al.*, 2005).

Neoplasia torácica

A neoplasia torácica não é comum em cavalos, mas quando presente apresenta sinais clínicos que podem assemelhar-se aos sinais clínicos de IAD, tal como a tosse crónica. A broncoscopia, a radiografia torácica, a ecografia torácica, juntamente com achados citológicos e histológicos de biopsias podem ajudar a confirmar o diagnóstico (Couëtil *et al.*, 2007).

Pneumonia parasitária

Na análise citológica da LBA, a inflamação eosinofílica pode ser associada a IAD mas também a uma pneumonia parasitária por *Parascaris equorum* e por *Dictyocaulus arnfieldi*. Um diagnóstico presuntivo de pneumonia parasitária pode ser alcançado quando secreções respiratórias revelam uma inflamação eosinofílica com evidência da presença de parasita – ovos ou larvas – e à presença de asininos no mesmo espaço que os cavalos (Couëtil & Hawkins, 2013). Um cavalo infetado com *Dictyocaulus arnfieldi* pode apresentar sinais clínicos similares aos sinais clínicos de IAD tais como tosse e sons anormais à auscultação torácica (Couëtil *et al.*, 2007).

2.1.7. Tratamento

Há dados baseados em evidências limitadas em relação à terapia para IAD, em particular na terapia com aerossóis. Considerando a fisiopatologia de IAD, o tratamento deve combinar mudanças ambientais e terapia médica (Couëtil *et al.*, 2007). Os objetivos da terapia médica são controlar a inflamação das vias aéreas e aliviar a obstrução do fluxo de ar usando principalmente corticóides e broncodilatadores. A inflamação neutrofílica das vias aéreas é um elemento comum em ambas as doenças – IAD e RAO –, sendo a maioria dos medicamentos recomendados baseados em estudos realizados em animais com RAO. Apesar dos mesmos fármacos serem eficazes para ambas as doenças, no caso de IAD a dose mínima do intervalo de doses proposto para RAO é suficiente para obter uma resposta clínica. Ambos os fármacos sistêmicos e tópicos – aerossóis – são eficazes. No entanto, o potencial de efeitos adversos e o tempo de eliminação prolongado é maior numa administração sistêmica. As vantagens da terapia de aerossol são a facilidade de administração, a maior eficácia e segurança. As desvantagens são o custo e a escassez de dados de ensaios clínicos. Os anti-inflamatórios não esteróides – AINES – e fármacos anti-histamínicos são ineficazes para o tratamento da IAD (Couëtil *et al.*, 2005).

É de salientar que a redução da exposição aos fatores desencadeantes da RAO/IAD é tão eficaz quanto a terapia de corticosteróides na melhoria dos sinais clínicos e função pulmonar. Os benefícios adicionais de corticosteróides são uma nova redução da inflamação das vias aéreas e melhoria clínica mais rápida (Couëtil & Hawkins, 2013).

Modificação ambiental

Vários estudos sugerem que a patogenia de IAD envolve a irritação das vias aéreas não específica ou a hiperresponsividade alérgica das vias aéreas por inalação de alergénios, poeiras e endotoxinas (Burrell *et al.*, 1996; Clarke, 1987). Duas abordagens principais são possíveis para reduzir a exposição dos cavalos a partículas respiráveis. A primeira abordagem é a utilização de rações e materiais de cama que geram baixos níveis de poeira. A segunda abordagem é a de aumentar a remoção de partículas transportadas pelo ar, melhorando a ventilação do edifício (Couëtil *et al.*, 2007).

A substituição de cama de palha para cama de aparas de papel ou de madeira, diminui 50% das concentrações de pós respiráveis e reduz a concentração de fungos a valores insignificantes (Kirschvink *et al.*, 2002). Woods *et al.* (1993) afirma que a troca do feno por uma dieta peletizada diminui 97% da carga de partículas respiráveis e, por consequente, a capacidade alergénica. Apesar desta solução diminuir significativamente a carga de partículas respiráveis, esta não é a recomendada a nível nutritivo para os equinos visto que estes devem ter um acesso permanente ao alimento forrageiro.

As actividades nos estábulos, como a limpeza ou a distribuição do alimento, apresentam concentrações máximas de poeiras presentes no ar afectando assim as vias aéreas dos animais. Como tal, de forma a evitar a exposição, deverá evitar-se a presença dos cavalos nos estábulos nestas alturas (Pirie *et al.*, 2002).

O ambiente ideal para cavalos com IAD é na pastagem ao ar livre, pois a exposição a poeiras é significativamente menor do que em estábulos, independentemente da alimentação e da qualidade da cama. Se, por motivos práticos, o cavalo não pode ser mantido ao ar livre, a ventilação no celeiro e estábulo, o tipo de cama e alimentação, deverão ser examinados a fim de minimizar a exposição a alergénios. A maioria dos cavalos apresenta remissão dos sinais clínicos após 1 a 2 semanas de mudança de ambiente (Couëtil & Hawkins, 2013).

Terapia médica

Corticosteroides (via sistémica)

Na ausência de uma causa infecciosa, os cavalos afetados podem beneficiar de 2 a 4 semanas de tratamento com corticosteróides (Ainsworth & Cheetham, 2010). Os corticosteróides são potentes inibidores da inflamação provando ser eficazes no tratamento,

sendo também eficazes no controlo de todos os perfis citológicos de IAD. Vários podem ser utilizados no tratamento (Tabela 2); (Couëtil & Hawkins, 2013).

Prednisolona - é um dos corticosteroides mais utilizados no tratamento da inflamação das vias aéreas inferiores e possui uma biodisponibilidade superior a 50% (Couëtil & Hawkins, 2013). As doses recomendadas são 2,2 mg/kg por via oral (PO) uma vez por dia (SID) durante 7 a 10 dias, seguido por 1,0 mg/kg PO SID durante 7 a 10 dias e, em seguida, 1,0 mg/kg PO, uma vez a cada dois dias durante 7 a 10 dias (Ainsworth & Cheetham, 2010).

Dexametasona - induz uma melhoria significativa nos sinais clínicos após algumas horas de tratamento, mas o benefício máximo pode demorar uma semana. Uma redução na neutrofilia da LBA é evidente ao fim de 3 dias de terapia. A dexametasona tem uma boa biodisponibilidade oral, podendo no entanto ser prejudicada pela alimentação. A administração oral do fármaco pode necessitar de doses elevadas (0,16 mg/kg) e deve ser administrado após jejum para alcançar resultados consistentes (Couëtil & Hawkins, 2013). No entanto, um jejum prolongado pode ser prejudicial para cavalos de desporto que são suscetíveis a úlceras gástricas.

Triamcinolona - é um corticosteróide de longa duração que pode melhorar a função pulmonar por 2 a 4 semanas após a administração de uma única dose. A administração de triamcinolona não deve ser repetida no intervalo de menos de 3 meses, devido ao potencial risco de complicações como laminite (Couëtil & Hawkins, 2013).

Dexametasona 21-isonicotinato - reduz a obstrução das vias aéreas no prazo de 3 dias após o início do tratamento, com um efeito máximo obtido após 7 dias (Couëtil & Hawkins, 2013).

Isoflupredone acetato - tem uma eficácia similar à dexametasona (Couëtil & Hawkins, 2013).

Os efeitos colaterais deletérios associados com a terapia por corticosteróides dependem da potência do fármaco, da dose utilizada, e da duração do tratamento. Os corticosteroides de ação prolongada, como por exemplo o triamcinolona e a dexametasona, são mais propensos a causar efeitos adversos tais como Cushing iatrogénico e laminites (Couëtil & Hawkins, 2013).

Tabela 2: Terapia por via sistêmica de doença inflamatória das vias aéreas (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

FÁRMACO	DOSE	FREQUÊNCIA DE ADMINISTRAÇÃO
<u>Corticosteroides</u>		
Dexametasona	0,04-0,1 mg/kg IV ou IM	SID ou BID
	0,08-0,165 mg/kg PO	
Dexametasona 21-isonicotinato	0,04 mg/kg IM	Todos os três dias
Isoflupredone acetato	0,03 mg/kg IM	SID
Prednisolona	1,1-2,2 mg/kg PO	SID
Triamcinolona	0,04-0,09 mg/kg IM	Intervalos de 3 meses
<u>Broncodilatadores</u>		
Aminofilina	5-12 mg/kg IV	BID
	6 mg/kg PO	
Atropina	0,01-0,02 mg/kg IV	Administração única
Cloridrato de clenbuterol	0,8-3,2 µg/kg PO	BID
Glicopirrolato	0,0022-0,007 mg/kg IV	Administração única
Isoproterenol	0,1-0,2 mg/kg IV	Administração única
Pentoxifilina	35 mg/kg PO	BID
Teofilina	5-10 mg/kg PO	BID

Corticosteróides (aerossóis e nebulizações)

A administração de substâncias terapêuticas através de inalação tem a vantagem de proporcionar uma maior concentração do fármaco directamente para os pulmões, enquanto minimiza a quantidade absorvida sistemicamente e, por conseguinte, reduzindo o risco de efeitos adversos. Além disso, os efeitos colaterais sistêmicos e resíduos dos fármacos são diminuídos (Couëtil & Hawkins, 2013).

Pelo menos cinco corticosteróides inalados diferentes estão disponíveis para o tratamento de doenças pulmonares inflamatórias em humanos: dipropionato de beclometasona, budesonida, flunisolide, propionato de fluticasona e triancinolona. No momento, apenas os ensaios clínicos com beclometasona e fluticasona (Tabela 3) têm sido relatados no cavalo (Couëtil & Hawkins, 2013). Estes medicamentos são administrados por inaladores e têm provado ser clinicamente eficazes em cavalos com IAD (Couëtil *et al.*, 2005).

O propionato de fluticasona foi usado com sucesso para o tratamento de cavalos afectados por IAD usando 2000 µg BID – *AeroMask*TM – durante 3 a 4 semanas. Uma dose mais elevada de fluticasona – 6000 µg – é necessário para obter uma melhoria significativa nos sinais clínicos e na função pulmonar num curto período de tempo (3 dias de tratamento) utilizando uma *Equine Haler*TM. A administração de fluticasona – 3000 µg – antes da exposição ao feno pode efetivamente prevenir a doença clínica e deterioração da função pulmonar. O tratamento de cavalos com fluticasona inalado – *AeroMask*TM – usando 3000 mg BID tem resultados na supressão adrenal. No entanto, nenhuma supressão adrenal é detetável com 2000 µg BID (Couëtil & Hawkins, 2013).

Ensaio clínico em cavalos com RAO indicam que o dipropionato de beclometasona na dose de 1000 µg BID administrado com o dispositivo *3M*TM *Equine*, resulta numa melhoria clínica e da função pulmonar, semelhante com 3750 µg BID administrado com o *AeroMask*TM. Os efeitos terapêuticos são mensuráveis no prazo de 24 horas após a administração. Baixas doses de dipropionato de beclometasona – 500 µg BID – entregue com o dispositivo *3M*TM *Equine* para cavalos com RAO, apresentam resultados semelhantes a uma dose mais alta – 1500 µg BID –, mas com menos supressão da adrenal (Couëtil & Hawkins, 2013).

Broncodilatadores (via sistémica)

Os broncodilatadores são indicados para o relaxamento do músculo liso das vias respiratórias e para o alívio da obstrução do fluxo de ar, mas eles não devem ser usados sozinhos, por períodos prolongados de tempo, pois eles não têm propriedades anti-inflamatórias e não reduzem a hiperresponsividade das vias respiratórias. Além disso, o uso prolongado de determinados tipos de broncodilatadores (por exemplo, beta-2 agonistas) como medicamento sozinho induz a regulação negativa dos receptores das vias aéreas e torna o fármaco menos eficaz. Este fenómeno é impedido pelo uso combinado de beta-2 agonistas com corticosteróides (Couëtil *et al.*, 2005).

Três classes de substâncias estão disponíveis como broncodilatadores: anticolinérgicos sistémicos, beta-2 agonistas e metilxantinas (Tabela 2); (Couëtil & Hawkins, 2013).

Atropina - a atropina é um medicamento anticolinérgico que proporciona uma melhoria rápida e acentuada na função pulmonar – redução da variação da pressão transpulmonar

(ΔP_{plmax}) de 70-80% – e sinais clínicos. Os efeitos observam-se 10 minutos após a administração e o pico máximo após 30 minutos, com a atropina a ter uma duração máxima de 1 a 2 horas. Este fármaco poderá potencialmente provocar graves efeitos secundários, tais como íleus e dor abdominal. Geralmente desenvolvem-se quando são utilizadas doses mais elevadas (22-88 mg), mas os efeitos adversos são raros com baixas doses de atropina (0,02 mg/kg), a menos que a administração seja repetida (Couëtil & Hawkins, 2013).

Glicopirrolato – é outro medicamento anticolinérgico que tem uma eficácia semelhante à atropina, mas não possui efeitos deletérios sobre a motilidade intestinal (Couëtil & Hawkins, 2013).

Cloridrato de clenbuterol – é um fármaco que é utilizado tanto em forma de injetável como em forma *per os*. O tratamento deve ser iniciado com uma taxa de dose baixa e deve aumentar progressivamente até existir uma resposta clínica. Alguns cavalos – 25% – podem não responder ao clenbuterol mesmo com a administração de uma dose elevada. O clenbuterol também tem propriedades anti-inflamatórias das vias aéreas e pode ajudar na depuração mucociliar. Os efeitos colaterais são leves, como sudorese, tremores musculares e excitação. Eles ocorrem menos de 10% dos cavalos tratados com clenbuterol oral. É mais preocupante o efeito colateral da remodelação cardiovascular detectado por ecocardiografia, sugerindo um efeito deletério do fármaco com doses médias de clenbuterol – 2,4 µg/kg PO BID – durante 8 semanas. No entanto, a relevância clínica destes resultados é desconhecida (Couëtil & Hawkins, 2013).

Isoproterenol - a administração da droga isoproterenol (beta-adrenérgico) para cavalos com IAD resulta numa melhoria clínica e na melhoria da função pulmonar, em 15 minutos após a administração. No entanto, os resultados são variáveis entre os animais. Após a administração de isoproterenol existe um aumento da frequência cardíaca pois há estimulação dos receptores beta-1 (Couëtil & Hawkins, 2013).

Terbutalina - um agonista do receptor beta-2, fracamente absorvido por via oral. No entanto, a nebulização – 0,02 mg/kg – pode melhorar a função pulmonar de cavalos com IAD até 6 horas (Couëtil & Hawkins, 2013).

Metilxantinas (e seus derivados) - podem ser benéficos em cavalos com IAD. No entanto, os níveis plasmáticos necessários para a broncodilatação variam muito entre cavalos e o intervalo entre a dose efetiva e a dose tóxica é muito pequeno. A aminofilina e a teofilina administradas a cada 12 horas, podem melhorar a função pulmonar e os sinais clínicos até 50% dos cavalos afetados. Efeitos colaterais mais comuns são hiperestesia, hiperexcitabilidade e tremores musculares. Pentoxifilina administrada aos cavalos afetados por IAD resulta numa melhoria significativa da função pulmonar e não apresenta efeitos adversos associados (Couëtil & Hawkins, 2013).

Tabela 3: Terapia por aerossol e nebulização de doença inflamatória das vias aéreas (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

FÁRMACO	DOSE POR ADMINISTRAÇÃO	DISPOSITIVO	DOSE	DURAÇÃO DE ACÇÃO
<u>Corticosteroides</u>				
Beclometasona	80 µg	EADDS	1-3 µg/kg BID	
Fluticasona	220 µg	Aeromask	2-4 µg/kg BID	
<u>Broncodilatadores</u>				
Albuterol	120 µg	EADDS	360-720 µg	1-3 horas
		AeroHippus/Equine Haler	1-2 µg/kg	
Ipratropio	20 µg	Aeromask	0,2-0,4 µg/kg	4-6 horas
	200 µg/cápsula	EquiPoudre	2-3 µg/kg	
	0,02 % solução para nebulização	Ultrasonic nebulizer	2-3 µg/kg	
Fenoterol	200 µg	Aeromask	1-2 mg	4-6 horas
Pirbuterol	200 µg	EADDS	600 µg	1 hora
Salmeterol	50 µg	Aeromask	210 µg	6-8 horas
<u>Estabilizador de mastócitos</u>				
Cromoglicato de sódio	0,02 % solução para nebulização	Jet nebulizer	200 mg BID	
		Ultrasonic nebulizer	80 mg SID	

Broncodilatadores (aerossóis e nebulizações)

Existem duas classes principais de broncodilatadores inaláveis que têm sido utilizados nos cavalos: os beta-2 agonistas e os anticolinérgicos.

Os beta2- agonistas induzem o relaxamento do músculo liso das vias aéreas e inibem a desgranulação dos mastócitos. O albuterol, o pirbuterol e o fenoterol são fármacos de ação curta – 1 hora – com um rápido início de atuação – 5 minutos. Por sua vez, o salmeterol e o formoterol são beta2- agonistas de longa ação – 6 a 8 horas – o que os torna apropriados para duas doses diárias (Couëtil & Hawkins, 2013).

Em média, a máxima broncodilatação é obtida com 540 µg de albuterol utilizando o AeroHippus™ ou ainda o Equine Haler™. A resposta ao tratamento depende do grau de obstrução das vias aéreas. Como tal, alguns cavalos podem atingir a máxima broncodilatação depois de menos de 180 µg, enquanto outros animais podem necessitar de 900 µg (Couëtil & Hawkins, 2013).

Quanto aos anticolinérgicos, eles têm um efeito aditivo dos beta2- agonistas em relação ao músculo liso das vias aéreas. Existe o brometo de ipratrópio que quimicamente é um derivado da atropina, mas é desprovido dos efeitos colaterais anteriormente referidos quando é administrado por inalação. A nebulização de 2 µg/kg de brometo de ipratrópio tem uma duração de ação de 6 horas e atua após 1 hora da administração (Couëtil & Hawkins, 2013).



Figura 5: Vários dispositivos de fornecimento de aerossol utilizadas no cavalo. (a) Compressor (PRONEB®) ligado a um nebulizador montado num dispositivo Equine Aeromask™. (b) Tratamento com o dispositivo Equine Aeromask™. (c) Tratamento com o dispositivo AeroHippus. (d) Tratamento com o dispositivo Equine Haler™. (e) Tratamento com o dispositivo 3M™ Equine (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

Interferão α

Interferão- α é utilizado no tratamento de IAD pela sua capacidade de reduzir a inflamação através de eliminação de infeções virais persistentes, a modulação de uma resposta alérgica, ou atenuação de mediadores proximais de inflamação (Moore *et al.*, 2004).

A administração oral de uma dose baixa de interferão alfa – IFN α – 50-150 UI SID durante 5 dias, foi demonstrado reduzir a percentagem de neutrófilos, macrófagos, linfócitos, e as contagens de células nucleadas totais assim como as concentrações de imunoglobulinas e mediadores inflamatórios nos resultados da LBA de cavalos de corrida com IAD. Pelo contrário, os mastócitos e os eosinófilos não aparentaram nenhuma alteração com o tratamento por interferão. As doses mais elevadas de IFN α – 450 UI – mostraram resultados menos eficazes (Couëtil & Hawkins, 2013).

Achados endoscópicos como o exsudado respiratório, a tosse e a hiperplasia linfóide da faringe foram significativamente reduzidos após 1 semana de tratamento (Couëtil & Hawkins, 2013).

Antibióticos

Em caso de infecções bacterianas ligadas à IAD, os cavalos devem receber um tratamento de 7 a 10 dias com antibiótico e a seleção baseia-se na cultura e nos resultados de sensibilidade do aspirado traqueobrônquico (Ainsworth & Cheetham, 2010).

Estabilizadores de mastócitos

Os estabilizadores de mastócitos, como o cromoglicato de sódio, têm demonstrado diminuir os sinais clínicos dos cavalos afetados, diminuir a hiperresponsividade brônquica e a percentagem de mastócitos na LBA (Hare *et al.*, 1994).

2.1.8. Profilaxia

A IAD está associada à exposição de substâncias irritantes inaladas, pelo que nenhuma terapia farmacêutica será totalmente eficaz na ausência de modificações dietéticas e ambientais. A prevenção mais importante para qualquer doença reativa das vias respiratórias é minimizar a poeira e alérgenos inalados no ambiente do cavalo, ou seja, baseia-se no controlo da qualidade do ar. O local onde se encontram os animais tem de ser bastante ventilado, e tanto o manejo alimentar como higiénico deverá ser efectuado com alguns cuidados (Woods *et al.*, 1993). Quanto ao manejo alimentar, deve ser fornecido aos animais ração e feno de boa qualidade, para evitar a inalação de pó. Para diminuir os teores de poeira, deve-se optar por forragens picadas, ou um alimento completo peletizado, e o feno deve ser mergulhado em água ou cozinhado. No caso do manejo higiénico, as camas devem ser limpas pelo menos uma vez por dia, evitando ao máximo levantar pó, e o material que as compõe deverá ser de boa qualidade, preferencialmente optando por camas de aparas de madeira ou papel em detrimento de palha. Alguns estudos indicam que os cavalos em estábulos bem ventilados e que dormem em cama de papel ou outro tipo de material com baixa concentração de pó parecem ser quatro vezes

menos propensos ao desenvolvimento de IAD que os cavalos alojados em estábulos mal ventilados e que dormem em cama de palha (Couëtil & Hinchcliff, 2004).

Para além destes fatores que predis põem os animais para a doença, é importante que lhes sejam fornecidas todas as condições necessárias para um bom estado de saúde, ou seja, vacinações, controlo parasitário correcto e um programa de exercício adequado. Ainda que os vírus não pareçam desempenhar o papel mais importante no aparecimento da doença, recomenda-se a vacinação dos potros contra patógenos respiratórios – Influenza – antes de inseridos em regime de estabulação (Christley & Rush, 2006).

2.1.9. Prognóstico

O prognóstico de IAD depende muito da fase em que a doença é diagnosticada, bem como dos cuidados e tratamentos efetuados. Caso sejam aplicadas medidas de manejo ambiental combinado com tratamento médico, o problema pode ser satisfatoriamente resolvido durante um longo período de tempo. No caso de IAD mediado por neutrófilos, o prognóstico é favorável aquando da correção dos problemas ambientais. Quanto à IAD mediada por mastócitos, a resposta ao tratamento poderá ser inferior (Wilson, 2012). De um modo geral, cavalos afetados com IAD têm um bom prognóstico para regressar ao nível de trabalho precedente (Couëtil & Hinchcliff, 2004).

2.2. Doença obstrutiva recorrente das vias aéreas

2.2.1. Definição

A obstrução recorrente das vias aéreas – RAO – é uma doença respiratória que ocorre frequentemente em cavalos a partir da meia-idade (Wilson, 2012) e que se caracteriza por períodos de obstrução reversível causadas pelo acúmulo de neutrófilos, produção de muco e broncoespasmos (Ainsworth & Cheetham, 2010). Estas repostas fisiológicas provêm da inalação de poeiras orgânicas provenientes do feno ou da cama, bem como de outras partículas (Couëtil & Hawkins, 2013).

Esta doença é também conhecida como doença pulmonar obstrutiva crónica, doença pulmonar crónica, reatividade crónica das vias aéreas, hiper-reatividade das vias aéreas ou doença do feno (Ainsworth & Cheetham, 2010). Segundo Robinson (2001) o termo “obstrução crónica” não deve ser utilizado para descrever esta patologia em cavalos, visto que os aspetos fisiopatológicos e morfológicos da doença equina são bastante diferentes daqueles observados na doença pulmonar obstrutiva crónica em humanos. Pelo menos na fase inicial, os ataques de obstrução das vias aéreas podem ser revertidos por remediação ambiental (Wilson, 2012).

A RAO é caracterizada pelo aumento das secreções das vias aéreas, tosse, sons respiratórios anormais, aumento do esforço respiratório (principalmente na fase expiratória) e intolerância ao exercício (Ainsworth & Cheetham, 2010). Os sinais clínicos tendem a ser piores durante o inverno, quando os cavalos estão alojados durante períodos de tempo prolongados (Couëtil & Hawkins, 2013).

A RAO de verão é uma condição clinicamente semelhante à RAO. Desenvolve-se em cavalos adultos que são mantidos no pasto. Os sinais clínicos são observados normalmente durante o final da primavera, no verão e no início do outono (Seahorn & Beadle, 1993).

Os cavalos com RAO de Verão apresentam uma neutrofilia nas vias aéreas, uma produção excessiva de muco e esforços respiratórios acentuados (Costa *et al.*, 2000). Os fatores ambientais e a imunopatogénese desta doença ainda não foram determinados (Ainsworth & Cheetham, 2010).

2.2.2. Epidemiologia

A RAO é uma doença que ocorre em todo o mundo, principalmente em cavalos de meia-idade ou mais velhos, com uma média de 12 anos (Aviza *et al.*, 2001). Apesar de não haver predisposição racial para a doença (Marti *et al.*, 1991), há evidências de uma base familiar em Lipizanners e Warmbloods, embora o modo preciso de hereditariedade seja desconhecido (Wilson, 2012).

Animais mantidos em estábulos, sujeitos à exposição de poeiras orgânicas ou feno, estão mais suscetíveis à doença. A sazonalidade é outro fator importante a considerar na epidemiologia desta doença. Se por um lado, o inverno, em que os animais estão mais tempo alojados no estábulo os expõe a uma maior quantidade de poeiras, por outro lado o Verão

também não é favorável visto que as pastagens possuem alimento muito seco com poeiras (Wilson, 2012).

Está também estudado que animais com hipertensão portal possuem maior tropismo para a doença (Wilson, 2012).

2.2.3. Apresentação clínica

Sinais clínicos

Os animais que têm RAO apresentam um amplo espectro de sinais clínicos, dependendo da gravidade da lesão. Por vezes os cavalos podem apresentar poucos ou até mesmo nenhuns sinais clínicos de doença respiratória, exceto intolerância ao exercício, podendo ser difícil diferenciar de cavalos afetados com IAD (Couëtil & Hawkins, 2013).

O sinal clínico presente na fase inicial da doença é a tosse, que se vai agravando ao longo do tempo. À medida que a doença vai progredindo, a tosse é acompanhada por taquipneia e desconforto respiratório evidente (Wilson, 2012). Nos casos mais graves da doença, a intolerância ao exercício, perda de peso, dilatação das narinas, relutância em movimentar-se, extensão do pescoço e caquexia são evidentes. Outro dos sinais característicos da doença é o aparecimento de “*heave lines*”, que resultam da hipertrofia dos músculos oblíquos e reto abdominais durante a expiração (Ainsworth & Cheetham, 2010).

Descargas nasais bilaterais serosas ou purulentas são comuns, no entanto descargas mucopurulentas são raras, apesar de haver grandes acumulações de muco e pus na traqueia (Couëtil & Hawkins, 2013).

A frequência respiratória pode ser normal ou aumentada. Apesar de haver desenvolvimento de hipertensão pulmonar quando os cavalos são sintomáticos – (Dixon, 1978); (Sage *et al.*, 2006) –, estes raramente desenvolvem e apresentam sinais de insuficiência cardíaca como regurgitação da veia jugular, pulso jugular e edema ventral, visto que entre episódios graves de RAO as alterações cardiovasculares voltam ao normal (Johansson *et al.*, 2007). Somente uma pequena percentagem de cavalos desenvolve hipertrofia ventricular direita e sinais de falha cardíaca (Sage *et al.*, 2006).

A temperatura corporal é geralmente normal, mas poderá ocorrer hipertermia devido ao aumento do gasto energético, ou por complicações infecciosas como pneumonias secundárias (Couëtil & Hawkins, 2013).

À auscultação do tórax pode-se detetar um aumento dos sons respiratórios bilateralmente, numa janela de auscultação grande, bem como sons respiratórios anormais tais como crepitações ou sibilos. A deteção de sons de respiração para além dos limites habituais da auscultação torácica indica hiperinsuflação do pulmão e é quase patognomónico de RAO (Couëtil & Hawkins, 2013).

Endoscopia

A endoscopia respiratória é um exame complementar muito importante no diagnóstico de RAO. Nos cavalos afectados podem ser observados desde múltiplos depósitos de muco a uma grande quantidade de exsudado mucopurulento na traqueia. É comum encontrar eritema e edema bastante marcados nos brônquios, bem como um espessamento da carina brônquica. No entanto, Koch *et al.* (2007) afirma que não existe correlação entre o espessamento da carina brônquica e os sinais endoscópicos de animais afetados por RAO.

Contudo, muitos cavalos com RAO grave e que apresentam uma grande quantidade de exsudado traqueal, não apresentam sinais visíveis de inflamação brônquica (Couëtil & Hawkins, 2013).

2.2.4. Etiopatogenia

A causa da RAO ainda hoje é muito discutida, mas a possibilidade mais coerente, e que tem sido mais estudada, considera que é uma reação de hipersensibilidade resultante da inalação de poeiras orgânicas ou fungos encontrados no feno ou palha (Ainsworth & Cheetham, 2010), principalmente em estábulos mal ventilados (Couëtil & Hawkins, 2013). As poeiras dos estábulos contêm mais de 50 espécies de fungos, um grande número de ácaros forrageiros, endotoxinas, e uma mistura variável de múltiplos agentes inorgânicos capazes de induzir inflamação pulmonar nos cavalos suscetíveis. Os dois fungos que mais frequentemente provocam a doença são o *Aspergillus fumigatus* e *Faenia rectivirgula* (McPherson & Thomson, 1983). Os esporos destes fungos são inferiores a 5 µm, o que os permite serem inalados para as vias aéreas, desencadeando uma reação inflamatória cuja gravidade está dependente da dose

inalada (Couëtil & Hawkins, 2013). A inalação de extratos aquosos de *Aspergillus fumigatus*, *Faenia rectivirgula* ou *Thermoactinomyces vulgaris* induz parcialmente, mas não totalmente, RAO em cavalos suscetíveis (McPherson *et al.*, 1979).

O feno de boa qualidade também pode possuir fungos capazes de desencadear sinais clínicos em animais sensíveis. Os fardos de palha que geralmente são mantidos no campo durante um maior período de tempo e por isso estão mais expostos às condições climáticas, têm sido associados a um quadro clínico pior. Por outro lado, fardos insuficientemente secos podem ter um pico de humidade de 30 a 50%, o que irá promover o crescimento de fungos (Couëtil & Hawkins, 2013). A inalação de endotoxinas, um componente do pó da palha, induz um aumento de neutrófilos nas vias aéreas, contudo não provoca todas as alterações características da RAO a nível pulmonar (Pirie *et al.*, 2001). A manifestação completa da doença requer a inalação de todos os componentes da palha, ou seja endotoxinas, β -glucanases e vários alergénios (Wilson, 2012).

Nos animais que se encontram ao ar livre, o pólen e os fungos são os principais métodos de infeção, originando a RAO de verão (Couëtil & Hawkins, 2013).

Cavalos expostos a aeroalergénios rapidamente desenvolvem inflamação das vias aéreas, broncoespasmo e secreção de muco. Estas três características têm sido amplamente estudadas, porém a cascata de acontecimentos ainda não é clara (Léguillette, 2003).

As vias aéreas dos cavalos afetados com RAO são suscetíveis à constrição quando submetidas a antígenos específicos, como bolores e irritantes não específicos, como a histamina ou endotoxinas. Esta condição é conhecida como hiper-reatividade das vias aéreas (Couëtil & Hawkins, 2013).

Inflamação e resposta imunológica

A inflamação das vias aéreas parece ser o principal fator na patogénese da RAO e deve ser o principal alvo de intervenção terapêutica. Após a inalação de poeiras ou outros alergénios, os neutrófilos vão migrar rapidamente para as vias aéreas (Fairbairn *et al.*, 1993).

Os neutrófilos circulantes são recrutados para os pulmões passado 4 horas de o animal ter estado exposto ao alergénio, sendo detetáveis no muco das vias aéreas em 5 horas. As células inflamatórias libertam vários mediadores inflamatórios, no entanto a complexa relação entre as

células efetoras, os mediadores inflamatórios e os sinais clínicos não é clara (McGorum *et al.*, 1993).

A ativação da doença inflamatória vai ser impulsionada pelas células *T helper* (Th) 2, que são um tipo de linfócitos que sintetizam diretamente imunoglobulinas E – IgE –, através da produção de IL 4, e inflamação eosinofílica através da produção de IL-5. As IL-4 possuem um papel importante na resposta alérgica e estimulação da produção de IgE, enquanto as IL-5 fazem com que haja desenvolvimento e estimulação das células B e eosinófilos. Para além destas, ainda há a IL-8 – sintetizada pelos macrófagos – e que desempenha um papel importante na ativação dos neutrófilos, o que pode contribuir para a acumulação destes nas vias aéreas (Léguillette, 2003).

Infeção viral

Apesar da falta de estudos epidemiológicos, tem sido relatado por vários autores que uma infeção viral respiratória pode predispor ao desenvolvimento de RAO em cavalos (Mair & Derksen, 2000). Esta situação pode ser controversa, uma vez que o organismo vai produzir Th1 como resposta à infeção viral, porém, estas células são conhecidas por inibir as respostas das Th2 usadas na RAO. Estudos feitos em medicina humana em casos de asma, revelaram que a secreção de IL-10 por macrófagos durante infeções virais favorece a secreção de Th2 pelos linfócitos, a síntese de IgE e o recrutamento de eosinófilos nas vias aéreas. Estas respostas imunológicas estão atualmente em estudo, mas a IL-10 pode também ter um papel no desenvolvimento de RAO depois de uma infeção viral, em cavalos (Léguillette, 2003).

Broncoconstrição

Nos casos de RAO observa-se uma obstrução difusa das vias aéreas, resultante da contração do músculo liso destas. Com a exposição crónica, há aumento da produção de muco, bem como a remodelação da parede das vias aéreas, com hiperplasia e hipertrofia do músculo liso, inflamação peribronquial e fibrose. A combinação da remodelação da parede das vias aéreas e o aumento da capacidade de resposta do músculo liso resultam em broncoconstrição. Não está claro até que ponto uma resposta alérgica está envolvida (Wilson, 2012).

Produção de muco

Outro fator que contribui para a obstrução das vias aéreas inferiores é a acumulação excessiva de muco. Em casos graves ou crônicos, a obstrução causada pelo muco poderá ser irreversível, até com a administração de broncodilatadores e mucolíticos (Kaup *et al.*, 1990).

Hipoxemia

A inflamação, a broncoconstrição e a acumulação de muco levam a uma obstrução difusa das vias respiratórias provocando hipoxia (Nyman *et al.*, 1991). Uma grande parte do pulmão tem os alvéolos afetados, o que vai conduzir a trocas gasosas insuficientes, não alterando no entanto a perfusão sanguínea (Léguillette, 2003).

Tendo o oxigênio uma solubilidade muito menor do que a do dióxido de carbono seria de esperar que a sua taxa de intercâmbio estivesse muito afetada, levando a hipoxia, contudo os cavalos afetados por RAO estão em normocápnia (Léguillette, 2003).

2.2.5. Diagnóstico

Lavagem broncoalveolar

A LBA é o principal método de diagnóstico utilizado na detecção de RAO e permite a amostragem das vias aéreas mais distais próximos aos alvéolos para análise citológica (Figura 6) (Léguillette, 2003). Quanto mais grave for a obstrução das vias aéreas, menor a quantidade de fluido recuperado, visto que ocorre colapso das vias aéreas. Em casos de RAO pode-se observar uma reação inflamatória não séptica, com aumento da quantidade de muco e da percentagem de neutrófilos. O intervalo no valor percentual da contagem total de neutrófilos é grande e varia dentro do intervalo de 20 a 90%, mas não existem diferenças significativas entre as amostras recolhidas em diferentes regiões do pulmão (Couëtil & Hawkins, 2013). No fluido da LBA os níveis de albumina e imunoglobulina podem não estar aumentados e, na maioria dos cavalos afetados, as percentagens de eosinófilos ou mastócitos também não estão aumentados (Derksen *et al.*, 1985).

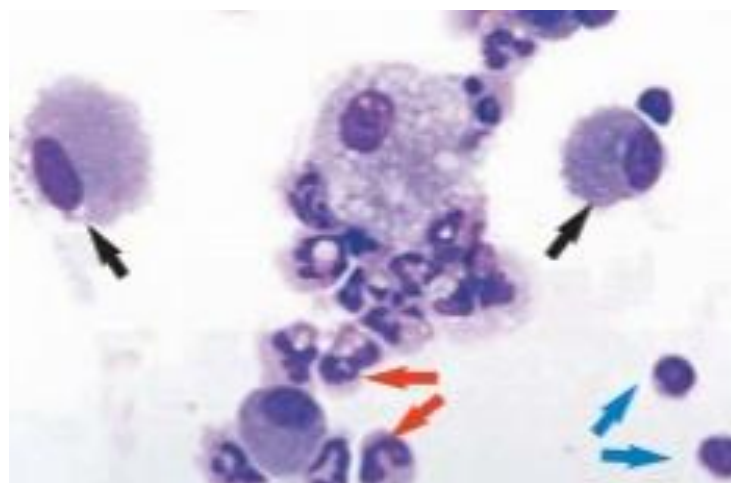


Figura 6: Citologia da lavagem broncoalveolar de um cavalo afectado por RAO, preparada com a coloração Wright's. Vários neutrófilos não degenerados (setas vermelhas), macrófagos alveolares (setas pretas), e alguns linfócitos (setas azuis); (Adaptado de Couëtil & Hawkins, 2013).

Lavagem traqueal

O fluido da LT obtido a partir de cavalos com RAO e RAO de verão normalmente revela um aumento acentuado na percentagem de neutrófilos, com um intervalo de 7 a 96%, com uma média de 50%. Os neutrófilos são não degenerados e ainda que as bactérias possam ser isoladas em alguns casos, elas não desempenham um papel na patogénese da doença (Couëtil & Hawkins, 2013).

Teste de função pulmonar

O teste de função pulmonar permite quantificar a disfunção pulmonar utilizando várias técnicas. Durante os episódios de exacerbação da RAO, observa-se broncoconstrição, edema da parede das vias aéreas e um acúmulo de secreções resultante da obstrução do fluxo aéreo, e fibrose dos pulmões. Estas mudanças estruturais traduzem-se em alterações funcionais, tais como hipoxemia arterial, aumento das alterações máximas na pressão transpulmonar – ΔP_{plmax} – resistência pulmonar – RL – e diminuição da complacência dinâmica – C_{dyn} . A hipoxemia arterial é geralmente pronunciada durante o agravamento da doença – $PaO_2 < 80 \text{ mmHg}$ (Couëtil & Hawkins, 2013).

Este teste ainda é útil na prática clínica para avaliar a reversibilidade da obstrução das vias aéreas após a administração de um broncodilatador ou para avaliar a resposta ao

tratamento, pois os sinais clínicos não são esclarecedores quanto à função pulmonar. Ou seja, um significativo grau de obstrução das vias aéreas pode estar presente após a terapia, embora os sinais clínicos já não estejam presentes (Couëtil & Hawkins, 2013).

Uma característica única de cavalos com RAO, RAO de verão e IAD é o aumento da tendência para as vias aéreas se contraírem em resposta à exposição de substâncias irritantes como a histamina ou metacolina (hiperresponsividade). A broncoconstrição pode provar ser um método útil para a detecção de RAO leve a moderada em cavalos que não exibem sinais clínicos aparentes (Couëtil & Hawkins, 2013).

Radiografia torácica

Através da radiografia torácica, pode ser observado em cavalos afetados por RAO um aumento do padrão intersticial e brônquico. Estas alterações pulmonares estão dispersas por todo o pulmão, podendo no entanto ser difíceis de interpretar. É também possível detetar exsudado no interior da traqueia (Lavoie *et al.*, 2004).

Ultrassonografia

Através da avaliação ecográfica é possível detetar, sobre a superfície do pulmão, pequenas áreas hipoeecogénicas irregulares, mas não se consegue avaliar a presença de inflamação das vias aéreas (Bakos *et al.*, 2003).

Ecocardiografia

A ecocardiografia de animais afectados por RAO demonstra um aumento no diâmetro da artéria pulmonar, com um consequente aumento da relação entre os diâmetros da artéria pulmonar com a aorta e alterações na movimentação do septo ventricular (Johansson *et al.*, 2007).

Testes intradérmicos

Os testes intradérmicos têm sido ocasionalmente utilizados para diagnóstico de RAO e para detecção de alérgenos sensibilizantes. Teoricamente, os cavalos afectados por RAO devem reagir se sensibilizados a um determinado alérgeno, mas os resultados que apoiam essa teoria foram inconclusivos. Por exemplo, em alguns estudos, cavalos clinicamente normais têm reações positivas ao teste cutâneo com alérgenos, enquanto cavalos afectados com RAO não reagem (Evans *et al.*, 1992); (Lorch *et al.*, 2001). Em geral, os testes intradérmicos não

permitem identificar cavalos afetados por RAO ou qual o agente específico inalado capaz de induzir a inflamação (Ainsworth & Cheetham, 2010).

2.2.6. Diagnósticos Diferenciais

Nos diagnósticos diferenciais de RAO encontram-se a IAD, doença das vias aéreas superiores, broncopneumonia, pleuropneumonia, infecção viral, neoplasia torácica e pneumonia parasitária. Estes diagnósticos diferenciais estão anteriormente descritos neste trabalho (Ponto 2.1.6.).

2.2.7. Tratamento

O tratamento da RAO tem como objetivo o controlo da inflamação e o alívio da obstrução das vias aéreas. Ele consiste na diminuição da exposição a causas ambientais, com a modificação ambiental, e na terapia médica. Os grupos de fármacos utilizados na terapia médica são os corticosteróides para o tratamento da inflamação das vias aéreas e os broncodilatadores para relaxar o músculo liso das vias aéreas. O tratamento de RAO e IAD é semelhante e foi anteriormente descrito neste trabalho (Ponto 2.1.7.).

2.2.8. Profilaxia

Quando um animal é diagnosticado com RAO, este será sempre suscetível à recorrência da doença. Mudanças de manejo devem ser implementadas de forma a diminuir a exposição a agentes ambientais e poderá ser indicado a administração profiláctica de esteróides e broncodilatadores através de inalação. As vacinações de rotina contra agentes patogénicos respiratórios virais são boas práticas de gestão.

2.2.9. Prognóstico

O manejo da inflamação causada pela doença é mais difícil quanto maior for a idade do cavalo. As fases exacerbadas da RAO normalmente ocorrem quando as práticas de profilaxia não são efetuadas. Caso o manejo ambiental seja bem realizado, e a terapia clínica for iniciada, a remissão clínica observa-se num grande número de casos (Ainsworth & Cheetham, 2010). Autores como Théoret *et al.*, 1992 e Aviza *et al.*, 2001 verificaram que os proprietários dos cavalos afetados não cumprem as medidas profiláticas o que dificulta a recuperação dos animais afetados.

Os cavalos que já tenham sido afetados por RAO estão mais suscetíveis ao aparecimento da doença, do que aqueles que nunca contataram com esta. A doença vai conduzir a uma remodelação pulmonar que consiste em hiperplasia fibromuscular da carina brônquica (Sage *et al.*, 2006), bronquiectasia (Lavoie *et al.*, 2004), hiperplasia do músculo liso (Herszberg *et al.*, 2006), diminuição na regulação dos recetores dos glucocorticóides (Ainsworth & Cheetham, 2010).

3. Estudo

3.1. Justificação

Na realização de uma endoscopia é sempre avaliado o espessamento da carina brônquica, contudo não está descrito como indicador nas doenças inflamatórias das vias aéreas inferiores nos equinos, visto que a sua relevância clínica e confiabilidade não foram comprovadas.

Este trabalho pretende demonstrar a possível importância da carina brônquica no diagnóstico da inflamação das vias aéreas, de forma a substituir a LBA em certas circunstâncias. Num dos casos, em animais dispneicos, a LBA não está indicada visto que requer a instilação de líquido para os brônquios o que vai agravar significativamente o estado de saúde dos animais. A sedação necessária para a realização da lavagem também não é indicada em casos de animais afectados a nível cardiovascular.

3.2. Objetivos

Avaliar a relevância clínica da quantificação do espessamento da carina brônquica e da presença de muco na traqueia e carina brônquica como método de diagnóstico de inflamação das vias aéreas inferiores em equinos.

A resposta ao objetivo será atingida através de:

- 1) Pesquisa retrospectiva da eventual existência de uma relação entre o grau de espessamento da carina brônquica com a percentagem de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos na citologia do líquido de LBA.
- 2) Pesquisa retrospectiva da eventual existência de uma relação entre a presença e o grau de muco na traqueia e carina brônquica com a percentagem de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos na citologia do líquido de LBA.
- 3) Pesquisa retrospectiva da eventual existência de uma correlação entre o grau de espessamento da carina brônquica e a presença e o grau de muco na traqueia e carina brônquica.

3.3. Materiais & métodos

3.3.1. Amostra

No âmbito deste estudo foi utilizado uma base de dados da Clinique Equine de Livet – Normandia, França, de Outubro 2008 a Dezembro 2013. Desta base de dados foram retiradas as seguintes informações: idade, vídeo de endoscopia e resultados da LBA – percentagem de neutrófilos, mastócitos, eosinófilos, macrófagos e linfócitos. Resultou uma população de 252 cavalos e 1 burro de várias raças e com idade entre os 2 e os 20 anos.

3.3.2. Critérios de seleção

Foram selecionados da base de dados os equinos que foram apresentados na clínica e que realizaram uma endoscopia com vídeo e uma LBA sem obrigatoriamente apresentarem sinais clínicos de doença respiratória.

3.3.3. Limitações ao estudo

Os resultados da citologia da LBA apresentam 3 fontes laboratoriais diferentes ao longo dos anos.

Possível avaliação subjetiva do grau de acumulação de muco no lúmen da traqueia e carina brônquica, assim como no grau de espessamento da carina brônquica pelos operadores, já que não foram efetuadas várias medidas, não podendo provar a repetibilidade.

3.3.4. Avaliação endoscópica por vídeo

A visualização dos vídeos das endoscopias foi realizada por dois operadores que desconheciam os dados clínicos de cada animal e teve por objetivo a obtenção de um grau de acumulação de muco no lúmen da traqueia e carina brônquica e um grau de espessamento da carina brônquica. Os vídeos das endoscopias para cada equino mostram a traqueia, da sua parte mais rostral à sua parte mais caudal, até à carina brônquica com a visualização da entrada de ambos os brônquios. A escala utilizada para a obtenção do grau de muco foi de Ramzan *et al.* (2008) – Tabela 4 e Figura 7 – e a escala utilizada para a obtenção do grau de espessamento da carina brônquica foi de Picandet *et al.*, 2009 – Tabela 5 e Figura 8.

Tabela 4: Score de muco no lúmen da traqueia (Adaptado de Ramzan *et al.*, 2008)

Grau	Descrição
0	Sem muco visível. Mucosa da traqueia pálida, com boa observação dos anéis cartilagíneos.
1	Presença focal difusa de muco na traqueia.
2	Quantidade moderada de muco com várias manchas ao longo da traqueia ou um acúmulo de muco na traqueia.
3	Quantidade moderada de muco com um filamento contínuo ou de várias grandes acumulações de muco.
4	Quantidade marcada de muco, com amplas manchas contínuas.

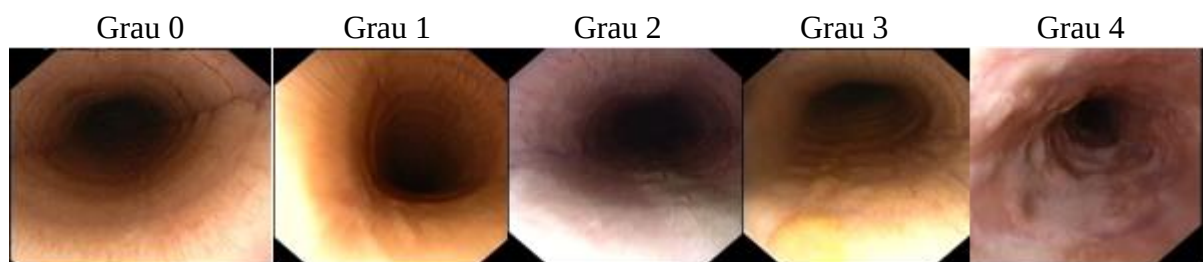


Figura 7: Diferentes graus de acumulação de muco no lúmen da traqueia (foto cedida pela Dra. Valérie Picandet).

Tabela 5: Score de espessamento da carina brônquica (Adaptado de Picandet *et al.*, 2009)

Grau	Descrição
0	Carina brônquica não espessada. Sem sinais de edema.
1	Carina brônquica espessada. Alguns sinais de edema.
2	Carina brônquica muito espessada. Edema presente.

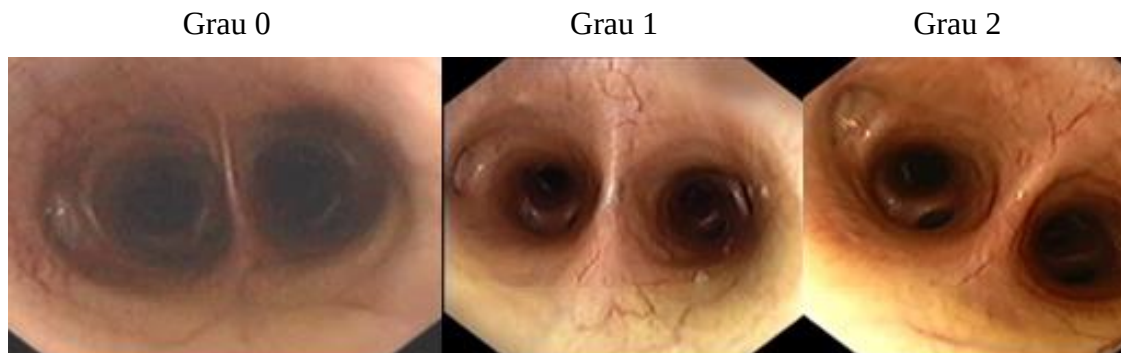


Figura 8: Diferentes graus de espessamento da carina brônquica (foto cedida pela Dra. Valérie Picandet).

3.3.5. Citologia da lavagem broncoalveolar

Foram utilizados os valores de percentagens de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos de forma a avaliar se cada animal tinha inflamação das vias aéreas inferiores. Foram considerados os seguintes valores como indicadores positivos de inflamação: >5% neutrófilos, >2% mastócitos e/ou >1% eosinófilos.

3.3.6. Análise estatística

A análise estatística foi desenvolvida com recurso ao *software* STATA 12®. Na componente descritiva, foi possível apresentar tabelas de frequência das variáveis categóricas e a sua relação com percentagens de células encontradas (neutrófilos, eosinófilos, mastócitos). Para avaliação inferencial da relação de variáveis categóricas e estas percentagens de células observadas, utilizou-se o teste de Qui-Quadrado de independência de Pearson. Todas as análises verificaram os pressupostos de aplicação apresentando, nas tabelas de contingência, frequências esperadas superiores a cinco em mais de 80% das células. A análise de resíduos padronizados ficou reservada para o caso de se encontrarem associações estatisticamente significativas. No caso de variáveis contínuas utilizou-se uma medida de tendência central, a média. As médias foram sempre apresentadas com uma medida de dispersão, o desvio padrão, incorporada na forma de intervalos de confiança de 95%. Adicionalmente foram criados diagramas de caixa e bigode, divididos em quatro quartis, representando cada um 25% das observações da amostra. Na estatística inferencial, efetuaram-se os testes de normalidade antes da aplicação dos testes *t* ou ANOVA. Quando os testes de Shapiro-Wilk ou Kolmogorov-Smirnov rejeitaram a normalidade procedeu-se à alternativa não paramétrica pelo teste de Mann-Whintey ou de Kruskal-Wallis.

Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando o valor de *p* demonstrou ser inferior ao nível de significância de 5% – $p < 0,05$.

3.4. Resultados

A Figura 9 mostra a relação entre a idade do cavalo e a quantidade de muco presente na traqueia e carina. O teste de Kruskal-Wallis indica que a quantidade de muco observado é diferente consoante a idade do cavalo ($p = 0,004$). Pela observação do diagrama de caixa e bigodes (Figura 9), pode ser concluído que a esta diferença é justificada pelo grupo de cavalos em cuja presença de muco é quantificada como de grau 4, a qual está associada tanto a cavalos com maior idade, como a uma amplitude de idades maior.

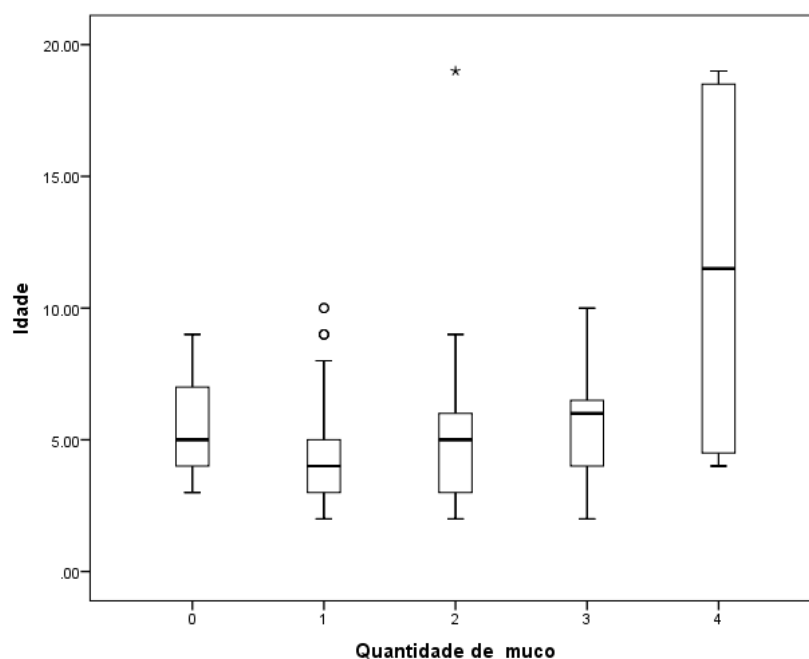


Figura 9: Relação entre a idade do cavalo e a quantidade de muco presente na traqueia e carina brônquica.

A Figura 10 mostra a relação entre os graus de muco e as percentagens de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos da LBA. Através da interpretação do teste de Qui-quadrado, este afirma que não existe uma relação estatisticamente significativa entre o grau de muco e a percentagem de neutrófilos ($p = 0,084$), de mastócitos ($p = 0,695$) e de eosinófilos ($p = 0,258$).

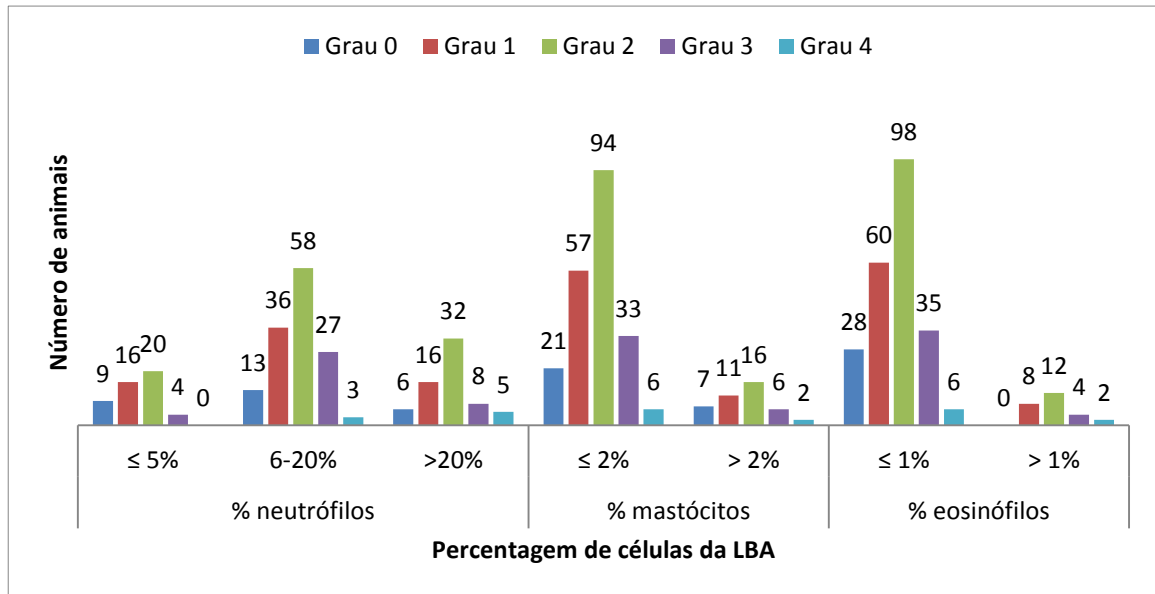


Figura 10: Relação entre o grau de muco e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).

Na Figura 11 pode-se observar a relação entre os graus de espessamento da carina brônquica e as percentagens de células da LBA. O teste de Qui-quadrado demonstra que não existe uma relação estatisticamente significativa entre o grau de espessamento da carina brônquica e a percentagem de neutrófilos ($p = 0,081$), de mastócitos ($p = 0,620$) e de eosinófilos ($p = 0,514$).

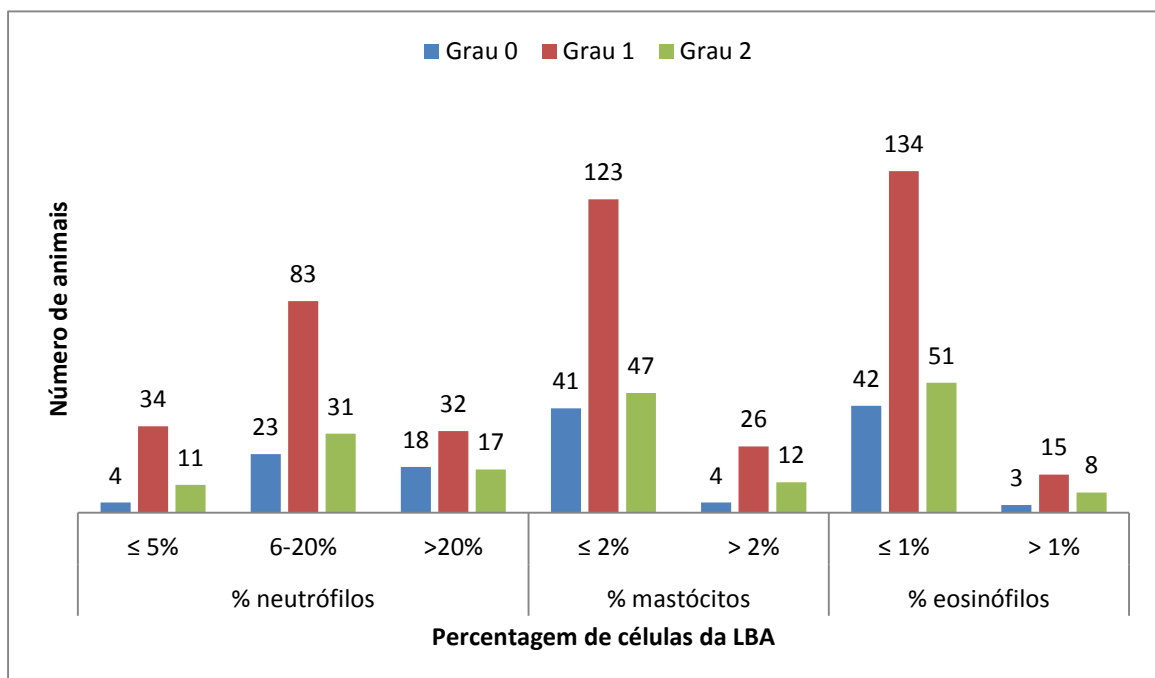


Figura 11: Relação entre o grau de carina brônquica e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).

A Figura 12 mostra a relação entre a ausência de muco (grau 0) e a presença de muco (grau 1-4) e as percentagens de células da LBA. O teste de Qui-quadrado afirma que não existe uma relação estatisticamente significativa entre a ausência ou presença de muco e a percentagem de neutrófilos ($p = 0,1917$), de mastócitos ($p = 0,3186$) e de eosinófilos ($p = 0,1166$).

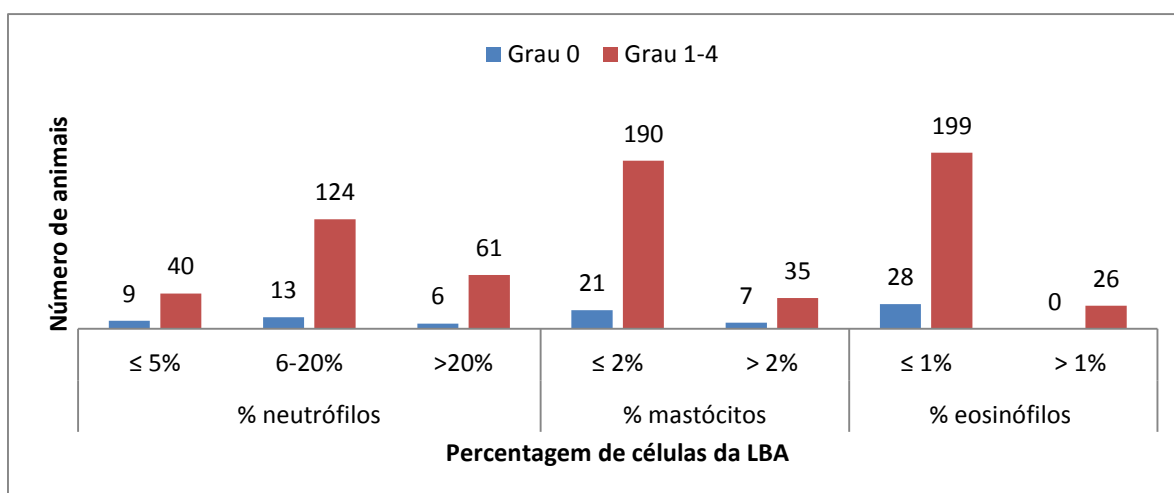


Figura 12: Relação entre a presença ou ausência de muco e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).

Na Figura 13 pode-se observar a relação entre a carina brônquica não espessada (grau 0) e a carina brônquica espessada (grau 1-2) e as percentagens de células da LBA. Pela análise do teste de Qui-quadrado conclui-se que existe uma relação estatisticamente significativa entre a ausência ou presença de espessamento da carina brônquica e o grau do mesmo com a percentagem de neutrófilos da LBA ($p = 0.03368$). Esta relação estatística indica que o espessamento da carina brônquica, independentemente do respetivo grau, está significativamente associado a um aumento de neutrófilos e a uma percentagem destas mesmas células na LBA entre 6% e 20%. No entanto, não existe uma relação estatisticamente significativa entre o espessamento da carina brônquica e a percentagem de mastócitos ($p = 0.1894$) e eosinófilos ($p = 0.5426$), segundo o teste de Qui-quadrado.

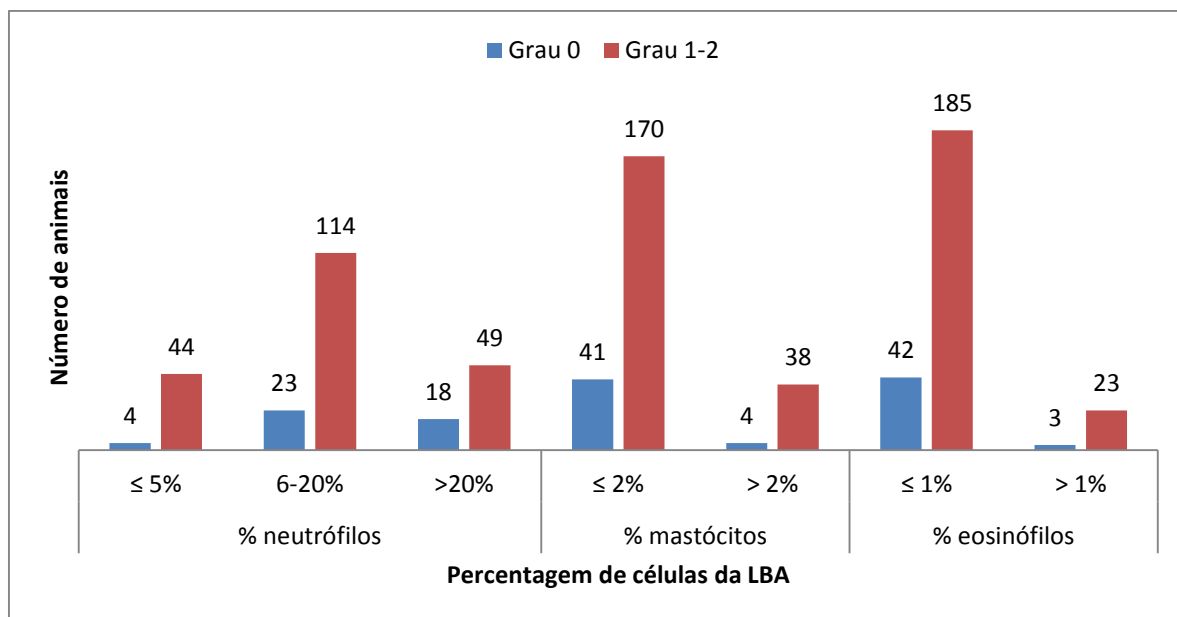


Figura 13: Relação entre a presença ou ausência de espessamento da carina brônquica e a percentagem de células da lavagem broncoalveolar (LBA).

3.5. Discussão

Como se pode observar no diagrama de caixa e bigodes na Figura 9 e nos resultados do teste de Kruskal-Wallis ($p = 0,004$), a existência de relação entre a idade e a quantidade de muco presente na traqueia e carina brônquica foi demonstrada. Esta relação indica que no grau 4 de muco estão presentes animais mais velhos e ainda uma maior amplitude de idades. O resultado deste teste corrobora com Couëtil & Hawkins (2013), que afirmam que nos cavalos de lazer, a quantidade de muco aumenta com a idade. No entanto os autores também afirmam que nos cavalos de corrida a quantidade de muco diminuía com a idade. Este fato é explicado devido à prevalência da IAD nos jovens cavalos de corrida. Como a doença afeta principalmente cavalos entre os 2 e 4 anos, e esta provoca o aumento de secreções respiratórias, é normal que nos cavalos de corrida não se verifique o aumento de muco com o aumento da idade.

Na Figura 10 é demonstrada a relação entre os graus de muco (de 0 a 4) e os diferentes grupos de percentagens de neutrófilos, mastócitos e eosinófilos. Em relação aos graus de muco e os diferentes grupos de percentagens de neutrófilos (menor ou igual a 5%, de 6 a 20 % e maior que 20%), foi verificado através do resultado do teste Qui-quadrado ($p = 0,084$), que não existe nenhuma relação estatisticamente significativa entre as duas variáveis. Quanto à relação entre os graus de muco e os grupos de percentagens de mastócitos (menor ou igual a 2% e maior que 2 %) e de eosinófilos (menor ou igual a 1% e maior a 1%), o valor de p resultante do teste Qui-quadrado indica que não existe nenhuma relação estatisticamente significativa. Estes resultados verificam-se num estudo de Gerber *et al.* (2003) no qual os autores observaram que a quantidade de muco não é significativamente correlacionada com as percentagens e números absolutos de neutrófilos da citologia da LBA. No entanto, os resultados deste estudo não foram verificados num estudo realizado por Couëtil *et al.* (2001) que teve por objetivo a avaliação da possível associação entre sinais clínicos, resultados de citologia da LBA e dos parâmetros do teste de função pulmonar. Neste estudo, os autores concluíram que a citologia da LBA está diretamente relacionada com os sinais clínicos de IAD. Verificou que a percentagem de neutrófilos na citologia da LBA era um resultado sensível para o diagnóstico de IAD e RAO. Em Gerber *et al.* (2004), foi demonstrado que a quantidade de muco presente nas vias aéreas tem uma boa correlação com a inflamação neutrofílica das vias aéreas. Em vários estudos (Couëtil *et al.*, 1999); (Couëtil *et al.*, 2001); (Gerber *et al.*, 2004); (Hoffman, 2008), foram observados dados

compatíveis com a boa correlação entre os valores da citologia da LBA e os sinais clínicos observados em animais afetados por IAD e RAO.

Neste estudo o mesmo não se verificou com a acumulação de muco nas vias aéreas, no entanto este resultado poderá ser pelo número da amostra ou por outras limitações do estudo como terem sido utilizados 3 fontes laboratoriais diferentes e pela possível subjetividade na avaliação dos graus de muco.

A carina brônquica pode sofrer alterações nas doenças respiratórias discutidas neste trabalho. Na Figura 11 pode-se observar a relação entre os graus de espessamento da carina brônquica e as percentagens de células da LBA (neutrófilos, mastócitos e eosinófilos). O teste de Qui-quadrado indica que não existe uma relação estatisticamente significativa entre o grau de carina brônquica e a percentagem de neutrófilos ($p = 0,081$), de mastócitos ($p = 0,620$) e de eosinófilos ($p = 0,514$). Estes resultados coincidem com as conclusões do estudo de Koch *et al.* (2007) que afirma que não existe correlação entre o grau de espessamento da carina brônquica com os sinais clínicos e endoscópicos e os resultados citológicos de animais afetados por RAO ou IAD. É possível que a inflamação presente aquando das doenças inflamatórias das vias aéreas, provoque edema da carina brônquica. Mas as mudanças no espessamento da carina brônquica poderão ser tão subtis que mesmo um examinador treinado teria dificuldades em distinguir diferentes graus de espessamento da mesma. Apesar dos graus de espessamento da carina brônquica por si só não ser uma ferramenta fiável de inflamação das vias aéreas inferiores, a utilização do grau de espessamento da carina brônquica com a acumulação de muco nas vias aéreas e com sinais de eritema das mesmas, poderia talvez, ser uma ferramenta fiável de avaliação de inflamação das vias aéreas inferiores em equinos.

A presença de muco nas vias aéreas é muitas vezes observada em afeções do trato respiratório em equinos (Burrell *et al.*, 1996). A Figura 12 mostra a relação entre a ausência de muco (grau 0) e a presença de muco (grau 1-4) com as percentagens de células da LBA. Como se pode observar, o teste de Qui-quadrado afirma que não existe uma relação estatisticamente significativa entre a ausência ou presença de muco e a percentagem de neutrófilos ($p = 0,1917$), de mastócitos ($p = 0,3186$) e de eosinófilos ($p = 0,1166$). Como anteriormente referido, existe um estudo que concorda com os resultados deste trabalho e vários estudos que não concordam. Tendo em conta a bibliografia revista neste trabalho, seria de esperar que a ausência ou presença

de muco e as percentagens da citologia da LBA estivessem relacionadas. Neste trabalho não se verificou esta relação talvez devido a certas limitações de estudo já anteriormente referidas.

Na Figura 13 pode-se observar a relação entre a carina brônquica não espessada (grau 0) e a carina brônquica espessada (grau 1-2) com as percentagens de células da LBA. Segundo o teste de Qui-quadrado não existe uma relação estatisticamente significativa entre o espessamento da carina brônquica e a percentagem de mastócitos e eosinófilos. No entanto, o mesmo teste sugere que existe uma relação estatisticamente significativa entre a carina brônquica não espessada ou espessada e a percentagem de neutrófilos da LBA ($p = 0,03368$). Apenas com base neste valor de p poderá afirmar-se que a carina brônquica espessada e não espessada pode ser utilizada como indicador de inflamação neutrofílica das vias aéreas inferiores.

Contudo, na Figura 13 os valores relacionados com a percentagem de neutrófilos superior a 20%, não é representativa deste resultado acima referido. Devido a esses valores, questiona-se se a presença ou ausência de espessamento da carina brônquica será um bom indicador de inflamação nos casos mais acentuados de neutrofilia na LBA. Para certificar se o espessamento da carina brônquica é ou não um bom indicador de inflamação, mais estudos deverão ser realizados sobre o mesmo.

A utilização do espessamento da carina brônquica por si só ou em conjunto com outros sinais endoscópicos como indicador de inflamação das vias aéreas inferiores, poderia substituir a LBA em certas circunstâncias necessárias. Em casos de animais gravemente afectados, animais com tosse e animais dispneicos, a instilação de líquido para os brônquios, necessária para a realização da LBA, irá agravar significativamente o estado de saúde dos animais. Outra desvantagem da LBA é a sedação necessária para a realização da lavagem que também não é indicada em casos de animais afectados a nível cardiovascular.

4. Conclusão

A endoscopia é uma técnica diagnóstica muito utilizada em cavalos para avaliar as doenças das vias aéreas, como é o caso da IAD e RAO. Embora este meio de diagnóstico seja muito comum, não existe qualquer estudo realizado que conclua qual a relevância clínica do espessamento da carina brônquica e da quantidade de muco na traqueia. Deste modo, esta dissertação pode-se considerar como oportuna pois, por um lado, apela à consciência desta problemática e, por outro, atua como veículo de promoção de eventuais debates.

Com a realização deste trabalho pode-se tirar algumas conclusões em relação à utilização da endoscopia como método de diagnóstico para a avaliação de parâmetros como o espessamento da carina brônquica e quantidade de muco presente na traqueia.

Pode-se concluir que cavalos mais velhos apresentam um aumento da quantidade de muco presente na traqueia. Outra das conclusões extraídas deste trabalho segundo os valores de *p* obtidos, foi o fato de não haver qualquer tipo de relação entre os diferentes graus de muco, de presença e ausência de muco, com as percentagens das células da LBA – neutrófilos, mastócitos e eosinófilos.

Por outro lado, concluiu-se que existe uma relação entre a presença e ausência de espessamento da carina brônquica com a percentagem de neutrófilos da LBA. No entanto, o mesmo não se verifica com as percentagens de mastócitos e de eosinófilos. Segundo este trabalho verificou-se que esta relação entre a presença e ausência de espessamento da carina brônquica com a percentagem de neutrófilos na LBA era limitada pois em casos mais graves de neutrofilia (>20%) na esta relação não se verifica. Mais estudos sobre este assunto serão necessários para a obtenção de uma resposta fidedigna sobre o espessamento da carina brônquica ser um indicador de inflamação das vias aéreas nos equinos.

5. Bibliografia

Ainsworth, J.C., Cheetham, M. (2010). Disorders of the Respiratory System. In: Equine Internal Medicine, pp. 382-384. (Eds.: Reed, S.M., Bayly, W.M., Sellon, D.C.). Saunders.

Aviza, G.A., Ainsworth, D.M., Eicker, S.W., Santiago, M. A., Divers, T. J., Perkins, G. A. (2001). Outcome of horses diagnosed with and treated for heaves (recurrent airway obstruction). Equine Veterinary Education, 13: 243.

Bakos, Z., Vörös, K., Kellokoski, H., Reiczigel, J. (2003). Comparison of the caudal lung borders determined by percussion and ultrasonography in horses with recurrent airway obstruction. Acta Veterinaria Hungarica, 51: 249.

Burrell, M.H., Wood, J.L., Whitwell, K.E., Chanter, N., Mackintosh, M.E., Mumford, J.A. (1996). Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationships between disease and viruses, bacteria and environment. The Veterinary Journal, 139: 308-313.

Christley, R.M., Rush, B. (2006) Inflammatory Airway Disease. In: Equine Respiratory Medicine and Surgery, pp. 591-599. (Eds.: McGorum, B.C., Robinson, N.E., Schumacher, J., Dixon, P.). Saunders.

Clark, C.K., Lester, G.D., Vetro, T., Rice, B. (1995). Bronchoalveolar lavage in horses: effect of exercise and repeated sampling on cytology. Australian Veterinary Journal, 72: 249-252.

Clarke, A. F., Madelin, T. M., Allpress, R. G. (1987). The relationship of air hygiene in stables to lower airway disease and pharyngeal lymphoid hyperplasia in two groups of Thoroughbred horses. Equine Veterinary Journal, 19:524-530.

Costa, L.R., Seahorn, T.L., Moore, R.M., Taylor, H.W., Gaunt, S.D., Beadle, R.E. (2000). Correlation of clinical score, intrapleural pressure, cytologic findings of bronchoalveolar fluid, and histopathologic lesions of pulmonary tissue in horses with

summer pasture-associated obstructive pulmonary disease. *American Journal Veterinary Research*, 61: 167

Couëtil, L.L., Chilcoat, C.D., Denicola, D.B., Clark, S.P., Glickman, N.W., Glickman, L.T. (2005). Randomized, controlled study of inhaled fluticasone propionate, oral administration of prednisone, and environmental management of horses with recurrent airway obstruction. *American Journal of Veterinary Research*, 66: 1665-1674.

Couëtil, L.L., Denicola, D.B. (1999). Blood gas, plasma lactate and bronchoalveolar lavage cytology analyses in racehorses with respiratory disease. *Equine Veterinary Journal Supplement*, 30: 77-82.

Couëtil, L.L., Hawkins J. (2013). The coughing horse: chronic cough. In: *Respiratory diseases of the horse*, pp.86-101. Manson Publishing.

Couëtil, L.L., Hinchcliff, K.W. (2004). Non-infectious diseases of the lower respiratory tract. In: *Equine sports medicine and surgery :basic and clinical sciences for the equine athlete*, pp. 613-656. (Eds.: Hinchcliff, K.W., Kaneps, A.J., Geor, R.J.). Saunders.

Couëtil, L.L., Hoffman, A.M., Hodgson, J., Buechner-Maxwell, V., Viel, L., Wood, J.L.N., Lavoie, J. (2007). Inflammatory airway disease of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21: 356.

Couëtil, L.L., Rosenthal, F.S., DeNicola, D.B., 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.

Davis, M.S., Williams, C.C., Meinkoth, J.H., Malayer, J.R., Royer, C.M., Williamson, K.K., McKenzie, E.C., (2007). Influx of neutrophils and persistence of cytokine expression in airways of horses after performing exercise while breathing cold air. *American Journal of Veterinary Research*, 68: 185.

Derksen, F.J., Scott, J.S., Miller, D.C., Slocombe, R.F., Robinson, N.E. (1985). Bronchoalveolar lavage in ponies with recurrent airway obstruction (heaves). *The American Review of Respiratory Disease*, 132: 1066.

Dixon, P.M. (1978). Pulmonary artery pressures in normal horses and in horses affected with chronic obstructive pulmonary disease. *Equine Veterinary Journal*, 10:195.

Doucet, M.Y. & Viel, L. (2002). Alveolar macrophage graded hemosiderin score from bronchoalveolar lavage in horses with exercise-induced pulmonary haemorrhage and controls. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16: 281-286.

Evans, A.G., Paradis, M.R., O'Callaghan, M. (1992). Intradermal testing of horses with chronic obstructive pulmonary disease and recurrent urticária. *American Journal of Veterinary Research*, 53: 203-223.

Fairbairn, S.M., Page, C.P., Lees, P., Cunningham, F.M. (1993). Early neutrophil but not eosinophil or platelet recruitment to the lungs of allergic horses following antigen exposure. *Clinical and Experimental Allergy*, 23: 821–828.

Fortier, G., Van, E.E., Fortier, C., Richard, E., Pottier, D., Pronost, S., Mischczak, F., Thiry, E., Lekeux, P. (2009). Herpesviruses in respiratory liquids of horses: putative implication in airway inflammation and association with cytological features. *Veterinary Microbiology*, 139: 34–41.

Gerber, V., Robinson, N.E., Luethi, S., Marti, E., Wampfler, B., Straub, R. (2003). Airway inflammation and mucus in two age groups of asymptomatic well-performing sport horses. *Equine Veterinary Journal*, 35: 491.

Gerber, V., Straub, R., Marti, E., Hauptman, J., Herholz, C., King, M., Imhof, A., Tahon, L., Robinson, N.E. (2004). Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity and volume. *Equine Veterinary Journal*, 36: 576-582.

Hare, H. E., Viel, L., O'Byrne P. M., Conlon, P. D. (1994). Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance. *Journal of Veterinary Pharmacology Therapeutics*, 17: 237-244.

Herszberg, B., Ramos-Barbón, D., Tamaoka, M., Martin, J.G., Lavoie, J.P. (2006). Heaves, an asthma-like equine disease, involves airway smooth muscle remodeling. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 118: 382.

Hinchcliff, K.W., Jackson, M.A., Morley, P.S., Brown, J.A., Dredge, A.E., O'Callaghan, P.A., McCaffrey, J.P., Slocombe, R.E., Clarke, A.E. (2005). Association between exercise-induced pulmonary haemorrhage and performance in Thoroughbred racehorses. *Journal of the American Veterinary Medicine Association*, 227: 768-774.

Hoffman, A.M. (1999). Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. *Equine Veterinary Education*, 11 (6): 330-336.

Hoffman, A.M. (2008). Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. *Veterinary Clinics Equine Practice*, 24: 423-435.

Johansson, A.M., Gardner, S.Y., Atkins, C.E., LaFevers, D.H., Breuhaus, B.A. (2007). Cardiovascular effects of acute pulmonary obstruction in horses with recurrent airway obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21: 302.

Kaup, F.J., Drommer, W., Damsch, S., Deegen, E. (1990). Ultrastructural findings in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). II: Pathomorphological changes of the terminal airways and the alveolar region. *Equine Veterinary Journal*, 22: 349-355.

Kirschvink, N., Di Silvestro, F., Sbai, I., (2002). The use of cardboard bedding material as part of an environmental control regime for heaves-affected horses: in vitro assessment of airborne dust and aeroallergen concentration and in vivo effects on lung function. *Veterinary Journal*, 163: 319-325.

Koch, C., Straub, R., Ramseyer, A., Widmer, A., Robinson, N.E., Gerber, V. (2007). Endoscopic scoring of the tracheal septum in horses and its clinical relevance for the evaluation of lower airway health in horses. *Equine Veterinary Journal*, 39: 107.

Lavoie, J.P., Cesarini, C., Lavoie-Lamoureux, A., Moran, K., Lutz, S., Picandet, V., Jean, D., Marcoux, M. (2011). Bronchoalveolar lavage fluid cytology and cytokine messenger ribonucleic acid expression of racehorses with exercise intolerance and lower airway inflammation. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25: 322-329.

Lavoie, J.P., Dalle, S., Breton, L., Hélie, P. (2004). Bronchiectasis in three adult horses with heaves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18: 757.

Léguillette, R. (2003). Recurrent airway obstruction – heaves. *Veterinary Clinics Equine Practice*, 19: 63-86.

Lorch, G., Hillier, A., Kwochka, K.W., Saville, W.J., Kohn, C.W., Jose-Cunilleras, E. (2001). Results of intradermal tests in horses without atopy and horses with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Veterinary Research*, 62: 389.

Mair, T.S., Derksen, F.J. (2000). Chronic obstructive pulmonary disease: a review. *Equine Veterinary Education*, 2: 53-62.

Marti, E., Gerber, H., Essich, G., Oulehla, J., Lazary, S. (1991). The genetic basis of equine allergic diseases. Chronic hypersensitivity bronchitis. *Equine Veterinary Journal*, 23: 457.

Mazan, M., Vin, R., Hoffman, A. (2005). Radiographic scoring lacks predictive value in inflammatory airway disease. *Equine Veterinary Journal*, 37: 541-545.

McGorum, B.C., Dixon, P.M., Halliwell, R.E. (1993). Responses of horses affected with chronic obstructive pulmonary disease to inhalation challenges with mould antigens. *Equine Veterinary Journal*, 25: 261–267.

McGorum, B.C., Ellison, J., Cullen, R. T. (1998). Total and respirable airborne dust endotoxin concentrations in three equine management systems. *Equine Veterinary Journal*, 30:430-434.

McKane, S.A., Slocombe, R.F. (2002). Alveolar fibrosis and changes in equine lung morphometry in response to intrapulmonary blood. *Equine Veterinary Journal*, 34: 451.

McPherson, E.A., Lawson, G.H., Murphy, J.R., Nicholson, J.M., Breeze, R.G., Pirie H.M. (1979). Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) in horses: aetiological studies: responses to intradermal and inhalation antigenic challenge. *Equine Veterinary Journal*, 11: 159.

McPherson, E.A., Thomson, J.R. (1983). Chronic obstructive pulmonary disease in the horse. 1: Nature of the disease. *Equine Veterinary Journal*, 15: 203.

Mills, P.C., Smith, N.C., Casas, I., Harris, P., Harris, R.C., Marlin, D.J. (1996). Effects of exercise intensity and environmental stress on indices of oxidative stress and iron

homeostasis during exercise in the horse. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 74: 60.

Moore, I., Horney, B., Day, K. (2004). Treatment of inflammatory airway disease in young standardbreds with interferon alfa. *The Canadian Veterinary Journal*, 45: 594-601

Nyman, G., Lindberg, R., Weckner, D., Björk M., Kvarf, C., Persson, S.G., Gustafsson, H., Hedenstierna, G. (1991). Pulmonary gas exchange correlated to clinical signs and lung pathology in horses with chronic bronchiolitis. *Equine Veterinary Journal*, 23: 253-260.

O'Callaghan, M.W., Pascoe, J.R., Tyler, W.S., Mason, D.K. (1987). Exercise-induced pulmonary haemorrhage in the horse: results of a detailed clinical, post mortem and imaging study. *Equine Veterinary Journal*, 19: 411-418.

Picandet, V., Cuiller, S., Caure, S., Retureau, C., Léguillette, R., Lavoie, J.P. (2009). *Proceeding du Congrès de l'Association Vétérinaire Équine Française – AVEF - Deauville, France.*

Pirie, R.S., Dixon, P.M., Collie, D.D., McGorum, B. C. (2001). Pulmonary and systemic effects of inhaled endotoxin in control and heaves horses. *Equine Veterinary Journal*, 33: 311.

Pirie, R.S., Dixon, P.M., McGorum, B.C. (2002). Evaluation of nebulised hay dust suspensions (HDS) for the diagnosis and investigations of heaves. *Equine Veterinary Journal*, 34: 343-347.

Ramzan, P.H.L., Parkin, T. D. H., Sheperd, M. C. (2008). Lower respiratory tract disease in thoroughbred racehorses: analysis of endoscopic data from a UK training yard. *Equine Veterinary Journal*, 40 (1): 7-13.

Robinson, N.E. (2001). International Workshop on Equine Chronic Airway Disease. Michigan State University 16-18 June 2000. *Equine Veterinary Journal*, 33: 5.

Robinson, N.E. (2003). Inflammatory airway disease: defining the syndrome. *Equine Veterinary Education*, 15 (2): 61-63

Sage, A.M., Valberg, S., Hayden, D.W., Firshman, A.M., Jacob, K. (2006). Echocardiography in a horse with cor pulmonale from recurrent airway obstruction. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20: 694.

Sanchez, A., Couëtil, L.L., Ward, M.P., Clark, S.P. (2005). Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19 (1): 87-92.

Seahorn, T.L., Beadle, R.E. (1993). Summer pasture-associated obstructive pulmonary disease in horses: 21 cases (1983-1991). *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 202: 779.

Sweeney, C.R., Humber, K.A., Roby, K.A. (1992 a). Cytologic findings of tracheobronchial aspirates from 66 thoroughbred racehorses. *American Journal Veterinary Research*, 53: 1172.

Sweeney, C.R., Rossier, Y., Ziemer, E.L., Lindborg, S. (1992 b). Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (8): 1376–1379.

Taylor, F.G.R., Brazil, T.J., Hillyer, M.H. (2010). *Diagnostic Techniques in Equine Medicine*, pp. 246-247. Elsevier Saunders.

Théoret, C., Lavoie, J.P., Bélanger, D. (1992) Le COPD chez le cheval: adhésion aux recommandations et efficacité thérapeutique. *Médecine Vétérinaire Québec*, 22: 88-89.

Tyler, W.S., Pascoe, J.R., Aguilera-Tejero, E. (1991). Morphological effects of autologous blood in airspaces of equine lungs. In: *Proceedings of the 10th Veterinary Respiratory Symposium*, Michigan State University, September 22-24.

Van Erck-Westergren, E., Franklin, S.H., Bayly, W.M. (2013). Respiratory diseases and their effects on respiratory function and exercise capacity. *Equine Veterinary Journal*, 45: 376-387.

Westermann, C.M., Laan, T.T., Van Nieuwstadt, R.A., Bull, S., Fink-Gremmels, J. (2005). Effects of antitussive agents administered before bronchoalveolar lavage in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 66:1420–1424.

Widmer, A., Doherr, M.G., Tessier, C., Koch, C., Ramseyer, A., Straub, R., Gerber, V. (2009). Association of increased tracheal mucus accumulation with poor willingness to perform in show-jumpers and dressage horses. *Veterinary Journal*, 182: 430-435.

Wilson, D.A. (2012). *Clinical veterinary advisor: the horse*, pp. 16-17; 444-445. Saunders Elsevier.

Wood, J.L., Newton, J.R., Chanter, N., Mumford, J.A. (2005). Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. *Equine Veterinary Journal*, 37:236.

Woods, P.S., Robinson, N.E., Swanson, M.C., Reed, C.E., Broadstone, R.V., Derksen, F. J. (1993). Airborne dust and aeroallergen concentration in a horse stable under two different management systems. *Equine Veterinary Journal*, 25: 208-213.