

ALTERAÇÕES NO ASPIRADO/LAVADO TRAQUEAL E NO LAVADO BRONCOALVEOLAR DECORRENTES DA PRÁTICA DESPORTIVA

Pedro Vicente Michelotto Júnior
MV MSc, Curso de Medicina Veterinária de PUCPR
michelottojunior@yahoo.com.br

Introdução

Seguramente, houve um grande avanço no entendimento das doenças pulmonares dos eqüinos nas duas últimas décadas, com considerável progresso nos procedimentos diagnósticos auxiliares. Mesmo assim, tais técnicas não devem substituir uma detalhada anamnese e um exame clínico minucioso. Contudo, em situações tais como a queda no rendimento desportivo, onde há falta de sinais clínicos específicos para as doenças do trato respiratório, os diagnósticos auxiliares podem detectar alterações pulmonares súbitas não evidenciadas pelo exame clínico de rotina (Hodgson e Hodgson, 2007).

O médico veterinário responsável por acompanhar cavalos atletas pode realizar diferentes colheitas de amostras do trato respiratório, mesmo em condições de campo, sendo as mais utilizadas o aspirado traqueal (AT), o lavado traqueal (LT) e o lavado broncoalveolar (LBA) (Christley e Rush, 2007; Hegedüs et al., 2007; Hewson e Viel, 2002; Hodgson e Hodgson, 2003; Hodgson e Hodgson 2007; Hoffman, 1999; Hughes et al., 2003; Lessa et al., 2005; Lessa et al., 2007; Mazan e Hoffman, 2003; McKane et al., 1993; Michelotto Júnior et al., 2007; Robinson et al., 2006). As técnicas de colheita mais utilizadas são o aspirado traqueal (AT) e o lavado broncoalveolar (Hughes et al., 2003), sendo que o diagnóstico citológico vai ser influenciado pela técnica utilizada. Então, quando optar por uma ou outra técnica?

O aspirado traqueal (AT) pode ser obtido durante a avaliação endoscópica das vias aéreas, o que permite que, concomitante a colheita de secreção, sejam avaliadas as estruturas do trato respiratório bem como as quantidades de muco presentes. Para isso, utiliza-se uma sonda de polietileno, introduzida pelo canal de biópsia do endoscópio, aspirando-se a secreção da região mais distal da traquéia, próximo a carina. Pode-se também, instilar nesta região da traquéia, de 10 - 15 ml de solução salina isotônica estéril, obtendo-se o lavado traqueal (LT). Estas técnicas de colheita de amostra para citologia são bastante práticas e bem toleradas pelos cavalos, mas inviabiliza a amostra

para um exame de cultura, caso este seja necessário (Hodgson e Hodgson, 2007). Considera-se uma amostra de AT adequada quando contém células de todos os níveis da árvore pulmonar, incluindo as células epiteliais colunares (provenientes da traquéia e brônquios) e cubóides (provenientes de brônquios distais e bronquíolos) e os macrófagos alveolares.

No caso do AT e do LT, deve-se ter o cuidado na avaliação das amostras obtidas de cavalos recém transportados. O transporte de cavalos resulta num grande aumento no número de bactérias e de células inflamatórias, nas vias aéreas inferiores, dentro de 6 a 12 horas do confinamento. Isto retorna ao normal dentro de 12 horas após o cavalo haver sido solto, podendo demorar um pouco mais caso haja desidratação (Hodgson e Hodgson, 2003).

A concentração de células na amostra de AT também pode ser alterada pelo exercício. A porcentagem de neutrófilos das amostras obtidas de cavalos de corrida, após o exercício, foram significativamente maiores que nas amostras colhidas dos mesmos cavalos, antes do exercício (Malikides et al., 2007). Portanto, recomenda-se que as amostras de AT sejam colhidas no período de 30 - 60 minutos após o exercício, sendo que terão maior valor diagnóstico. As amostras obtidas neste tempo deverão conter mais secreção, representando mais adequadamente diferentes áreas do trato respiratório e com maior possibilidade de evidenciar uma doença pulmonar, caso haja (Hodgson e Hodgson, 2007).

O lavado broncolaveolar (LBA) também pode ser realizado com a utilização do endoscópio, ou por meio de uma sonda própria para o LBA em equinos, introduzida às cegas até alojar-se em um brônquio. Igualmente ao AT, o LBA pode ser realizado em condições de campo, mas com a necessidade de que o cavalo esteja adequadamente sedado (Fernandes et al., 2000; Hewson e Viel, 2002; Hodgson e Hodgson, 2007; Lessa et al., 2005; Mazan e Hoffman, 2003; Viel e Hewson, 2003). Próximo à bifurcação da traquéia pode ser infundido 60 - 100 ml de solução de lidocaína (0,4%) pré-aquecida, a fim de dessensibilizar os receptores da tosse (Viel e Hewson, 2001), o que não pode ser feito quando deseja-se avaliar função das células do sistema imune pulmonar (Rosen e Gordon, 1987). Um volume padrão de solução salina estéril, entre 250 - 500 ml, deve ser empregado para a realização do LBA (Robinson, 2001), mas pode-se considerar o volume de 300 ml como o mínimo requerido para lavar-se adequadamente a região

broncoalveolar (Hughes et al., 2003). O material recolhido deve ser encaminhado a um laboratório para análise e os detalhes destes procedimentos estão descritos na apresentação de Lessa (*Abraveq* 2008).

É importante que as técnicas de avaliação citológica das vias aéreas sejam parte integrante da rotina em clínica de equinos, pois as desordens respiratórias ocupam um papel significativo na saúde e desempenho dos cavalos de todas as idades e funções desportivas (Viel e Hewson, 2001). Também, a doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) e a hemorragia pulmonar induzida pelo exercício (HPIE) podem apresentar-se clinicamente pouco perceptíveis, mas podem causar prejuízo importante ao rendimento atlético por acentuarem a hipoxemia induzida pelo exercício (Sánchez et al., 2005). O diagnóstico, a severidade e o prognóstico, bem como a prevalência de quadros como a DIVA e a HPIE, dependem da avaliação citológica, para que não ocorram equívocos ou diagnósticos incompletos (Couëtil et al., 2007; Doucet e Viel, 2002; McKane et al., 1993).

O perfil celular encontrado nas amostras obtidas por AT ou por LBA varia, sendo que dentro de cada uma das técnicas, o AT apresenta as maiores variações (Derksen et al., 1989). Não foi observada correlação entre os achados de AT e de LBA em um mesmo cavalo, sendo que o perfil celular encontrado em uma das técnicas poderá ser diferente do observado na outra (Derksen et al., 1989; Hewson e Viel, 2002; Hodgson e Hodgson, 2003). A colheita de AT e LBA após o exercício resultou em diagnóstico coincidente em aproximadamente 60% dos casos, havendo discrepância de diagnóstico nas demais avaliações (Christley e Rush, 2007). Em alguns casos, quando tem-se um diagnóstico bastante provável, baseado na história e no exame clínico, uma ou outra técnica podem estar mais indicadas. Na suspeita de obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) ou HPIE, o LBA pode ser utilizado e, em casos de suspeita de pneumonia bacteriana ou pleuropneumonia, pode-se optar pelo AT. Contudo, na avaliação de cavalos referindo queda no rendimento atlético ou tosse durante o exercício, é indicada a utilização de ambas as técnicas, para obter-se a informação mais completa a respeito da condição das vias aéreas (Derksen et al., 1989; Viel et al., 2000; Hodgson e Hodgson, 2007).

Manuseio e Preparação das Amostras

Preferencialmente, as amostras de AT devem ser transferidas a lâminas o quanto antes após a colheita, realizando-se os esfregaços no próprio local de trabalho. Deve-se procurar que as amostras cheguem ao laboratório, para processamento, no menor tempo possível, a fim de evitar-se a deterioração da morfologia celular e a proliferação bacteriana. A manutenção do material na temperatura ambiente por 8 horas causa alteração celular mínima, podendo-se estender este prazo para 24 horas mantendo-se as amostras a 4^oC (Pickles et al., 2002b). A contagem total de células nucleadas e as avaliações de função celular (fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio, entre outras) devem ser procedidas o mais breve possível após a colheita.

A contagem do número total de células por ml na amostra pode ajudar na interpretação dos números relativos (porcentuais) de cada tipo celular identificado. Assim, as contagens do número total de células nucleadas (NTCN) e de eritrócitos totais podem ser realizadas de forma precisa utilizando-se a câmara de Neubauer ou um contador automático de células. O número total de células nucleadas varia de acordo com a técnica de colheita, AT ou LBA, e a forma utilizada para a contagem. Em geral, o AT de um cavalo clinicamente normal contém < 10⁹ células/litro, com poucas ou nenhuma hemácia presente. Para o LBA, considera-se que um cavalo sadio tenha entre < 10⁹ células/litro a 4 x 10⁸ células/litro. Contudo, o volume de fluido infundido, no caso do LBA, influenciará na contagem total e diferencial de células na amostra obtida. Pequenos volumes resultam em um lavado bronquial, sem a obtenção de células do espaço alveolar, e acabará por obter um maior percentual de neutrófilos. Isto, em comparação com maiores volumes infundidos, que obtém amostras mais representativas da região alveolar das vias aéreas. Como o volume infundido de solução variou consideravelmente entre estudos realizados anteriormente, estabeleceu-se no *Michigan Workshop* que um volume padrão a ser utilizado em LBA deve compreender entre 250-500 ml, permitindo a comparação entre estudos utilizando a técnica do LBA (Hewson e Viel, 2002; Hodgson e Hodgson, 2007).

As amostras obtidas por AT usualmente são estendidas em lâminas para citologia e secadas ao ar, até serem coradas. As amostras de lavados podem ser preparadas por esfregaço, a partir do concentrado de células (pellet) após a centrifugação do material a 340g por 6 minutos, ou por citocentrifugação, não tendo

vido encontrado diferença no diagnóstico final obtido por uma ou outra forma de preparar a lâmina (Pickles et al., 2002a). A utilização do esfregaço é mais viável para o trabalho a campo (Hodgson e Hodgson, 2007), já que a citocentrifugação exige o envio do material a um laboratório que possua este equipamento. A preparação das lâminas através do uso da citocentrífuga causa um significativo aumento na contagem porcentual de macrófagos e uma diminuição no porcentual de linfócitos, em comparação a preparação por esfregaço, sem causar alteração no diagnóstico. A contagem porcentual de neutrófilos não é alterada comparando-se as duas formas de preparo das lâminas (Pickles et al., 2002a). Portanto, tanto a citocentrifugação quanto o esfregaço são considerados adequados para o preparo de lâminas para a avaliação citológica, sendo importante o clínico manter a consistência no emprego de uma das duas formas (Hodgson e Hodgson, 2007).

Técnicas de Coloração

Preparadas as lâminas, várias técnicas de coloração são usualmente empregadas, sendo as mais comuns a Wright-Giemsa, *Diff-Quick*, May-Grünwald, Leishmann (Hoffman, 1999; Hewson e Viel, 2002; Viel e Hewson, 2003) e Rosenfeld (Fernandes et al., 2000; Lessa et al., 2007). A identificação de mastócitos pode ser melhorada utilizando-se as colorações de Leishmann ou o Azul de Toluidina (Hoffman, 1999; Hughes et al., 2003; Hodgson e Hodgson, 2007). A detecção de hemossideróforos, em cavalos com HPIE, pode ser feita facilmente através das colorações como *Diff-Quick*, Wright-Giemsa (Mazan e Hoffman, 2003) e Romanowsky (Zinkl, 2002; Michelotto Júnior et al., 2007b), mas a coloração Azul da Prússia é recomendada para evidenciar a hemossiderina (Doucet e Viel, 2002; Biava et al., 2006).

Interpretação dos Achados Citológicos

O significado das variações no número total de células e nos valores relativos para os principais tipos celulares, evidenciados nas amostras citológicas de AT e LBA, fazendo as devidas associações à prática do exercício, serão discutidos e apresentados conforme os resultados obtidos por diversos estudos.

A contagem do número total de células nucleadas (NTCN) do LBA não altera após um exercício extenuante, mas sofre influência do treinamento. As amostras obtidas de cavalos de corrida, após um período de treinamento, apresentaram o NTCN maior do que antes (Raidal et al., 2000). Também, um estudo em potros PSI de corrida jovens, onde o LBA foi colhido 24 horas após um exercício intenso, pode-se constatar um aumento significativo no NTCN em relação ao grupo controle (Michelotto Júnior et al., 2008a).

As células epiteliais ciliadas constituem um achado comum nas amostras de AT, podendo encontrar-se em número aumentado nas amostras colhidas com o auxílio do endoscópio. No LBA, está ausente ou pode ser ocasionalmente identificada, particularmente pelo traumatismo à mucosa, causado pelo endoscópio ou pela sonda durante a colheita. Contudo, um aumento não traumático na população de células epiteliais no LBA pode acontecer como resultado de uma infecção viral ou em casos de exacerbação severa de inflamação das vias aéreas (Viel e Hewson, 2003; Lessa et al., 2007). Nas viroses, uma característica do dano epitelial pelo vírus é a identificação de placas de cílios soltos na lâmina, o que é conhecido como cilioctoforia (Hewson e Viel, 2002).

Células caliciformes são células produtoras de muco, não ciliadas, que podem ser observadas em variadas formas nas preparações citológicas (Hodgson e Hodgson, 2007). A observação de uma maior quantidade destas células pode ocorrer em inflamação das vias aéreas (Voynow et al., 2004; Lugo et al., 2006), tendo sido descritas, nos cavalos, em casos de obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) (Zinkl, 2002). Também foram observadas em amostras de AT traqueal de potros PSI de corrida antes do início dos treinamentos (Michelotto Júnior et al., 2007b), podendo representar uma observação precoce de inflamação das vias aéreas causada por fatores ambientais.

O macrófago alveolar é a célula predominante em amostras de AT e LBA de cavalos saudáveis, compreendendo em torno 60% - 70% do total de células (Hoffman, 1999; Hoffman et al., 2003; Viel e Hewson, 2003). Estas células podem conter em seu interior uma variedade de substâncias fagocitadas, tais como eritrócitos, células apoptóticas, esporos de fungos, polens e hemossiderina (Hodgson e Hodgson, 2007). Um número aumentado de macrófagos foi detectado nas vias aéreas de cavalos PSI de corrida, que apresentaram-se com tosse crônica (McKane et al., 1993).

Os macrófagos multinucleados (macrófagos gigantes multinucleados ou células gigantes) formam-se a partir da fusão de dois ou mais macrófagos, constituindo um achado importante no processo inflamatório pulmonar (Anderson et al., 1999) ao mesmo tempo que representa uma resposta imune do tipo Th2 (Helming e Gordon, 2007). Estas células podem ser observadas em pequena quantidade no AT e no LBA de cavalos sem sinais de inflamação das vias aéreas, sendo que um aumento no seu aparecimento pode acontecer em casos de inflamação crônica (Hodgson e Hodgson, 2007).

Os linfócitos aparecem em pequena quantidade no AT, representando < 10% do total de células (Hodgson e Hodgson, 2007; Hoffman et al., 2003) mas estão em maior proporção nas amostras de LBA, onde representam em torno de 30% - 35% do total de células (Hoffman et al., 2003; Viel e Hewson, 2003).

A presença de neutrófilos nas vias aéreas de cavalos sadios, também deve ocorrer em pequenas quantidades, se bem que por responderem a qualquer estímulo, seu percentual pode flutuar rapidamente. A migração de neutrófilos para o trato respiratório pode acontecer em 5 - 6 horas a partir do estímulo (Brazil, 2001; Léguillette, 2003) e são encontrados em maiores proporções no AT em relação ao LBA, refletindo, possivelmente, a maior exposição das vias aéreas proximais a influências nocivas. A interpretação quanto aos valores a serem considerados normais para neutrófilos nas vias aéreas, constitui um dilema, especialmente no AT, pela dificuldade em associar-se o aumento no percentual de células a uma patologia pulmonar (Hodgson e Hodgson, 2003). Assim, considera-se que o percentual de neutrófilos nas vias aéreas de cavalos sadios deva ser < 20% do total para o AT (Hodgson e Hodgson, 2007; Hoffman et al., 2003) e < 5% no LBA (Hoffman et al., 2003; Viel e Hewson, 2003).

Em cavalos de corrida, o aumento no percentual de células inflamatórias pode caracterizar doença inflamatória das vias aéreas (DIVA), sendo que a neutrofilia no LBA pode ser correlacionada a um baixo rendimento desportivo (Couëtil et al., 2007). Apesar de Holcombe et al. (2006) não terem encontrado uma associação entre as contagens de células e o rendimento desportivo, dentre os cavalos estudados, aqueles que já haviam participado de uma corrida apresentaram maiores quantidades de neutrófilos em relação aos que ainda não haviam corrido. Outro estudo, no entanto, encontrou uma quantidade maior de neutrófilos no lavado traqueal (LT) dos cavalos em

treinamento, sendo ainda mais acentuado nos cavalos referindo tosse, o que representou também um maior risco de participação bacteriana (Christley et al., 2001). Outro ainda, procurou correlacionar a presença de neutrófilos nas vias aéreas à capacidade desportiva, evidenciou a presença de um percentual médio de 36,5% de neutrófilos na traquéia, em 567 exames realizados, sendo que muitos dos cavalos não haviam apresentado quantidades visíveis de muco. Os potros de dois anos de idade avaliados neste último estudo, mesmo sem muco visível na traquéia apresentaram 33,3% de neutrófilos (Robinson, 2005).

Contudo, também deve-se levar em consideração o clima, a estação do ano e a condição de manejo em que se encontram os grupos de cavalos estudados, quando se avalia as populações celulares nas vias aéreas. O número percentual médio de neutrófilos no LT de cavalos de montaria avaliados durante o inverno foi de 39,8%, tendo sido de 30,3% no verão. Neste estudo, o LT dos cavalos que não apresentaram muco visível na traquéia foi de 29% durante o inverno e de 24% no verão, sendo que os autores concluíram que os cavalos mantidos fora, durante o inverno, apresentaram acúmulos de muco com uma quantidade maior de células inflamatórias nas vias aéreas (Robinson et al., 2006).

Portanto, parece que a inflamação das vias aéreas precede a produção de muco, havendo a necessidade de que os neutrófilos sejam ativados, no trato respiratório, para que o muco seja produzido de forma visível na traquéia (Robinson, 2005). De qualquer forma, um consenso ao respeito da DIVA concluiu, até o momento, que a presença de inflamação traqueal não é suficiente para caracterizar a DIVA, em parte pela discordância entre a citologia traqueal e a do LBA e pela ausência de dados correlacionando a citologia traqueal com o rendimento atlético (Couëtil et al., 2007).

Os eosinófilos são encontrados em número bastante baixo (0% - 2%) no AT e no LBA de cavalos adultos clinicamente sadios (Hodgson e Hodgson, 2007). Um aumento no percentual de eosinófilos no LBA de cavalos é usualmente um achado transitório, sendo que dificilmente esse achado se repetirá, mesmo realizando-se uma nova colheita de LBA 24 horas após a primeira (Viel e Hewson, 2003). Mesmo assim, constatou-se em cavalos de corrida jovens com baixo rendimento, uma hiperresponsividade das vias aéreas associada a uma população de eosinófilos aumentada no LBA (Hare e Viel, 1998; Hewson e Viel, 2002).

Os mastócitos também são encontrados em pequeno número nas amostras de AT e de LBA, e um aumento do seu percentual já foi correlacionado a hiperresponsividade das vias aéreas em cavalos apresentando tosse crônica, alterações em medidas de função pulmonar e rendimento atlético reduzido (Christley e Rush, 2007; Hoffman et al., 1998). A identificação dos mastócitos nas amostras citológicas é facilitada pela utilização de colorações especiais, tais como o Azul de Toluidina e Leishmann (Hewson e Viel, 2002; Hodgson e Hodgson, 2007; Hughes et al., 2003).

De qualquer forma, os mastócitos são predominantemente encontrados nas pequenas vias aéreas distais e alvéolos, aparecendo mais em LBA em relação ao AT, enquanto que os eosinófilos aparecem de forma mais generalizada pelas vias aéreas inferiores. A utilização tanto do AT quanto do LBA faz-se necessário para a avaliação mais completa de mastócitos e eosinófilos nas vias aéreas inferiores dos cavalos (Hughes et al., 2003).

As Espirais de Curschmann constituem uma matriz de muco que obstrui as pequenas vias aéreas, sendo observadas quando a produção de muco está aumentada nos bronquíolos menores (Zinkl, 2002), especialmente em casos avançados de inflamação pulmonar (Viel e Hewson, 2003). Em um estudo, foram observadas em amostras de AT em 13,5% dos potros PSI de corrida avaliados ainda antes do início dos treinamentos, podendo representar uma fase bastante precoce da inflamação pulmonar em função de fatores ambientais (Michelotto Júnior, 2007b). A quantidade aumentada de muco nas vias aéreas esteve associada à tosse e ao percentual aumentado de neutrófilos, significando inflamação das vias aéreas dos cavalos (Holcombe et al., 2006; Robinson, 2005; Robinson et al., 2006). A relação entre a produção de muco nas vias aéreas e o exercício, pode ser explicada pelo aumento da expressão do gene MUC5AC, responsável pela produção de mucina, induzido pelo exercício (Hallstrand et al., 2007).

No LBA, pode haver a predominância de um único tipo de célula inflamatória, como o mastócito, o eosinófilo, o linfócito, ou o neutrófilo, mas também pode-se observar uma resposta inflamatória mista. A predominância de um único tipo celular aparentemente ocorre no início da inflamação pulmonar, sendo que uma população mista de células é observada mais freqüentemente à medida que a resposta inflamatória progride (Viel e Hewson, 2003).

Alterações na Citologia Decorrentes do Exercício

A prática do exercício, e os seus efeitos no organismo, tem sido extensamente estudada, podendo ser considerada benéfica ou prejudicial à saúde, conforme a intensidade, a duração e as condições nas quais ocorra. Já está bem definido que, o exercício físico como indutor de estresse, provoca alterações funcionais no sistema imunológico (Leandro et al., 2002). Igualmente, os efeitos do exercício às vias aéreas têm sido investigados em diversas espécies.

Um estudo em camundongos, submetidos a treinamento aeróbico, de intensidade moderada, evidenciou a diminuição do infiltrado leucocitário pulmonar, o que foi proposto como um efeito benéfico do exercício, a ser transportado à pacientes asmáticos (Pastva et al., 2004).

Em pessoas asmáticas, uma condição muitas vezes comparada à inflamação pulmonar dos cavalos (DIVA e ORVA), a broncoconstrição induzida pelo exercício causou injúria ao epitélio, resultando num marcado aumento do percentual de células epiteliais (Hallstrand et al., 2005) e de eosinófilos na secreção respiratória, o que esteve associado ao aumento de cisteinil leucotrienos e prostaglandina E₂ (Hallstrand et al., 2005; Kivity et al., 2000). A concentração aumentada de células epiteliais foi evidenciada também no LBA de cavalos, que realizaram exercício em ar frio (-5⁰C), estando associado ao aumento de citocinas do tipo Th2 (Davis et al., 2005).

A eosinofilia também foi observada na secreção de atletas corredores, que apresentaram hiperresponsividade bronquial ao exercício, os quais também evidenciaram níveis aumentados de óxido nítrico no exalado e exacerbação dos sintomas induzidos pelo exercício (Vergès et al., 2005).

Em corredores, também demonstrou-se que o exercício físico, particularmente o prolongado, causou estresse significativo ao sistema respiratório (Denguezli-Bouzgarrou et al., 2006). Uma temporada de treinamento para corridas de longa distância induziu um recrutamento de neutrófilos e macrófagos para as vias aéreas, resultando em inflamação pulmonar induzida pelo treinamento. A porcentagem basal de neutrófilos no *escarro* induzido manteve-se alta, sugerindo um aumento crônico de neutrófilos nas vias aéreas, contudo, de magnitude insuficiente para causar manifestações clínicas. Os autores constataram, associado às alterações citológicas, um

aumento significativo de histamina, interleucina-8 (IL-8), leucotriene B₄ (LTB₄) e leucotriene E₄ (LTE₄) (Denguezli-Bouzgarrou et al., 2007).

O treinamento também ocasionou um aumento no porcentual de neutrófilos no LBA de potros PSI de corrida, em estágio adiantado de treinamento, mas que ainda não haviam corrido. Juntamente ao aumento na população de neutrófilos encontrou-se um aumento do NTCN e da concentração de proteínas no LBA, representando inflamação das vias aéreas em potros de corrida ainda bastante jovens. Apesar da patogênese da DIVA ainda ser pouco definida (Couëttil et al., 2007), o estudo em questão identificou a participação do fator de agregação plaquetária (PAF) na inflamação pulmonar nos potros PSI de corrida na fase inicial da sua vida atlética (Michelotto Júnior et al., 2008b).

O LBA de potros de corrida jovens que ainda não haviam corrido, colhido 24 horas após um exercício intenso, evidenciou 10,5% de neutrófilos e 2,8% de hemossideróforos, dentre o total de células. Assim, observou-se inflamação pulmonar juntamente com evidência de HPIE, também numa fase bastante precoce da vida atlética de potros preparados para a corrida (Michelotto Júnior et al., 2008a).

A avaliação de 27 cavalos quarto de milha saudáveis, através de endoscopia e citologia do AT após prova de três tambores, detectou um porcentual de neutrófilos de 23,1%, sendo que três dos cavalos avaliados apresentaram eosinofilia. Assim, constatou-se que através da avaliação citológica pode-se identificar inflamação pulmonar mesmo antes que esta provoque o aparecimento de sinais clínicos evidentes, já que os cavalos estudados não apresentavam histórico de doença respiratória. A avaliação endoscópica evidenciou HPIE em seis cavalos, enquanto que somente em três deles observou-se hemossideróforos no AT, demonstrando que pode haver uma discrepância temporal entre a observação de sangue na traquéia e o aparecimento de hemossideróforos nas vias aéreas (Michelotto Júnior et al., 2007a).

Hemorragia Pulmonar Induzida Pelo Exercício (HPIE)

A HPIE foi descrita inicialmente em cavalos de corrida, por Pascoe et al. em 1981, baseado na observação endoscópica de sangue nas vias aéreas de cavalos após o

exercício. Desde então, uma prevalência de HPIE em torno de 50% tem sido descrita em cavalos de distintas atividades desportivas (Doucet e Viel, 2002).

Um estudo realizado em 121 cavalos PSI, avaliados no período de 60 minutos após a corrida através de endoscopia e citologia do AT, demonstrou uma incidência de HPIE de 76,9%, mesmo não tendo ocorrido epistaxe em nenhum dos cavalos estudados. Encontrou-se também que a condição da pista de areia influenciou a incidência da HPIE, sendo que na pista seca houve 82,2% de hemorragia, enquanto que houve 75% na pista úmida e 60% na pista molhada. O autor creditou a maior incidência de HPIE em cavalos que correram na pista seca, à maior velocidade desenvolvida pelos cavalos neste tipo de pista. Na avaliação citológica dos AT detectou-se hemossiderófagos presentes em 64,4% dos cavalos avaliados. Não houve uma relação entre o aparecimento de hemossiderófagos nos AT e a colocação obtida nas corridas, contudo, com relação à observação de sangue, 65,5% dos cavalos considerados perdedores apresentaram algum grau de sangue na traquéia, enquanto que este valor foi de 34,4% para os cavalos ganhadores (Eppinger, 1990).

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

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

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

(Meyer et al., 1998). A presença de hemossiderófagos nas amostras de LBA, portanto, pode ser considerada a forma mais sensível para se avaliar a severidade da HPIE (Sánchez et al., 2005).

Outra maneira de realizar a avaliação dos hemossiderófagos no LBA é através da gradação de hemossiderina, utilizando-se a coloração Azul da Prússia, sendo mais sensível na identificação da HPIE em relação a repetidas avaliações endoscópicas (Biava et al., 2006; Doucet e Viel, 2002). Contudo, o fato dos eritrócitos terem que ser degradados a hemoglobina e ferritina antes da hemossiderina ser formada, deve-se ter o cuidado na avaliação das amostras, já que o tempo da colheita após a hemorragia pode influenciar no resultado.

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

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

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

Outros Efeitos do Exercício nas Vias Aéreas

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

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

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

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

Assim, ainda são muitas as possibilidades de avaliação das amostras obtidas das vias aéreas, tais como o estudo dos mediadores da inflamação pulmonar nos cavalos, na DIVA e na ORVA, e também sua relação com o exercício, a fim de que o melhor entendimento do processo inflamatório permita o desenvolvimento de tratamentos mais eficazes. Igualmente, ainda é preciso conhecer melhor a prevalência das doenças pulmonares inflamatórias nas diferentes populações de cavalos atletas, falando-se em

diferentes raças, atividade desportiva e mesmo localidades. Portanto, é de suma importância que o clínico utilize, de forma rotineira, a obtenção de amostras das vias aéreas, por aspirado e/ou por lavados, na busca pelo diagnóstico mais apurado bem como para a avaliação dos tratamentos empregados.

Referências Bibliográficas

- ANDERSON, S.; SHIRES, V.L.; WILSON, R.A.; MOUNTFORD, A.P. Formation of multinucleated giant cells in the mouse lung is promoted in the absence of interleukin-12. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, New York: American Thoracic Society, v. 20, p. 371-378, 1999.
- BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; DORNBUSCH, P.T.; MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; BIONDO, A.W.; CASSOU, F.; ZANOTTO, G.M.; TELLES, J.E.Q. Clinical and cytologic evaluation of respiratory tract from quarter horses following exercise. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p.60-65, 2006.
- BRAZIL, T.J. The role of neutrophils in equine heaves. **Proceedings of the 2nd World Equine Airways Symposium**, Edinburgh. 2001.
- CHRISTLEY, R.M.; HODGSON, D.R.; ROSE, R.J.; HODGSON, J.L.; WOOD, J.L.N.; REID, S.W.J. Coughing in thoroughbred racehorses: risk factors and tracheal endoscopic and cytologic findings. **The Veterinary Record**, v. 148, p.99-104, 2001.
- CHRISTLEY, R.; RUSH, B.R. Inflammatory airway disease. In: MCGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**, Philadelphia: Saunders Elsevier, 2007, p.591-599.
- COUËTIL, L.L.; HOFFMAN, A.M.; HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses, **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 21, p. 356-361, 2007.
- DAVIS, M.S.; MALAYER, J.R.; VANDEVENTER, L.; ROYER, C.M.; MCKENZIE, E.C.; WILLIAMSON, K.K. Cold Weather exercise and airway cytokine expression. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, p. 2132-2136, 2005.

- DENGUEZLI-BOUZGARROU, M.; SRIHA, B.; CHEIKH, I.B. TURKIA, W.B.; TABKA, Z.; ZBIDI, A. Effect of endurance exercise on airway cells in runners. **Science & Sports**, v. 21, p. 99-100, 2006.
- DENGUEZLI-BOUZGARROU, M.; SAAD, H.B.; CHIEKH, I.B.; GAIED, S.; TABKA, Z.; ZBIDI, A. Role of lung inflammatory mediators as a cause of training-induced lung function changes in runners. **Science & Sports**, v. 22, p. 35-42, 2007.
- DERKSEN, F.J.; BROWN, C.M.; SONEA, I.; DARIEN, B.J.; ROBINSON, N.E. Comparison of transtracheal aspirate and bronchoalveolar lavage cytology in 50 horses with chronic lung disease. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, n. 1, p.23-26, 1989.
- DERKSEN, F.J.; WILLIAMS, K.J.; UHAL, B.D.; SLOCOMBE, R.F.; FEIJTER-RUPP, H.; EBERHART, S.; BERNEY, C.; ROBINSON, N.E. Pulmonary response to airway instillation of autologous blood in horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 4, p. 334-339, 2007.
- DOUCET, M.Y.; VIEL, L. Alveolar macrophage graded hemosiderin score from bronchoalveolar lavage in horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage and controls. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, p. 281-286, 2002.
- EPP, T.S.; McDONOUGH, P.; PADILLA, D.J.; GENTILE, J.M.; EDWARDS, K.L.; ERICKSON, H.H.; POOLE, D.C. Exercise-induced pulmonary haemorrhage during submaximal exercise. **Equine Veterinary Journal Suppl.** v. 36, p. 502-507, 2006.
- EPPINGER, M. **Hemorragia pulmonar de esforço e o desempenho de equinos PSI (*Equus caballus*) em corridas de galope no Jockey Club do Paraná.** Curitiba, 1990. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná.
- FERNANDES, W.R.; MORI, E.; SANCHES, A. Cytological evaluation of Rosenfeld-stained tracheobronchial washes and bronchoalveolar lavages, in healthy horses. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 604-609, 2000.

- GEOR, R.J.; OMMUNDSON, L.; FENTON, G.; PAGAN, J.D. Effects of na external nasal strip and furosemide on pulmonary haemorrhage in thoroughbreds following high-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 6, p. 577-584, 2001.
- HALLSTRAND, T.S.; DEBLEY, J.S.; FARIN, F.M.; HENDERSON Jr., W.R. Role of MUC5AC in the pathogenesis of exercise-induced bronchoconstriction. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 119, p. 1092-1098, 2007.
- HALLSTRAND, T.S.; MOODY, M.W.; AITKEN, M.L.; HENDERSON Jr., W.R. Airway immunopathology of asthma with exercise-induced bronchoconstriction. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 116, n. 3, p. 586-593, 2005.
- HARE, J.E.; VIEL, L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.12, n.3, p. 163-170, 1998.
- HEGEDÜS, R.M.; MICHIMA, L.E.S.; SOUZA, V.R.C.; DUTRA, G.H.P.; FERNANDES, W.R.; COELHO, C.S. Evaluation of tracheal wash of horses with exercise-induced pulmonary hemorrhage with furosemide. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n.2, p. 527-529, 2007.
- HELMING, L.; GORDON, S. Macrophage fusion induced by IL-4 alternative activation is a multistage process involving multiple target molecules. **European Journal of Immunology**, v. 37, p. 33-42, 2007.
- HEWSON, J e VIEL, L. Sampling, microbiology and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P. **Equine Respiratory Diseases**. 2002. Disponível em <http://www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1>. Acessado em 29.mar.2006.
- HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R. Tracheal aspirates: indications, technique, and interpretation, In.: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5 ed. , St. Louis: Saunders, 2003, p.401-406.
- HODGSON, J.L.; HODGSON, D.R.. Collection and analysis of respiratory trat samples. In: McGORUM, B.C.; DIXON, P.M.; ROBINSON, N.E.; SCHUMACHER, J. **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, 2007, p. 119-150.

- HOFFMAN, A.M.; MAZAN, M.R.; ELLENBERG, S. Association between bronchoalveolar lavage cytology features and airway reactivity in horses with a history of exercise intolerance. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, n. 2, p. 176-181, 1998.
- HOFFMAN, A.M. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. **Equine Veterinary Education**, Newmarket, v. 11, n. 6, p. 330-336. 1999.
- HOFFMAN, A.; ROBINSON, N.E.; WADE, J.F. Workshop summary. In.:____ **Proceedings of a Workshop on Inflammatory Airway Disease: Defining the Syndrome**, Havemeyer Foundation, Monograph Series n. 9, R & W Publications, p. 89-91, 2003.
- HOLCOMBE, S.J.; ROBINSON, N.E.; DERKSEN, F.J.; BERTOLD, B.; GENOVESE, R.; MILLER, R.; DE FEITER RUPP, H.; CARR, E.A.; EBERHART, S.W.; BORUTA, D.; KANEENE, J.B. Effect of tracheal mucus and tracheal cytology on racing performance in thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n. 4, p. 300-304, 2006.
- HUGHES, K.J.; MALIKIDES, N.; HODGSON, D.R. & HODGSON, J.L. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 1. Evaluation of cytological stains and the percentage of mast cells and eosinophils. **Australian Veterinary Journal**, Brunswick, vol. 81, n. 11, p. 681-684. 2003.
- KINDIG, C.A.; McDONOUGH, P.; FENTON, G.; POOLE, D.C.; ERICKSON, H.H. Efficacy of nasal strip and furosemide in mitigating EIPH in thoroughbred horses. **Journal of Applied Physiology**, v. 91, p. 1396-1400, 2001.
- KIVITY, S.; ARGAMAN, A.; ONN, A.; SHWARTZ, Y.; MAN, A.; GREIF, J.; FIREMAN, E. Eosinophil influx into the airways in patients with exercise-induced asthma. **Respiratory Medicine**, v. 94, p. 1200-1205, 2000.
- LEANDRO, C.; NASCIMENTO, E.; MANHÃES-de-CASTRO, R.; DUARTE, J.A.; de-CASTRO, C.M.M.B. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. **Revista Portuguesa de Ciências do Desporto**, v.2, n.5, p.80-90, 2002.

- LÉGUILLETTE, R. Recurrent airway obstruction – heaves. **Veterinary Clinics of North America – equine practice**, v.19, p. 63-86, 2003.
- LESSA, D.A.B.; MORI, E.; VIANA, E.B.; SANTOS, O.J.; MOREIRA, J.F.E.; FERNANDES, W.B. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literature parte 1: técnicas de colheita. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 8, n. 2, p. 213-217, 2005.
- LESSA, D.A.B.; MORI, E.; VIANA, E.B.; SANTOS, O.J.; MOREIRA, J.F.E.; FERNANDES, W.B. Lavado broncoalveolar em eqüinos: revisão de literature parte 2: achados citológicos. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v.10, n. 1, p. 31-38, 2007.
- LESSA, D.A.B. Lavado broncoalveolar em eqüinos. **Proceedings da IX Conferência Anual da ABRAVEQ e IV Congresso Internacional de Medicina Veterinária**, 14 e 15 de junho, São Paulo, 2008.
- LUGO, J.; HARKEMA, J.R.; DE-FEITER-RUPP,H.; BARTNER, L.; BORUTA, D.; ROBINSON, N.E. Airway inflammation is associated with mucous cell metaplasia and increased intraepithelial stored mucosubstances in horses. **The Veterinary Journal**,UK, v.172, p. 293-301, 2006.
- MALIKIDES, N.; HUGHES, K.J.; HODGSON, J.L. Comparison of tracheal aspirates before and after high-speed treadmill exercise in racehorses. **Australian Veterinary Journal**, v. 85, p. 414-419. 2007.
- MAZAN, M.R.; HOFFMAN, A.M. Clinical techniques or diagnosis of inflammatory airway disease in the horse. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 2, n.3, p.238-257, 2003.
- McKANE, S.A.; CANFIELD, P.J.; ROSE, R.J. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n.11, p. 401-404, 1993.
- MEYER, T.S.; FEDDE, M.R.; GAUGHAN, E.M.; LANGSETMO, I.; ERICKSON, H.H. Quantification of exercise-induced pulmonary haemorrhage with bronchoalveolar lavage. **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 4, p. 284-288, 1998.

- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; BIAVA, J.S.; GONÇALVES, R.C.; CASSOU, F.; BONFÁ, A.F.; MACHADO, C.D. Aspirado traqueal de cavalos clinicamente sadios da raça quarto de milha após prova de três tambores. **Archives of Veterinary Science**, Curitiba: UFPR, v. 12, n.2, p.1-7. 2007a.

- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; BONFÁ, A.F.; MACHADO, C.D.; DECONTO, I.; CRUZ, L.A. Evidence of lower respiratory airway inflammation in healthy thoroughbred yearlings before starting training. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 3, p. 26-31, 2007b.

- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; GRANDO, F.C.C.; ZANATTA, A.L.; FARIAS, C.L.A.; SILVA, F.T.; NISHIYAMA, A. Hydrogen peroxide production and phagocytic capacity of alveolar macrophages, and BALF cells catalase activity in young thoroughbred colts challenged by environment and exercise. In: SYMPOSIUM OF THE VETERINARY COMPARATIVE RESPIRATORY SOCIETY, XXV. 2007. **Proceedings...**Lafayette, Indiana, USA: VCRS, 2007c.

- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; KAISELER, P.; SILVA, F.T.; CRUZ, L.A.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A.L.; KOZEMJAKIN, D.A. Total and differential cell count of the BALF from thoroughbred colts in three different conditions: natural condition, environment challenged and exercise challenged. 2008. Disponível em <<http://ivis.org/proceedings/sive/2008/pdf/103.pdf#nameddest=9>>. Acessado em 12.maio.2008a.

- MICHELOTTO JÚNIOR, P.V.; MUEHLMANN, L.A.; ZANATTA, A.L.; BIEBERBACH, E.W.R.; SILVA, F.T.; NISHIYAMA, A. O fator de agregação plaquetária (PAF) participa da inflamação pulmonar pós-exercício em potros puro sangue inglês (PSI) de corrida jovens. **Proceedings da IX Conferência Anual da ABRAVEQ e IV Congresso Internacional de Medicina Veterinária**, 14 e 15 de junho, São Paulo, 2008b.

- PASTVA, A.; ESTELL, K; SCHOEB, T.R.; ATKINSON, T.P.; SCHWIEBERT, L.M. Aerobic exercise attenuates airway inflammatory responses in a mouse model of atopic asthma. **The Journal of Immunology**, v.172, p. 4520-4526, 2004.

- PICKLES, K.; PIRIE, R.S.; RHIND, S.; DIXON, P.M.; MCGORUM, B.C. Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 2: comparison of smear and cytocentrifuged preparations. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 3, p. 292-296, 2002a.
- PICKLES, K.; PIRIE, R.S.; RHIND, S.; DIXON, P.M.; MCGORUM, B.C. Cytological analysis of equine bronchoalveolar lavage fluid. Part 3: the effect of time, temperature and fixatives. **Equine Veterinary Journal**, v. 34, n. 3, p. 297-301, 2002b.
- RAIDAL, S.L.; LOVE, D.N.; BAILEY, G.D.; ROSE, R.J. The effect of high intensity exercise on the functional capacity of equine pulmonary alveolar macrophages and BAL-derived lymphocytes. **Research in Veterinary Science**, v. 68, p. 249-253, 2000.
- ROBINSON, N.E. International workshop on equine chronic airway disease Michigan State University 16-18 June 2000. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 1, p. 5-19, 2001.
- ROBINSON, N.E. Tracheal mucus and inflammation: prevalence and consequences in midwestern horses. **Proceedings of the Third World Equine Airways Symposium**. Cornell University, Ithaca, 20-22 July, p. 45-48, 2005.
- ROBINSON, N.E.; KARMAUS, W.; HOLCOMBE, S.J.; CARR, E.A.; DERKSEN, F.J. Airway inflammation in Michigan pleasure horses: prevalence and risk factors. **Equine Veterinary Journal**, v. 38, n. 4, p. 293-299, 2006.
- ROSEN, H.; GORDON, S. Monoclonal antibody to the murine type 3 complement receptor inhibits adhesion of myelomonocytic cells in vitro and inflammatory cell recruitment in vivo. **J. Exp. Med.**, Oxford: The Rockefeller University Press, v. 166, 1685-1701. 1987.
- SÁNCHEZ, A.; COUËTIL, L.L.; WARD, M.P.; CLARK, S.P. Effect of airway disease on blood gas exchange in racehorses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 1, p. 87-92, 2005.
- VERGÈS, S.; DEVOUASSOUX, G.; FLORE, P.; ROSSINI, E.; FIOR-GOZLAN, M.; LEVY, P.; WUYAM, B. Bronchial hyperresponsiveness, airway inflammation, and airflow limitation in endurance athletes. **Chest**, v. 127, p. 1935-1941, 2005.

- VIEL, L.; HEWSON, J.; PARSONS, D.; STAEMPFLI, H.; KENNEY, D.; BAIRD, J. Tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage fluid cell differentials in poor performance racing horses. **Congress of the Veterinary Comparative Respiratory Society**, 2000.

- VIEL, L.; HEWSON, J. BAL cytology in horses with exercise intolerance: what does it tell us? **World Equine Airways Symposium**, Edinburgh, 2001. Disponível em: <<http://www.ivis.org/proceedings/weas/2001/Viel.pdf>> Acesso em: 14.mai.2008.

- VIEL, L.; HEWSON, J. Bronchoalveolar lavage. In.: ROBINSON, N.E. **Current Therapy in Equine Medicine**, 5 ed. , St. Louis: Saunders, 2003, p.407-411.

- VOYNOW, J.A.; FISCHER, B.M.; MALARKEY, D.E.; BURCH, L.H., WONG T., LONGPHRE, M., HO S.B.; FOSTER, W.M. Neutrophil elastase induces mucus cell metaplasia in mouse lung. **American Journal of Physiology – Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 287, p. 1293-1302, 2004.

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

- ZINKL, J.G. Lower respiratory tract. In: COWELL, R.L. e TYLER, R.D. **Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse**. 2 ed. St. Louis, Missouri: Mosby, 2002, p. 73-86