TIAGO MARCELO OLIVEIRA

Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício

São Paulo

2015

TIAGO MARCELO OLIVEIRA

Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Departamento:

Clínica Médica

Área de Concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes

São Paulo
2015

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.3216
FMVZ

Oliveira, Tiago Marcelo
Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício / Tiago Marcelo Oliveira. -- 2015.
90 f. : il.

Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2015.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes.

.

1. Frequência respiratória. 2. Volume tidal. 3. Dilatador nasal. 4. Neutrófilos. 5. Capacidade aeróbica. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência do uso de dilatador nasal na capacidade e função pulmonar em equinos da raça Árabe durante o exercício e em repouso", protocolado sob o CEUA nº 1155130215, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes** e equipe; *Tiago Marcelo Oliveira* - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovado** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMZV) em reunião de 29/04/2015.

We certify that the proposal "Influence of an external nasal strips on pulmonary capacity and function in Arabian horses during exercise and rest", utilizing 8 Equines (8 females), protocol number CEUA 1155130215, under the responsibility of **Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes** *and team*; *Tiago Marcelo Oliveira* - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes (or teaching) - it's in accordance with Law 11.794, of October 8 2008, Decree 6899, of July 15, 2009, with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of São Paulo University (CEUA/FMZV) in the meeting of 04/29/2015.

Vigência da Proposta: de 02/2015 a 03/2015 Área: Clínica Médica Veterinária

Procedência: Haras

Espécie:	Equídeo	Gênero: Fêmeas	idade: 7 anos	N: 8
Linhagem:	ou Machos		Peso: 400kg	

São Paulo, 30 de julho de 2015

Profa. Dra. Denise Tabacchi Fantoni
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Universidade de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: OLIVEIRA, Tiago Marcelo

Título: Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Data:____/____/____

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof(a). Dr(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Agradecimentos

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – USP, pela oportunidade da realização deste curso;

Aos meus pais, Carlos e Daisi, por sempre me apoiarem mesmo sem saber se o que eu estava fazendo daria certo...;

A toda minha família, pela garantia de que independente de onde eu estiver, eu posso voltar que eles estarão de braços abertos;

Ao professor Wilson, pela orientação na tese, na minha formação pessoal e profissional, mas sobretudo pela amizade sincera;

Aos demais professores da FMVZ-USP, pelos conselhos, críticas e sugestões que me ajudaram na residência, no mestrado e no doutorado;

Aos meus amigos, pelos momentos de distração e por se tornarem meus irmãos e irmãs longe de casa;

Aos funcionários, residentes, pós-graduandos, estagiários e graduandos da FMVZ-USP pela contribuição com meu trabalho e convívio em todos esses anos;

À Ana Paula, pelo companheirismo, amizade, fidelidade, alegria e por me completar... Agradeço por me proporcionar a maior alegria de minha vida que está trazendo um novo e prazeroso desafio para nossas vidas;

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização dessa tese.

Epígrafe

"Insanidade é continuar fazendo sempre a mesma coisa e esperar resultados diferentes"

Albert Einsten

RESUMO

OLIVEIRA, T. M. **Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício.** [Influence of the nasal strips on respiratory capacity and function of Arabian horses during and after exercise]. 2015. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

A fita nasal é amplamente utilizada em equinos durante o exercício, porém seus resultados são controversos e pouco conhecidos em animais que disputam provas de resistência. Os objetivos desse trabalho foram verificar se o uso da fita nasal influencia parâmetros durante o exercício predominantemente aeróbico, como frequência respiratória, volume tidal, volume minuto, tempos de inspiração e expiração, população de células por meio de lavado broncoalveolar, frequência cardíaca e lactato sanguíneo. Foram utilizados seis equinos da raça Árabe que realizaram dois testes de longa duração em esteira, sendo um teste com fita e outro sem a fita nasal. Durante os testes eram realizadas coletas de sangue, espirometria com obtenção de curvas de fluxo e volume respiratório, e registro da frequência cardíaca por meio de frequencímetro. Duas horas após o término do exercício foi realizado lavado broncoalveolar para realização de citologia da secreção pulmonar. Não houveram diferenças entre os parâmetros ventilatórios analisados entre os animais quando correram com ou sem a fita nasal. Entretanto, a frequência cardíaca foi em média menor durante o exercício nos animais que se exercitaram com a fita nasal ($p<0,05$), podendo indicar uma melhor oferta de oxigênio durante o exercício de longa duração com o uso da fita nasal, apesar de não encontrarmos alterações nos parâmetros de fluxo e volume respiratório. Na avaliação citológica do conteúdo do lavado broncoalveolar, foi verificada maior porcentagem de neutrófilos após o exercício nos animais que se exercitaram com a fita nasal ($p<0,05$), indicando que o turbilhonamento na passagem do ar através da cavidade nasal pode ter diminuído permitindo que partículas maiores se depositassem em porções mais distais do sistema respiratório, induzindo uma resposta neutrofílica mais intensa. O uso da fita nasal parece influenciar alguns parâmetros durante e após o exercício em animais que realizam provas de longa duração. Outros estudos devem ser realizados para verificar se essa influência pode melhorar o desempenho desses animais em exercícios predominantemente aeróbicos.

Palavras-chave: Frequência respiratória. Volume tidal. Dilatador nasal. Neutrófilos. Capacidade aeróbica.

ABSTRACT

OLIVEIRA, T. M. **Influence of the nasal strips on respiratory capacity and function of Arabian horses during and after exercise.** [Influência do uso de fita nasal na capacidade e função respiratória de equinos da raça Árabe durante e após o exercício]. 2015. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

The nasal strip is widely used in horses during exercise, but the results are controversial and little known in animals that compete for endurance events. The aim of this study was to determine whether the use of nasal strips influence parameters during predominantly aerobic exercise, such as respiratory frequency, tidal volume, minute ventilation, inspiratory and expiratory times, population of cells by bronchoalveolar lavage, heart rate and blood lactate. Six Arabian horses were submitted to two low intensity tests on a treadmill, one of them with nasal strip and one without nasal strip. During the tests were carried out blood samples, airflow and volume curves with spirometry mask, and heart rate was recorded through heart rate monitor. Two hours after the exercise was performed bronchoalveolar lavage to perform cytology of pulmonary secretions. There were no differences among ventilatory parameters analyzed when the horses performed the exercise with or without the nasal strip. However, heart rate was lower on average during the exercise when the horses were exercised with nasal strip ($p < 0.05$), which may indicate a better supply of oxygen during the low intensity exercise with the use of nasal strip, despite we did not find changes in the airflow and respiratory volume parameters. In cytological evaluation of the content of bronchoalveolar lavage, increased percentage of neutrophils was observed after exercise in animals with nasal strip ($p < 0.05$), indicating that turbulence in the airflow through the nasal cavity may have diminished allowing larger particles to be deposited in distal portions of the respiratory system, inducing a more intense neutrophilic response. The use of nasal strips appears to influence some parameters during and after exercise in horses that perform low intensity and endurance tests. Further studies should be conducted to verify that this influence can improve the performance of these horses in predominantly aerobic exercises.

Keywords: Respiratory frequency. Tidal volume. Neutrophil Nasal dilator. Aerobic capacity

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem mostrando equino na baia com a máscara e os pneumotacômetros acoplados – São Paulo – 2015 37

Figura 2 - Fita nasal posicionada na região rostral à incisura nasoincisiva no equino – São Paulo – 2015 38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Valores absolutos de células epiteliais dos equinos submetidos ao LBA nos três instantes (Basal, Sem fita e Com fita) - São Paulo - 2015 44

Gráfico 2 - Boxplot dos valores da variável células epiteliais nos três instantes - São Paulo - 2015 44

Gráfico 3 - Gráfico das medidas dos animais para a variável eosinófilos nos três instantes - São Paulo - 2015..... 45

Gráfico 4 - Boxplot dos valores da variável eosinófilos nos três instantes - São Paulo - 2015..... 46

Gráfico 5 - Medidas dos animais para a variável neutrófilos nos três instantes - São Paulo - 2015 47

Gráfico 6 - Boxplot dos valores da variável neutrófilos nos três instantes - São Paulo - 2015 48

Gráfico 7 - Medidas dos animais para a variável linfócitos nos três instantes - São Paulo - 2015 49

Gráfico 8 - Boxplot dos valores da variável linfócitos nos três instantes - São Paulo - 2015 49

Gráfico 9 - Medidas dos animais para a variável macrófagos nos três instantes - São Paulo - 2015 50

Gráfico 10 - Boxplot dos valores da variável macrófagos nos três instantes - São Paulo - 2015 51

Gráfico 11 - Medidas dos animais para a variável multinucleadas nos três instantes - São Paulo - 2015 52

Gráfico 12 - Boxplot dos valores da variável multinucleadas nos três instantes - São Paulo - 2015 53

Gráfico 13 - Medidas dos animais para a variável macrófagos espumosos nos três instantes - São Paulo - 2015 54

Gráfico 14 - Gráfico mostrando fluxo em Litros/segundo de 3 ciclos respiratórios com ondas inspiratórias bifásicas e ondas expiratórias monofásicas de um equino durante o teste de esforço com frequência respiratória de 50 mpm – São Paulo – 2015..... 56

Gráfico 15 - Médias da variável frequência respiratória em movimentos por minuto (eixo vertical) nos seis instantes de medição (eixo horizontal) – São Paulo – 2015..... 57

Gráfico 16 - Médias da variável volume tidal em Litros (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015..... 58

Gráfico 17 - Médias da variável Volume minuto em Litros/minuto (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015 60

Gráfico 18 - Médias da variável Tempo inspiratório em segundos (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015 61

Gráfico 19 - Médias da variável Tempo expiratório em segundos (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015 62

Gráfico 20 - Médias da variável Relação tempo inspiratório/tempo expiratório nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015 63

Gráfico 21 - Valores médios da frequência cardíaca em batimentos por minuto (eixo vertical) no período de exercício com presença ou ausência de fita – São Paulo – 2015..... 64

Gráfico 22 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de exercício sem (0) e com (1) fita - São Paulo - 2015..... 65

Gráfico 23 - Valores da frequência cardíaca no decorrer do período de recuperação após o exercício sem fita - São Paulo - 2015 66

Gráfico 24 - Valores da frequência cardíaca no decorrer do período de recuperação após o exercício com fita - São Paulo - 2015..... 67

Gráfico 25 - Valores médios da frequência cardíaca no período de recuperação por presença ou ausência de fita - São Paulo - 2015 67

Gráfico 26 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de recuperação sem (0) e com (1) fita - São Paulo - 2015 68

Gráfico 27 - Valores médios da frequência cardíaca no período de recuperação por presença ou ausência de fita, excluído animal 5 - São Paulo - 2015..... 69

Gráfico 28 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de recuperação sem (0) e com (1) fita, excluído animal 5 - São Paulo - 2015..... 70

Gráfico 29 - Médias de CK com e sem fita e com e sem as observações discrepantes - São Paulo - 2015 70

Gráfico 30 - Médias da variável Lactato nos 6 momentos de análise nos grupos Com fita e Sem fita - São Paulo - 2015..... 72

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Descrição dos animais utilizados segundo sexo, peso(Kg) e idade(anos), no início do experimento – São Paulo – 2015 33

Quadro 2 - Momentos das coletas nos equinos do experimento para as diferentes provas laboratoriais realizadas no teste de longa duração – São Paulo – 2015 39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e Desvio Padrão (DP) dos grupos Basal, Com fita e Sem fita nos instantes de medição – São Paulo – 2015 43

Tabela 2 - Médias e erros padrão da variável frequência respiratória medidas nos seis instantes – São Paulo – 2015 57

Tabela 3 - Estimativas, erros padrão e valores-p do modelo de exercício mostrando as diferenças (Valor-p <0,001) nas variáveis com fita e no decorrer do tempo (segundos) – São Paulo – 2015 65

Tabela 4 - Estimativas, erros padrão e valores-p do modelo de recuperação sem o animal 5, mostrando as diferenças (Valor-p <0,001) nas variáveis com fita e no decorrer do tempo (segundos) – São Paulo – 2015 69

Tabela 5 - Médias de CK com e sem fita nos 3 momentos de coleta e com e sem as observações discrepantes – São Paulo – 2015 71

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Tabela 6 - Valores relativos das células encontradas no lavado broncoalveolar listados na ordem em que foi realizado o lavado – São Paulo – 2015 89

APÊNDICE B - Tabela 7 - Limites e valor-p das diferenças entre os instantes de medição – São Paulo – 2015 90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATP	Adenosina trifosfato
Bpm	Batimentos por minute
CK	Creatinafosfoquinase
dL	Decilitro
F	Fêmea
G	Gauge
Km	Kilômetros
Kg	Kilogramas
L	Litro
M	Metro
M	Macho
Mg	Miligrama
mL	Mililitro
Mmol	Milimol
PSI	Puro Sangue Inglês
S	Segundo
TLD	Teste de Longa Duração
V150	Velocidade em que a frequência cardíaca é 150
VO_{2max}	Consumo máximo de oxigênio
µmol	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
2 REVISÃO DE LITERATURA 20
2.1 SISTEMA RESPIRATÓRIO 20
2.1.1 Capacidade e função pulmonar 21
2.1.2 Avaliação da função pulmonar 22
2.1.3 Mecanismos de defesa 23
2.1.4 Avaliação da população de células no pulmão 24
2.2 ENZIMAS MUSCULARES 28
2.3 LACTATO 29
2.4 USO DA FITA NASAL 30
3 MATERIAL E MÉTODOS 33
3.1 PREPARO E ADAPTAÇÃO DOS ANIMAIS 34
3.2 COLETA DE DADOS 34
3.2.1 Lavado Broncoalveolar 34
3.2.2 Frequência cardíaca 35
3.2.3 Coleta de sangue 36
3.2.4 Espirometria 36
3.3 COLOCAÇÃO DA FITA NASAL 38
3.4 TESTE DE LONGA DURAÇÃO 39
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA 40
4 RESULTADOS 42
4.1 CITOLOGIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR 42
4.1.1 Células epiteliais 43
4.1.2 Eosinófilos 45
4.1.3 Neutrófilos 47
4.1.4 Linfócitos 48
4.1.5 Macrófagos 50
4.1.6 Multinucleadas 52
4.1.7 Macrófagos espumosos 54
4.2 ESPIROMETRIA 55
4.2.1 Frequência Respiratória 56

4.2.2 Volume Tidal 58
4.2.3 Volume Minuto 59
4.2.4 Tempo inspiratório 61
4.2.5 Tempo expiratório 62
4.2.6 Tempo inspiratório / Tempo expiratório 63
4.3 FREQUÊNCIA CARDÍACA 64
4.3.1 Durante o exercício 64
4.3.2 Após o exercício 66
4.4 CREATINAFOSFOQUINASE 70
4.5 LACTATO 71
5 DISCUSSÃO 73
6 CONCLUSÕES 81
REFERÊNCIAS 82
APÊNDICES 89

1 INTRODUÇÃO

O enduro está entre os esportes equestres que mais exigem do cavalo em termos de condicionamento físico. Equivalente as provas de maratona no atletismo, o enduro é uma prova em que os animais percorrem distâncias de até 160 km (MARLIN; NANKERVIS, 2002). Os animais são treinados para desenvolver a capacidade de captação de oxigênio, otimizar a capacidade oxidativa do músculo, aumentar a eficiência na utilização de carboidratos, gorduras e proteínas e aprimorar o sistema de termorregulação, a fim de suportar essas distâncias sem prejuízo a saúde dos mesmos (RIDGWAY, 1994). Entretanto, o sistema respiratório não possui a capacidade de se adaptar ao treinamento, diferentemente do sistema cardiovascular e muscular (HOFFMAN, 2002).

Equinos que competem em provas de enduro necessitam de uma boa capacidade respiratória para competir por longos períodos sem apresentar hipertermia, desidratação e distúrbios hidro-eletrolíticos, porém a consumo máximo de oxigênio parece não ter grande importância na limitação do desempenho. O consumo durante o trote e galope curto pode ser mais relevante para o desempenho de equinos de enduro (EVANS, 2007).

O sistema respiratório dos equinos apresenta algumas particularidades que diferem de outras espécies. Características como a respiração obrigatoriamente nasal, maior espaço morto alveolar e fases de inspiração e expiração são característicos dessa espécie. Supõe-se que algumas dessas particularidades fazem parte de uma estratégia para diminuir o trabalho durante a respiração, como o fato de a segunda fase da expiração no equino ser ativa e, consequentemente, a fase inicial da inspiração ser passiva (LEKEUX; ART, 1994).

Pesquisas envolvendo as limitações impostas ao exercício pelo sistema respiratório, incluindo função/estrutura pulmonar e capacidade aeróbica, apresentam pouco progresso (EVANS, 2007). O uso de tecnologias que possam contribuir para melhorar a capacidade e função pulmonar estão sendo cada vez mais exploradas na medicina equina. A aplicação das fitas nasais em equinos é estudada na literatura principalmente em atividades que envolvem testes ou provas de alta intensidade (GEOR et al., 2001; MORLEY et al., 2015), necessitando de mais estudos para equinos que competem em provas de longa duração e baixa intensidade.

Considerando que equinos da raça Árabe podem obter benefícios durante o exercício físico de baixa intensidade e longa duração, esse estudo tem como objetivos:

Verificar se o uso da fita nasal altera a população de células no lavado broncoalveolar após o exercício de longa duração;

Verificar se a fita nasal interfere no volume e outras variáveis respiratórias em repouso, durante e após o exercício de longa duração;

Verificar se o uso da fita nasal influencia a frequência cardíaca, CK e lactato durante e após o exercício de longa duração.

Compreender os eventos mais relevantes sobre a fisiologia animal durante o exercício é essencial para que se possa aproveitar ao máximo as características que podem tornar o cavalo um grande campeão.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 SISTEMA RESPIRATÓRIO

Durante o ciclo respiratório o ar atmosférico entra na cavidade nasal pelas narinas, passa pela faringe, laringe, traqueia e entra no pulmão se distribuindo pelos brônquios até atingir os alvéolos, onde por difusão, o oxigênio passa para os capilares sanguíneos pulmonares e é transportado para os tecidos. Todo esse processo é cuidadosamente regulado de modo que a ventilação, fluxo sanguíneo do pulmão para os tecidos e transporte dos gases no sangue são adequados para atender as necessidades do tipo de exercício e demanda metabólica (ROBINSON, 2007).

A morfologia da cavidade nasal e narinas dos equinos diferem do humano. O esqueleto na parede lateral da cavidade nasal do equino é incompleto rostral à incisura nasoincisiva, sendo chamada de porção “mole” da cavidade nasal, onde se localiza uma estrutura conhecida por falsa narina. Essa estrutura é um divertículo da passagem nasal que se abre para o aspecto dorso lateral da verdadeira narina. Durante o exercício a narina se abre através da ativação dos músculos elevador nasal dorsal e ventral, dilatador lateral nasal, dilatador apical nasal e elevador nasolabial (GOETZ et al., 2001).

A influência da resistência à passagem de ar pela cavidade nasal é de grande importância em equinos. Durante a respiração do animal em repouso, a cavidade nasal, faringe e laringe fornecem de 60% (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008) a 80% (LEKEUX; ART, 1994) de resistência à passagem do ar. A cavidade nasal é extremamente vascularizada e apresenta uma grande capacidade de troca de calor com o ar inspirado, porém essas estruturas provocam essa grande resistência do fluxo de ar nessa região. Essa resistência pode ser reduzida com a dilatação das narinas externas (GOETZ et al., 2001) e pela vasoconstrição do extenso tecido vascular da cavidade nasal por meio de estimulação de fibras nervosas simpáticas que se distribuem na cavidade nasal (LEKEUX; ART, 1994). A vasoconstrição por meio de estímulo simpático também foi demonstrado em humanos com queda na resistência nasal 5 minutos após receberem instilação de 0,3ml Fenilefrina 1% (OLSON; STROHL, 1987). Quando a velocidade do fluxo de ar aumenta durante o exercício, os equinos dependem exclusivamente de uma diminuição da resistência nasal para manter o trabalho respiratório em um nível razoável, visto

que essa espécie não é capaz de realizar a respiração pela cavidade oral (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008).

As alterações no diâmetro da cavidade nasal influenciam significativamente o fluxo de ar que passa por essa região na respiração, visto que essa resistência obedece à Equação de Poiseuille onde a resistência do ar passando por um tubo é determinada pelo raio e comprimento do tubo, assim como pelas propriedades físicas do gás respirado. Essa equação é regida pela seguinte fórmula: $R=8\mu l/r^4$ onde R é a resistência, l o comprimento, r o raio e μ o valor da propriedade física do gás respirado. Esses dados destacam a importância do diâmetro da cavidade nasal, visto que se o raio é dividido por 2, a resistência é multiplicada por 16. Essa importância não é exclusiva da espécie equina, mas diferente de outras espécies, os equinos dependem exclusivamente da respiração nasal (LEKEUX; ART, 1994).

2.1.1 Capacidade e função pulmonar

O volume de ar inalado em cada ciclo respiratório é conhecido como volume tidal. Em um equino de 500kg com bom condicionamento físico o volume tidal varia entre 4 e 5 litros (ROBINSON, 2007), chegando a pouco mais de 6 litros quando o animal realiza uma atividade de trote leve e a 13 litros com o exercício intenso (LEKEUX; ART, 1994). O padrão respiratório é geralmente bifásico em repouso, com componentes ativo e passivos durante a inspiração e expiração. O volume no pulmão no fim da expiração é inferior à posição de equilíbrio do sistema respiratório, sendo que a inspiração se inicia pelo movimento passivo de expansão para a posição de equilíbrio. A segunda parte da inspiração envolve a contração ativa do diafragma e outros músculos respiratórios que expandem a porção caudal da cavidade torácica. A expiração inicia com o recuo passivo do tórax para a posição de equilíbrio e continua com a contração da musculatura abdominal (ROBINSON, 2007). Foi notada uma grande variação no padrão respiratório de equinos em repouso, com registros de curvas de fluxo inspiratório monofásicas, bifásicas e trifásicas. Porém, nas curvas de fluxo expiratório o padrão predominante foi realmente o bifásico, com pico de fluxo na primeira fase da expiração (LUMSDEN et al., 1993).

Com o aumento da demanda de trocas gasosas durante o exercício há uma maior necessidade de aumento no volume minuto, que ocorre graças ao aumento da frequência respiratória e do volume tidal (ROBINSON, 2007). A contribuição relativa do volume tidal e

frequência respiratória para o volume minuto é relacionada com o andamento do equino. A frequência respiratória aumenta linearmente do repouso ao cânter (aproximadamente 6 m/s) e apresenta pequenos aumentos após essa etapa, enquanto pequenas mudanças ocorrem no volume tidal entre o repouso e o cânter (FRANKLIN; VAN ERCK-WESTERGREN; BAYLY, 2012). Em cavalos de trote o aumento do volume minuto é alcançado por um aumento simultâneo da frequência respiratória e do volume tidal em exercícios de baixa intensidade, enquanto que exercícios de alta intensidade esse aumento se dá principalmente pela frequência respiratória. Em equinos durante o galope, a respiração e a locomoção estão sincronizadas na proporção de 1:1, com uma média da 110 a 130 mpm. Entretanto, durante o galope o aumento do volume minuto se dá principalmente pelo aumento do volume tidal (LEKEUX; ART, 1994). Essa proporção pode ser de 2 galopes para 1 ciclo respiratório quando há a necessidade de aumento de volume tidal ou indicando alguma doença obstrutiva, como no caso do deslocamento dorsal do palato mole. Nessa doença a obstrução é na expiração, sendo que provocará ruídos respiratórios quando os membros torácicos estiverem sustentando o peso em contato com o solo (ROBINSON, 2007).

Durante o exercício Lumsden et al. (1993) verificaram que as curvas expiratórias foram bifásicas e associadas com curvas inspiratórias bifásicas, e que curvas expiratórias monofásicas foram associadas com curvas inspiratórias monofásicas e bifásicas. Os autores atribuíram a grande variedade das formas de curvas a estratégia respiratória do equino, que possui a segunda fase da expiração ativa e a primeira fase da inspiração passiva. Acredita-se que esse processo diminui o gasto energético durante a respiração, o que facilita o processo de expansão da cavidade torácica durante a inspiração, que no equino é proporcionalmente mais espessa que outras espécies (LEKEUX; ART, 1994).

2.1.2 Avaliação da função pulmonar

Os testes para avaliação de função pulmonar têm sido descritos para identificar graus de comprometimento da função pulmonar, adaptações a estímulos, assim como o exercício, e insventigar respostas ao tratamento de doenças pulmonares. Os testes de função pulmonar são particularmente importantes para cavalos de corrida porque uma menor eficiência no transporte de oxigênio e falhas na difusão através das vias aéreas limitam a oferta de oxigênio para o músculo em exercício (EVANS, 2007)

O volume e fluxo de ar durante o exercício pode ser aferido por meio de máscaras com sensores que captam esses índices durante a respiração em equinos. Foi demonstrada na comparação entre uma nova tecnologia de ergoespirometria (Quadflow) e uma máscara de fluxo aberto que essas mensurações podem ser realizadas em animais durante testes de esforço físico em esteira. Entretanto, foi observado um ligeiro aumento no lactato sanguíneo e frequência cardíaca nos animais com a Quadflow devido às 600gr que esse aparelho tinha a mais em relação a máscara de fluxo aberto, aumentando assim o esforço físico (CURTIS et al., 2005).

Ainda segundo Curtis et al. (2005) a máscara de espirometria Quadflow possui sensores de fluxo de resolução para 0,1L/segundo continuamente a cada 10 milisegundos, porém o consumo de oxigênio não é calculado. Kusano et al. (2007) padronizaram a escolha das ondas para análise selecionando três ondas normais consecutivas em 10 segundos de análise. A seleção dessas ondas excluía o que os autores chamaram de grandes ciclos respiratórios, que interfeririam na análise das ondas cíclicas e homogêneas. Os grandes ciclos respiratórios eram definidos como ciclos respiratórios que tivessem o volume tidal 10% maiores que o ciclo anterior. Os autores concluem que os ciclos respiratórios não devem ser selecionados aleatoriamente após o exercício para análise de volume tidal, pois esses dados não são completamente independentes e é necessário trabalhar com mais de um ciclo respiratório.

2.1.3 Mecanismos de defesa

Um dos mecanismos de defesa do sistema respiratório anterior consiste na deposição de partículas sobre o sistema mucociliar. As partículas são aspiradas e entram em contato com a superfície do sistema respiratório, sendo que a distância que elas percorrerão será dependente do tamanho da partícula e pelo padrão respiratório de cada animal. Partículas maiores do que 5µm de diâmetro entram em contato com a parede das vias aéreas por impactação inercial. Esse contato ocorre nas curvaturas das vias aéreas anteriores, pois elas se movimentam em alta velocidade sem conseguir acompanhar as curvas da via aérea. Conforme a velocidade do fluxo diminui nas regiões mais distais do pulmão, as partículas de 1 a 5 µm de diâmetro se depositam nas paredes das vias aéreas por sedimentação. O padrão respiratório influencia na deposição de forma que a respiração profunda e lenta transporta as partículas até porções mais distais do pulmão, ao passo que a respiração mais rápida e superficial exacerba a deposição inercial nas vias aéreas anteriores (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008).

O sistema respiratório ainda apresenta como mecanismo de defesa a imunidade inata, por meio do recrutamento de neutrófilos e da presença dos macrófagos residentes, e a imunidade adaptativa que está representada na presença das imunoglobulinas (LUNN; BREATHNACH; SOBOLL, 2007). Os macrófagos são células residentes dos brônquios e alvéolos que podem se transformar em células inflamatórias ativas e são as mais abundantes nas secreções pulmonares em cavalos sadios. Essas células podem conter em seu citoplasma debris fagocitados como eritrócitos (hemossiderófagos), células que sofreram apoptose, esporos fúngicos, muco (macrófagos espumosos) e pólen (ZINKL, 2002; HODGSON; HODGSON, 2007). Eles se originam na medula óssea como monócitos e se diferenciam durante a sua passagem do sangue para os alvéolos. As proteínas surfactantes auxiliam o macrófago a eliminar partículas viáveis, que uma vez fagocitadas, são destruídas ou transportadas para fora do pulmão (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008).

O neutrófilo geralmente tem um núcleo lobulado com padrão de cromatina intenso e citoplasma relativamente incolor. Embora exista uma população de neutrófilos residentes nas vias aéreas dos equinos, a proporção dessas células é considerada relativamente baixa (HODGSON; HODGSON, 2007). Os neutrófilos que entram nas vias aéreas e cavidade torácica não retornam para a corrente sanguínea, sendo que encontrar células mais velhas e mortas são eventos normais e esperados em baixas proporções. Neutrófilos que sofrem apoptose são comumente encontrados em quadros de obstrução recorrente de vias aéreas e doenças inflamatórias das vias aéreas. Alguns autores que descreveram a cinética do recrutamento e remoção dos neutrófilos no pulmão verificaram que após exposição experimental à alérgenos o pulmão do equino mobiliza em poucas horas grande quantidade de neutrófilos, e que esse número cai rapidamente em alguns dias (BRAZIL et al., 2005).

2.1.4 Avaliação da população de células no pulmão

O lavado broncoalveolar é uma das técnicas para coleta de secreções das vias aéreas distais do sistema respiratório (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000). Essa técnica proporciona acesso às vias aéreas distais de maneira segura e não invasiva, por meio de instilação de líquido para facilitar a aspiração do conteúdo fluido e dos tipos celulares presentes no lavado (FOGARTY, 1990). A coleta pode ser realizada com o uso de endoscópio flexível (CLARK et al., 1995; DEPECKER et al., 2014), onde é possível a visualização de qual brônquio

será avaliado, ou com o uso de um cateter de silicone, com 10mm de diâmetro externo, 2,5mm de diâmetro interno e 300cm de comprimento (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000; VALDEZ et al., 2004), sendo que geralmente o cateter segue para a porção caudodorsal do pulmão direito pela posição anatômica dessa estrutura (HODGSON; HODGSON, 2007).

A técnica consiste inicialmente na sedação prévia do equino com α2-agonista, como a Xilazina (0,5-0,75 mg/kg) (VALDEZ et al., 2004; HODGSON; HODGSON, 2007) com ou sem a associação de tartarato de butorfanol (0,01-0,02 mg/kg) (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000; HOFFMAN, 2008) para amenizar a tosse em animais que apresentem hipersensibilidade nas vias aéreas. O cateter de silicone é introduzido na narina e segue através do meato ventral até alcançar a porção distal do brônquio. Enquanto a sonda progride pode ser instilada solução de lidocaína 0,5-1,0% para dessensibilizar a traqueia e diminuir a incidência de tosse ((VALDEZ et al., 2004; HOFFMAN, 2008). Quando não houver mais a progressão do cateter, infla-se o balão da extremidade distal com 5 ml de ar. O balão inflado em excesso pode causar uma hemorragia iatrogênica e contaminar a amostra do lavado (REYNOLDS, 1987). Na sequência instila-se solução fisiológica 0,9% (CLARK et al., 1995; VALDEZ et al., 2004) ou solução fosfatada salina tamponada (PBS) associada a heparina sódica (5 UI/ml) (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000) para lavar a região dos bronquíolos e alvéolos.

O volume de solução instilada indicada varia de 50 a 500ml. Volumes menores instilados durante o procedimento podem resultar na lavagem apenas dos bronquíolos, sem ocupar o espaço alveolar. Nesses casos espera-se uma maior proporção de neutrófilos e leucócitos totais, pois esses habitam em maior número os bronquíolos comparado aos alvéolos (SWEENEY et al., 1992; VALDEZ et al., 2004). A recuperação do volume instilado varia de 40 a 60% (VALDEZ et al., 2004) a 80 a 90% em outros estudos (CLARK et al., 1995), dependendo do volume total que foi instilado.

A recuperação do líquido instilado deve ser lenta e cuidadosa. Pressão negativa excessiva pode causar colapso das vias aéreas e trauma no epitélio respiratório resultando em uma diminuição no volume recuperado e contaminação da amostra por sangue (HODGSON; HODGSON, 2007). A aspiração manual com seringa proporciona a recuperação de um volume menor de líquido comparado com bomba de vácuo (SWEENEY; BEECH, 1991), mas permite uma aspiração cuidadosa evitando a pressão negativa em excessiva (VALDEZ et al., 2004).

Alguns estudos tentaram caracterizar diferenças na citologia dos lavados realizados em locais diferentes do pulmão, como no lado esquerdo ou direito. Meyer et al. (1998) não encontraram diferença entre os lavados dos lados direito e esquerdo em seis cavalos de corrida saudáveis, assim como McGorum et al. (1993) não encontraram diferença significativa entre os

dois lados em sete equinos saudáveis e em seis equinos com doença obstrutiva crônica. Entretanto, Sweeney et al. (1992) encontraram diferença sendo uma maior porcentagem de mastócitos no pulmão esquerdo em 23 equinos saudáveis em comparação com o direito, assim como Depecker et al. (2014), que encontraram maior percentual de neutrófilos, hemossiderófagos e relação hemossiderófago/macrófago no pulmão direito em relação ao esquerdo. Há uma grande divergência na literatura referente a caracterização da citologia em diferentes locais do pulmão, ao ponto de ser indicada sempre a coleta dos dois lados para um melhor acesso da celularidade do pulmão e diagnóstico mais preciso de enfermidades inflamatórias do sistema respiratório posterior (DEPECKER et al., 2014).

Os valores de referência para a contagem diferencial de células nas amostras de secreções pulmonares em equinos saudáveis variam de acordo com a idade (MCKANE; CANFIELD; ROSE, 1993), com a técnica utilizada e local de coleta (MAIR; STOKES; BOURNE, 1987), com volume injetado e recuperado (SWEENEY et al., 1992) e com atividade física prévia a coleta (DERKSEN, 1991; CLARK et al., 1995). No lavado broncoalveolar os macrófagos representam a maioria das céluas variando de 40 a 70% nos valores relativos. Os linfócitos apresentam uma variação maior de 7,2 a 60% e sua presença geralmente é maior que dos neutrófilos (1,5 a 22%), apesar de que alguns autores classificam amostras com índices maiores que 5% indicativa de doença inflamatória (MALIKIDES et al., 2003). Porém, esses mesmos autores salientam que o uso exclusivo desse índice no lavado broncoalveolar não deve ser utilizado para diagnóstico definitivo de inflamação no pulmão. Outras células como eosinófilos, mastócitos, multinucleadas e células epiteliais podem ser encontradas no lavado de um equino sadio, porém em proporções baixas (SWEENEY; BEECH, 1991; FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000). Na avaliação de diferentes locais de coleta, Mair, Stokes e Bourne (1987) observaram valores de células epiteliais de 32,5% em lavados bronquiais e 14,3% em lavados broncoalveolares. Os autores atribuem esses dados à contaminação da amostra pela passagem do endoscópio através do sistema respiratório anterior, região que apresenta grande quantidade de células epitelias decorrente da renovação constante do epitélio. (COUROUCÉ-MALBLANC et al., 2002) também identificaram um aumento de células epiteliais em animais com baixo rendimento em provas. Porém, esses autores atribuíram esses resultados a possíveis infecções virais associadas que levariam à erosão epitelial, apesar de não apresentarem outros sinais de doença.

A coleta seriada das secreções pulmonares pode influenciar a proporção de células no lavado. Foi observado um aumento transitório do número de neutrófilos 48 horas após a coleta (SWEENEY et al., 1994), porém esse aumento parece não persistir por muito tempo. Clark et

al. (1995) realizaram lavados broncoalveolares com 7 dias de intervalo em 14 equinos de corrida por 10 semanas. Nessas amostras os valores relativos dos leucócitos não se alterou significativamente durante esse período Esse intervalo de 7 dias entre as coletas foi o suficiente para que os valores da citologia voltassem para os valores basais, sendo que pode ser utilizado em coletas seriadas sem interferência do procedimento anterior (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000).

O lavado traqueal é outro método bastante utilizado para obtenção de secreções pulmonares. A amostra pode ser coletada via endoscopia (HUGHES et al., 2003; EVANS; KIDDELL; SMITH, 2011) através da introdução de uma sonda pelo canal de trabalho, ou pela técnica de coleta transtraqueal (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000), onde é introduzida uma cânula entre os anéis traqueais no terço médio da traqueia, e em seguida, um cateter de polietileno é introduzido pela cânula até chegar a região da carina. Esse segundo método é escolhido quando é necessária a obtenção de amostra de maneira asséptica (BEECH, 1991).

Existem diversos métodos para o preparo e processamento das amostras para a realização do exame citológico. As amostras são centrifugadas e a lâmina é realizada com o sedimento ressuspendido (SWEENEY; BEECH, 1991). O uso de diferentes corantes para identificação dos tipos celulares pode influenciar na leitura da lâmina. Os corantes do tipo Romanoswky são de baixo custo, fáceis de preparar e armazenar, e cora muito bem o citoplasma e núcleo das células (TYLER et al., 2002). Entretanto, Hughes et al. (2003) demonstraram que com a coloração de Romanowsky (Diff-Quick®) a visualização de mastócitos na lâmina não foi apropriada, indicando o uso de uma coloração metacromática (Leishman's) quando o objetivo é a avaliação dessas células. O método de Rosenfeld foi classificado como um método prático, de rápida execução e que permite a identificação de todos os tipos celulares presentes nos lavados (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000). A contagem diferencial de leucócitos é realizada com a identificação das 300 primeiras células consecutivas na lâmina, tanto no lavado broncoalveolar quanto no lavado traqueal (DERKSEN et al., 1989).

Diversos artigos discutem e comparam as técnicas para coleta de secreções pulmonares. Hughes et al. (2003) compararam as técnicas em um estudo retrospectivo com 48 equinos de corrida que apresentavam queda no desempenho e verificou uma maior porcentagem de mastócitos no lavado broncoalveolar em comparação com o lavado traqueal, justificando essa diferença pela maior presença de mastócitos na região alveolar. Verificou também que os eosinófilos estão distribuídos mais uniformemente na região distal do sistema respiratório, apesar de que maiores porcentagens são encontrados geralmente em amostras de lavado traqueal. Em outro artigo com o mesmo grupo de animais, Malikides et al. (2003) demonstrou

diferença entre os valores de referência de neutrófilos nas amostras, com maiores porcentagens no lavado traqueal. Essa diferença foi atribuída a área coletada, movimentação do pulmão durante o exercício e pelo aumento do fluxo respiratório, o que levaria ao aumento do número de neutrófilos na traqueia, mas não nos brônquios e alvéolos.

O exercício prévio ao lavado também pode influenciar a porcentagem de células na amostra. Foi observado que equinos que estavam ativamente envolvidos nas provas de corrida apresentavam maiores índices de neutrófilos do que animais que eram submetidos a trabalhos leves (MCKANE; CANFIELD; ROSE, 1993) e após o exercício os valores também eram maiores do que antes do exercício. O exercício altera o padrão respiratório, elevando a frequência respiratória e aumentando a deposição de partículas nas porções mais distais do sistema respiratório, aumentando assim a resposta imune nessa região (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008).

2.2 ENZIMAS MUSCULARES

Entre as enzimas musculares mais utilizadas como marcadores de lesão muscular está a Creatinafosfoquinase (CK). Essa enzima é uma grande proteína que normalmente permanecem dentro das células, a menos que as membranas das células se tornem mais permeáveis ou danificadas (ROSE; HODGSON, 1994; MARLIN; NANKERVIS, 2002).

A CK catalisa a transferência do fosfato da creatina fosfato para o ADP e está amplamente distribuída nos tecidos, apresentando três isoenzimas de importância analítica: MM (presentes na musculatura esquelética), MB (presente no coração) e BB (presente no cérebro) (NAGY, 1989). O aumento nas concentrações séricas de CK geralmente é interpretado como indicativo de lesão muscular, porém alguns autores sugerem que esse aumento pode estar relacionado com a carga do exercício. Em alguns casos, aumentos muito significativos (CK maior que 30000 UI/L) têm sido relatados em cavalos de enduro sem evidência clínica de lesão muscular. Esses valores séricos seriam devido a um aumento na permeabilidade da membrana mitocondrial com extravasamento dessas enzimas para a circulação (ROSE; HODGSON, 1994).

Alterações na concentração sérica de CK ocorrem mais rapidamente do que outras enzimas musculares, como a AST. Enquanto valores de CK podem diminuir em um período de 6 a 48 horas após o exercício, valores de AST apresentam o pico com 24 horas após o exercício,

podendo manter-se elevados durante semanas (ROSE; HODGSON, 1994). Isto ocorre em função da meia vida da CK ser muito menor que a da AST.

2.3 LACTATO

Valores de lactato aumentam no plasma e no sangue devido à difusão e/ou transporte ativo do músculo esquelético em atividade. Durante todos os tipos de exercício o lactato é produzido pelo músculo, mas altas concentrações de lactato não ocorrem antes que altas intensidades no exercício sejam alcançadas. Cavalos PSI apresentam valores plasmáticos de lactato de 25 a 30 mmol/L após exercícios de alta intensidade. Em contraste, cavalos que disputam provas de enduro apresentam pequenos aumentos nas concentrações plasmáticas, chegando a 2 mmol/L após a atividade física (ROSE; HODGSON, 1994).

À medida que ocorre um aumento na intensidade do exercício físico, existe um acréscimo na demanda de oxigênio corporal que pode exceder a capacidade do sistema cardiorrespiratório de ofertar oxigênio para o metabolismo aeróbio. Nestas condições ocorre a glicólise até a etapa de formação do piruvato e este, sem utilizar oxigênio, capta os elétrons da glicólise formando ácido láctico (lactato) (ROSE; HODGSON, 1994). Quando há necessidade de energia prontamente disponível, o glicogênio é quebrado anaerobicamente em ácido lático (MARLIN; NANKERVIS, 2002).

A estimativa do máximo estado estável de lactato, considerada como o padrão ouro para determinação da capacidade aeróbica em humanos e equinos, é definido como a maior velocidade constante na qual a concentração de lactato no sangue permanece constante. Portanto, representa o ponto no qual a produção e remoção do lactato na circulação sanguínea está em equilíbrio (LINDNER, 2010). Estudos recentes mostram que esse valor em equinos ainda não está bem estabelecido, porém parece ser menor quando comparado a humanos (LINDNER, 2010; MIRANDA et al., 2014).

2.4 USO DA FITA NASAL

O uso da fita nasal tem sido amplamente utilizado em equinos em diversas modalidades esportivas. A atividade em que mais se observa o uso dessa tecnologia é em corridas nos hipódromos com o objetivo principal de evitar ou diminuir episódios de hemorragia pulmonar induzida pelo esforço, doença muito comum em animais PSI que causa prejuízo no desempenho dessa atividade (POOLE et al., 2000; MORLEY et al., 2015) . Esse método se tornou popular em humanos após os Jogos Olímpicos de Atlanta 1996 e a partir daí tem sido utilizado em vários atletas de várias modalidades esportivas, além do uso em casos de congestão nasal durante o sono, durante a gestação e em pacientes com alguma dificuldade respiratória (DINARDI; ANDRADE; IBIAPINA, 2014). Outro estudo em humanos conclui que a fita nasal pode reduzir a energia gasta pela ventilação nasal durante o exercício devido a sustentação dada a parede do vestíbulo nasal lateral (GEHRING et al., 2000).

Apesar do uso disseminado em diversas modalidades esportivas, o uso da fita nasal em humanos apresenta diferentes resultados em todos os níveis de esforço, apesar da maior possibilidade de métodos diagnósticos disponíveis e da evidente cooperação da espécie estudada. Por meio de métodos com rinometria acústica, espirometria, análise de gases expirados e análises sanguíneas, não foi observada influência do uso da fita nasal no desempenho durante exercício máximo ou submáximo (OVEREND et al., 2000), nos limiares de lactato (BOGGS; WARD; STAVRIANEAS, 2008) e esforço respiratório, VO2max e frequência respiratória (O'KROY, 2000). Entretanto, outros estudos verificaram a influência positiva do uso da fita na diminuição da frequência cardíaca e melhora do VO2max (DINARDI; DE ANDRADE; IBIAPINA, 2013), melhora na capacidade respiratória nasal (TONG; FU; CHOW, 2001) e aumento do fluxo nasal com queda na resistência nasal (PORTUGAL et al., 1997).

O uso das fitas nasais para equinos também apresenta resultados controversos em diferentes raças e modalidades esportivas. Em equinos a fita nasal envolve externamente a região da falsa narina, podendo assim ter como efeito benéfico a diminuição da resistência na passagem do ar durante exercício intenso, resultando na diminuição ou prevenção do colapso dinâmico da parede lateral das narinas (GOETZ et al., 2001), diminuindo a resistência na passagem do ar pela cavidade nasal e pressão intrapleural (ERICKSON; EPP; POOLE, 2007). Alguns autores demonstram que o uso da fita nasal diminui a pressão inspiratória e o grau de esforço requerido pelos músculos respiratórios, reduzindo a energia requerida pela respiração

(HOLCOMBE et al., 2002), e que associada ao uso da furosemida reduz a fadiga e a ocorrência de HPIE em testes de esforço em esteira (MCDONOUGH et al., 2004). Outro grupo de pesquisa que utilizou animais PSI demonstrou que não há influência do uso da fita nasal no metabolismo anaeróbico, trocas gasosas e na ocorrência de Hemorragia Pulmonar Induzida pelo esforço (GOETZ et al., 2001). A ausência da influência da fita nasal durante exercícios de alta intensidade foi justificada por 3 possibilidades. Primeiramente, em equinos saudáveis realizando exercícios de alta intensidade o colapso dinâmico da parede nasal lateral pode não ocorrer, sendo que não há relatos documentando claramente a ocorrência desse colapso durante esse tipo de exercício. Outra possibilidade seria de que a aplicação da fita nasal não seria o suficiente para sustentar as estruturas envolvidas na contração muscular da região acima da narina. Finalmente, a terceira possibilidade seria de que o benefício pela discreta redução na resistência do fluxo pela cavidade nasal não promoveria mudanças de magnitude suficiente para afetar os parâmetros avaliados e serem detectados pela metodologia aplicada nesse estudo (GOETZ et al., 2001).

Utilizando o exame endoscópico em seis equinos em repouso, Holcombe et al. (2002) mostraram que a aplicação da fita nasal traciona a pele acima da valva nasal, puxando a prega da concha dorsal lateralmente, aumentando a área de secção transversa do meato dorsal. Devido a essa alteração, durante o exercício intenso a 100 e 120% da frequência cardíaca máxima, foram encontrados valores de pressão e resistência inspiratória menores nos animais que executaram o teste com o uso da fita nasal. Um mecanismo semelhante para diminuição da resistência do ar nas vias aéreas foi proposto com o uso das fitas nasais em humanos (AMIS et al., 1999). Como o fluxo foi o mesmo com uma resistência menor, os autores afirmaram que houve uma diminuição do esforço dos músculos respiratórios, propondo que o uso da fita nasal causa uma tensão na pele acima da valva nasal aumentando a estabilidade da região, o que diminuiria da passagem do ar e a carga de trabalho dos músculos respiratórios, possibilitando ao equino alcançar melhor desempenho durante o exercício intenso.

Em um estudo comparando 23 equinos da raça PSI em dois momentos, com e sem o uso da fita nasal, Valdez et al. (2004) verificaram por meio de lavado broncoalveolar 12 a 18 horas após a corrida, diferenças significativas apenas nos números relativos e absolutos de linfócitos, com maiores índices nos animais que se exercitaram sem a fita nasal. Os autores concluíram que essas alterações seriam secundárias à maior mobilização de células do tecido pulmonar ou um influxo de células inflamatórias dentro dos pulmões, como descrito por outros autores que encontraram resultados semelhantes (COUËTIL; DENICOLA, 1999). A média do número total

de leucócitos quando os equinos correram com a fita nasal não diferiu de quando eles correram sem a fita nasal.

Garotti e Angeli (2009) utilizaram a fita nasal em 6 cavalos em treinamento da raça Árabe durante provas de enduro de 20 Km e verificaram que não há influência da fita nos parâmetros de frequência cardíaca, frequência respiratória e lactato sanguíneo. Entretanto, não foram realizados testes específicos de função pulmonar nesses animais, sendo que o benefício do uso da fita nasal durante o exercício pode não ter sido alcançado pelo método de avaliação.

Cavalos da raça Árabe geralmente são utilizados para provas de resistência, que exigem um bom desempenho das vias respiratórias. Apesar dos resultados conflitantes existentes na literatura, não há número suficiente de pesquisas envolvendo o uso da fita nasal em equinos em exercício de baixa intensidade e longa duração. Acreditamos que o uso da fita nasal possa trazer mudanças no metabolismo desses equinos atletas durante o exercício assim como em humanos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 6 equinos da raça Árabe, sendo 2 machos e 4 fêmeas, com peso de 350 e 382Kg, idade média de 9 ± 1 ano (entre 8 e 11 anos) (Quadro 1), que não foram submetidos a nenhum protocolo de treinamento físico. Os animais foram alojados aos pares em baias com dois cochos para alimentação e um cocho para água. Eram alimentados com feno *coast-cross* e água *ad libitum*, além de 2 Kg de ração comercial peletizada de manutenção dividida em duas vezes ao dia. Anteriormente ao período de testes de esforço, os animais passaram por exame clínico visando avaliar a higidez dos mesmos. A avaliação dos animais seguiu protocolo padrão pré-estabelecido conforme descrito:

- Avaliação física – aferição das frequências cardíaca, respiratória e movimentação cecal através de auscultação cardíaca, pulmonar e movimentação da válvula ileocecal, respectivamente, mensuração da temperatura retal, inspeção das mucosas aparentes e tempo de preenchimento capilar (TPC) e exame de claudicação.

- Exames complementares – Hemograma.

Quadro 1 - Descrição dos animais utilizados segundo sexo, peso(Kg) e idade(anos), no início do experimento – São Paulo - 2015

Animal	Sexo	Peso (kg)	Idade (anos)
1-Branca	F	370	8
2-Nega	F	356	8
3-Falta	F	363	8
4-Orelha	F	350	10
5-Gerva	M	375	9
6-Rouse	M	382	11

3.1 PREPARO E ADAPTAÇÃO DOS ANIMAIS

O preparo dos animais foi realizado durante os 3 meses que precederam os testes de esforço. Os cascos eram inspecionados e o casqueamento realizado a cada 20 dias ou conforme a necessidade, visto que os animais não utilizavam ferradura. Todos os animais foram vermifugados com ivermectina associada à praziquantel.

No início da adaptação os animais foram trazidos individualmente à sala da esteira do Laboratório de Medicina Esportiva Equina da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Dentro da sala, eles eram ambientados à acústica da sala, aos sons da esteira e do ventilador, à luminosidade e aos membros da equipe. Após a ambientalização, eles iniciavam o trabalho com manta da esteira em movimento, sendo exercitados a passo e trote por 10 a 15 minutos por dia. Ao fim do exercício a máscara era posicionada nos animais até não se mostrarem incomodados com seu uso.

3.2 COLETA DE DADOS

Cada animal foi submetido a dois testes de esforço em esteira, um com a fita nasal e outro sem a fita nasal, de maneira randomizada e com um intervalo mínimo de 7 dias entre um teste e outro.

3.2.1 Lavado Broncoalveolar

Todos os animais foram submetidos à três lavados broncoalveolares sendo o primeiro deles sete dias antes do início dos testes e os outros dois 180 minutos após o início da realização dos dois testes de esforço (com e sem fita nasal).

Para realização do lavado o animal foi posicionado no tronco de contenção, sedado com Xilazina® na dose de 0,5mg/kg e realizada contenção física com cachimbo. O cateter de silicone para lavado broncoalveolar de 3 metros Bivona® era posicionada através do meato ventral da narina direita e direcionada até os brônquios, sendo utilizado 20 ml de solução com

lidocaína 0,5% para dessensibilização das vias aéreas inferiores quando a sonda adentrasse à traqueia. No momento em que não houvesse mais a progressão do cateter, inflava-se o balão na extremidade distal do cateter com 5 ml de ar e infundia-se 40ml de solução fisiológica 0,9%, sendo aspirado na sequência o conteúdo do lavado por meio de sucção leve com seringa. O conteúdo era aspirado até a recuperação de aproximadamente 50% do volume total infundido e esse material foi armazenado em tubos Falcon® e processado em seguida.

As amostras foram centrifugadas em centrífuga à 3500rpm por 10 minutos e descartado o sobrenadante em seguida. O botão formado pelas células no fundo do tubo Falcon® foi ressuspendido e com esse material realizava-se o esfregaço em duas lâminas de microscopia. Essas lâminas foram coradas pelo método de coloração de Rosenfeld, onde foram expostas por 3 minutos ao corante de Rosenfeld e em seguida adicionado água destilada, permitindo o contato da lâmina com o corante por mais 10 minutos. Após esse período a lâmina foi lavada em água corrente e posicionada para secar (ROSENFELD, 1947).

A leitura das lâminas foi realizada após a coleta de todos os lavados por um único observador em microscopia óptica de imersão em aumento de 800x. Eram contadas as 300 primeiras células observadas, sendo classificadas em: células epiteliais, macrófagos, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, multinucleadas e macrófagos espumosos. A proporção dessas células no lavado foi registrada em porcentagem e em valores absolutos.

3.2.2 Frequência cardíaca

Para obtenção da frequência cardíaca durante o teste de esforço foi utilizado o frequencímetro da marca Polar ProTrainer 5 Equine Edition®. O elástico com os eletrodos era umedecido e posicionado 20 minutos antes do início do teste no tórax do animal, sendo que o sensor de frequência cardíaca era sempre posicionado do lado esquerdo sem a realização de tricotomia nessa região. Após o posicionamento correto, o transmissor foi posicionado no elástico e então realizado um teste para verificar se estava ocorrendo a transmissão do sinal para o relógio. A coleta dos dados de frequência cardíaca se iniciava quando o animal já estava posicionado na esteira, imediatamente antes do início do teste, e se estendia até 5 minutos após o exercício.

Após o fim do teste, os dados coletados eram transmitidos para o computador por meio do auxílio da interface infravermelha USB para o software Polar Weblink®, possibilitando a

obtenção da curva da frequência cardíaca antes, durante e depois do teste. Esses dados foram transportados para o programa Excel® para análise estatística e comparação das curvas em diferentes momentos.

3.2.3 Coleta de sangue

No dia anterior ao teste de esforço era realizada tricotomia na região da veia jugular esquerda para colocação de cateter venoso. No dia do teste após assepsia era realizada a colocação do cateter venoso 14G entre os terços médio e proximal da veia jugular esquerda, logo após a realização de anestesia local com 1ml de Lidocaína 2% sem vasoconstritor. Foi acoplado ao cateter um tubo extensor com uma torneira de 3 vias na outra extremidade, com o intuito de facilitar as coletas durante o exercício. Após esse procedimento, era injetado nesse sistema solução heparinizada na concentração de 10000 UI/L, assim como após cada coleta realizada durante o teste. Foram obtidas amostras de sangue antes, durante e 180 minutos após início do teste de esforço, quando era retirado o cateter venoso. Durante o exercício as coletas de sangue foram realizadas nos 30 segundos finais de cada estágio, sendo eles com 15min (F1), 30min (F2), 45min (F3) e 60min (F4). Essas amostras foram coletadas em tubos siliconizados sem anticoagulantes e tubos siliconizados com fluoreto de sódio para a mensuração dos parâmetros de CK e lactato, respectivamente. Após o final de cada estágio a manta da esteira era pausada por 1 minuto para o posicionamento da máscara e coleta dos dados dos valores respiratórios.

3.2.4 Espirometria

Para a obtenção dos valores de frequência respiratória, fluxo e volume respiratório foi utilizado um sistema de coleta com máscara Quadflow (CURTIS et al., 2005), que necessita de calibração prévia do pneumotacômetro. Essa calibração foi realizada por meio do software da Medgraphics Breezesuite com seringa de 6 litros e posicionamento em série de 4 medidores, para o uso posterior desses medidores em paralelo na máscara. A máscara cobria a cavidade oral e narinas dos equinos e permitiu a dilatação completa das narinas. Ela possui uma borracha

que veda a região entre a superfície da máscara e a pele do animal, impossibilitando a entrada de ar por outro local que não os medidores (Figura 1). Os valores referentes à temperatura ambiental, umidade relativa e pressão atmosférica eram registrados no momento calibração.

Figura 1 - Imagem mostrando equino na baia com a máscara e os pneumotacômetros acoplados – São Paulo – 2015

Fonte: Laboratório de medicina esportiva equina (LAMEQ)

Foram obtidos valores basais dos animais na baia antes do teste sem a paramentação necessária para o teste, sendo que nesse momento basal os animais não utilizaram a fita nasal. Durante o teste de esforço de longa duração as coletas com a máscara foram realizadas com animal na esteira após o fim de cada estágio. A manta da esteira era pausada e a coleta realizada durante 30 segundos, sendo que ao completar um minuto de pausa, o exercício era retomado já no próximo estágio. Foram realizados 4 estágios de 15 minutos, completando uma hora de teste, além da última coleta com a máscara após 5 minutos do término do teste.

Estes dados foram obtidos e registrados pelo software WFATester®, onde gerava-se curvas de fluxo e volume respiratórios, além dos dados numéricos desses parâmetros. Posteriormente esses dados foram transferidos e analisados no programa Excel®.

Com os dados obtidos, foram selecionados os primeiros três ciclos respiratórios sequenciais semelhantes e livres de artefatos (deglutição, expelir o ar com força) de cada animal e em cada momento. Foi calculada a média desses três ciclos para obtermos os valores de fluxo

respiratório, volume tidal e frequência respiratória. Por meio dessas variáveis foi possível a obtenção do volume minuto, tempo de inspiração, tempo de expiração, razão inspiração e expiração no ciclo em cada momento de cada animal.

3.3 COLOCAÇÃO DA FITA NASAL

No dia do teste em que o animal realizava o experimento com a fita nasal foi realizado o posicionamento da mesma 30 min antes do início do teste. A região da pele acima das narinas era limpa com água e sabão neutro, sendo seca em seguida. A fita nasal era posicionada 3,8 cm acima da narina com o auxílio de um guia comercial de posicionamento. Essa fita possui 3 hastes de sustentação (rostral, média e caudal) que objetivam sustentar a região rostral à incisura nasoincisiva, onde não há sustentação óssea (Figura 2). Essa região é análoga à válvula nasal em humanos (POOLE et al., 2000).

Figura 2 - Fita nasal posicionada na região rostral à incisura nasoincisiva no equino – São Paulo - 2015

Fonte: Laboratório de medicina esportiva equina (LAMEQ)

3.4 TESTE DE LONGA DURAÇÃO

Todos os testes foram realizados entre as 14:00hrs e 17:30hrs dentro de um período de 10 dias, porém com um intervalo mínimo de 7 dias entre o primeiro e o segundo teste de cada animal. No dia do teste o animal recebia apenas a ração do período da manhã (7:00hrs), porém o feno e água eram *ad libitum.* Após o preparo do animal, com colocação de cateter venoso e frequencímetro, este era levado à sala da esteira para realizar o teste de esforço de longa duração. O teste foi realizado a uma velocidade constante de 3,2m/s durante 60 minutos sem inclinação da esteira, quando eram realizadas as coletas (Quadro 2).

Quadro 2 - Momentos das coletas nos equinos do experimento para as diferentes provas laboratoriais realizadas no teste de longa duração – São Paulo – 2015.

	M0	F1	F2	F3	F4	M1	M2
	0	15 min	30 min	45 min	60 min	65 min	180 min
Lactato	X	X	X	X	X	X	
CK	X				X		X
Espirometria	X	X	X	X	X	X	
Lavado Broncoalveolar							X

Foram registrados os parâmetros de temperatura ambiente, umidade relativa e temperatura corpórea retal do equino no início e no término de cada teste.

As amostras de sangue foram processadas no Laboratório de Bioquímica e Hematologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. As determinações foram obtidas pelo Analisador Bioquímico Automático Labtest® modelo Labmax 240, utilizando-se os seguintes métodos:

- Lactato: método de UV enzimático (WESTGARD; LAHMEYER; BIRNBAUM, 1972) com a utilização de kit comercial Lactato Kovalent (ART 1100075K), produzido pela Kovalent do Brasil Ltda;

- Creatinaquinase: teste de UV otimizado (SOCIEDADE GERMÂNICA DE QUÍMICA CLÍNICA, 1977), com a utilização de kit comercial da BioSys CK-Nac FS produzido pela DiaSys Diagnostic Sysrems GM & Co. - Reino Unido;

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi aplicada de maneira diferente para cada variável, com o objetivo de verificar variações entre animais que realizaram o teste com e sem fita, além da variação dos parâmetros no decorrer do teste.

Para quantificar a variação da citologia do lavado foi utilizada modelagem de regressão (ANOVA para 1 fator) para verificar se os valores médios na medição basal, com e sem fita apresentam diferenças. Esse modelo foi aplicado para cada variável, sendo elas: Células epiteliais, eosinófilos, neutrófilos, linfócitos, macrófagos, células multinucleadas, macrófagos espumosos. O nível de significância das análises é de 95% e foi utilizada a metodologia de Tukey para construção dos intervalos de confiança, pois, mesmo quando testamos várias diferenças, ele mantém o coeficiente de confiança global de 5%. Empregamos a metodologia de Tukey que constrói os intervalos de confiança para testar se essas diferenças são significativas fixando o coeficiente de confiança em 95%. Para verificar de forma não paramétrica se há diferença entre os instantes de medição, foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas.

Para analisar as variáveis da espirometria (frequência respiratória, volume tidal, volume minuto, tempo de inspiração, tempo de expiração e relação do tempo de inspiração/tempo de expiração), análise de lactato e CK, foram ajustados modelos de medidas repetidas (ANOVA para 2 fatores) que levam em consideração o tempo, a presença/ausência de fita e a estrutura de correlação advinda de termos medidas realizadas nos mesmos animais ao longo do tempo, com nível de significância das análises de 95%.

A variável frequência cardíaca teve sua análise dividida entre os instantes durante o exercício e durante a recuperação. Também foram ajustados modelos de medidas repetidas (ANOVA para 2 fatores) que levam em consideração o tempo, a presença/ausência de fita e a estrutura de correlação advinda de termos medidas realizadas nos mesmos animais ao longo do tempo, com nível de significância das análises de 95%.

Para a realização das análises estatísticas foram utilizados os programas R: R versão 2.15.1 (2012-06-22) e Excel: Microsoft Office Excel 2007 para aplicação dos testes e tabulação dos dados, respectivamente.

4 RESULTADOS

Todos os testes de longa duração foram realizados entre os dias 09/03/2015 e 19/03/2015. A temperatura ambiente média durante os testes variou entre 25,3°C ± 1,4 no início e 25,6°C ± 1,3 ao fim do teste, e a umidade relativa do ar variou entre 58,5% ± 5,0 no início e 62,0% ± 5,7 ao fim do teste.

Os seis equinos realizaram os dois testes de esforço com o intervalo mínimo de sete dias entre os testes. Porém, alguns momentos de coleta não foram obtidos com sucesso devido às complicações no posicionamento da máscara ou posicionamento do frequencímetro. Todos os dados não coletados são descritos no respectivo tópico de cada coleta e a análise estatística levou em consideração essas alterações, sem comprometimento aos valores finais de cada análise.

No momento do exercício foi notada uma maior estabilidade da região acima das narinas no momento em que os animais utilizaram a fita nasal, ou seja, a região da pele rostral à incisura nasoincisiva apresentava menor movimentação durante o exercício em comparação com o momento em que os animais executaram o exercício sem a fita nasal. O processo de limpeza da pele e aplicação da fita nasal se mostrou eficiente pois todos os equinos que iniciaram o teste de esforço com a fita concluíram o teste com a mesma na posição original e sem o descolamento das abas, apesar da intensa sudorese observada no local onde a fita era aplicada.

4.1 CITOLOGIA DO LAVADO BRONCOALVEOLAR

Foram obtidas amostras dos 6 animais nos momentos Basal, 180 minutos após o início do exercício com a fita nasal e 180 minutos após o início do exercício sem a fita nasal. O tamanho da amostra se provou um limitante nestas análises, pois algumas variáveis demonstraram tendências de diferenças entre os instantes de medição que não puderam ser validadas estatisticamente e outras variáveis apresentavam valores que variavam muito entre os animais não permitindo entender uma tendência geral dos valores nos diferentes instantes (Apêndices A e B).

Todas as amostras obtidas apresentaram ao exame macroscópico aparência levemente turva, pouco esbranquiçada e com presença de surfactante, indicando que a amostra era

proveniente da porção distal do sistema respiratório. Na Tabela 1 são apresentadas média e desvio padrão das células estudadas nos momentos basal, com fita e sem fita. Os valor-p dos intervalos de confiança para as diferenças dos valores nos três instantes, dois a dois, utilizando a metodologia de Tukey.

Tabela 1 - Média e Desvio Padrão (DP) dos grupos Basal, Com fita e Sem fita nos instantes de medição – São Paulo – 2015

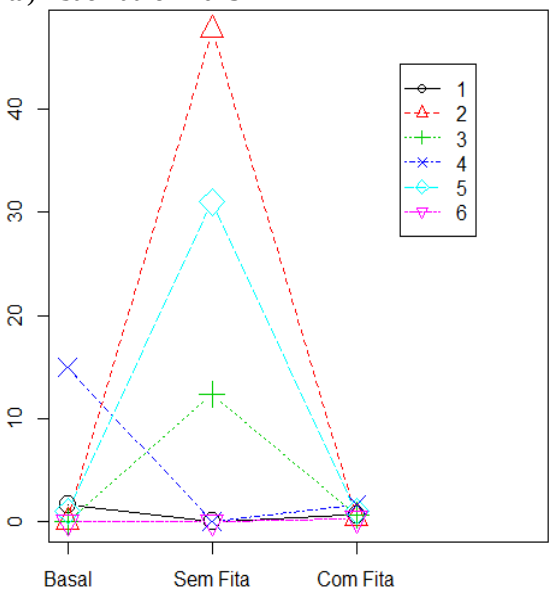
Tipo de célula	**Basal**		**Com fita**		**Sem fita**	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Células epiteliais	2,94	5,95	0,78	0,50	15,17	20,03
Eosinófilos	1,06	2,43	0,61	0,85	0,06	0,14
Neutrófilos	20,61	21,42	36,28*	14,50	20,33	16,59
Linfócitos	1,39	1,67	1,06	1,65	0,56	0,81
Macrófagos	72,00	19,80	60,72	14,25	62,83	22,49
Multinucleadas	2,00*	1,21	0,50	0,59	0,67	0,87
Macrófagos espumosos	0,00	0,00	0,00	0,00	0,28	0,53

* Valores das médias estatisticamente diferentes (Valor p<0,05)

4.1.1 Células epiteliais

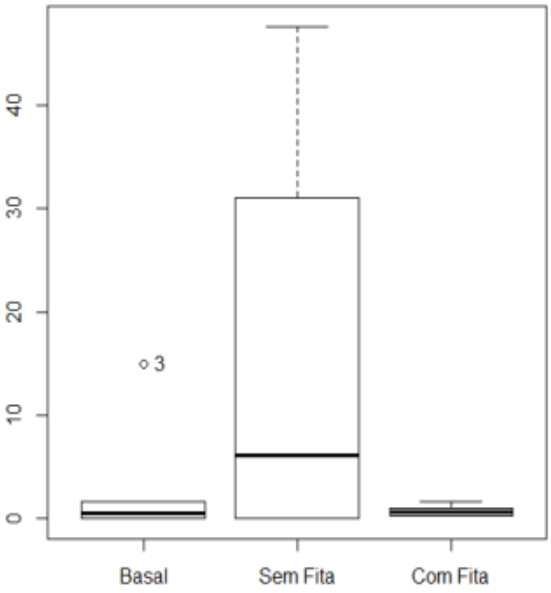
Metade dos animais apresentou maiores valores para esta variável quando medido após o exercício sem fita em comparação com os outros dois instantes. O animal 4 apresentou maior valor na medição basal do que nos outros instantes e outros dois animais (1 e 6) tiveram valores próximos de zero nas três medidas (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Valores absolutos de células epiteliais dos equinos submetidos ao LBA nos três instantes (Basal, Sem fita e Com fita) - São Paulo - 2015



Porém, apesar de toda esta dispersão, o valor médio das medições sem fita é maior do que nos outros dois instantes (Gráfico 2). O modelo ajustado para explicar os valores de epiteliais em função da medida (basal, com e sem fita) não se mostrou adequado (valor-p igual a 0,117 e qqplot demonstrando que os resíduos da regressão não se distribuem conforme uma normal).

Gráfico 2 - Boxplot dos valores da variável células epiteliais nos três instantes - São Paulo - 2015



Mesmo sem o ajuste adequado do modelo, foram construídos intervalos de confiança para as diferenças dos valores nos três instantes, dois a dois, utilizando a metodologia de Tukey,

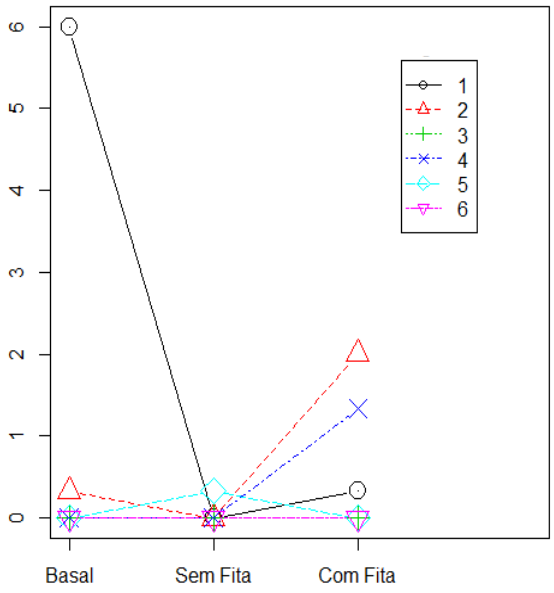
sendo que estas diferenças não são estatisticamente significantes. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que não demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos, com valor-p = 0,2012 no Basal x Sem fita, valor-p = 0,4375 no Sem fita x Com fita e valor-p = 0,9163 no Basal x Com fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável células epiteliais entre os 3 momentos (Basal, Com fita e Sem fita nasal) com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável.

4.1.2 Eosinófilos

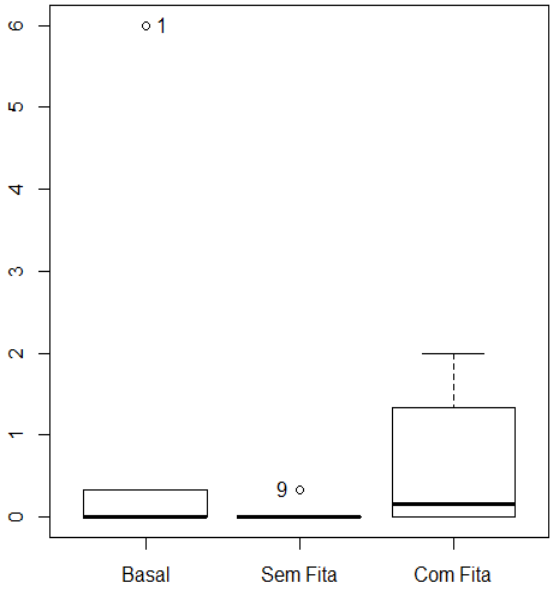
Analisando o gráfico dos resultados dos animais, verificamos leve tendência de que os valores sejam maiores na medição com fita com relação aos outros dois instantes, porém dois animais fugiram deste padrão. O animal 1 apresentou um valor muito alto na medição basal e o animal 5 apresentou valor mais alto na medição sem fita (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Medidas dos animais para a variável eosinófilos nos três instantes - São Paulo - 2015



Apesar da tendência visual das medições no instante com fita serem maiores do que as obtidas nos outros instantes, o valor discrepante na medição basal fez com que a média geral dele fosse maior que as outras, conforme tabela abaixo (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Boxplot dos valores da variável eosinófilos nos três instantes - São Paulo - 2015.



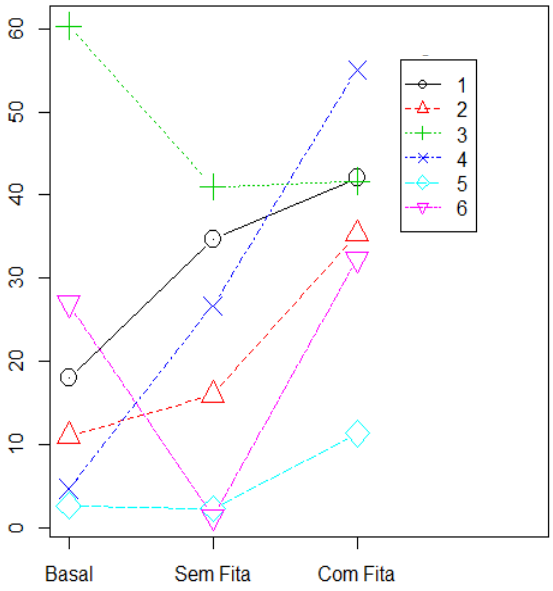
O modelo ajustado para explicar os valores de eosinófilos em função da medida (basal, com e sem fita) não é adequado (valor-p igual a 0,521 e qqplot demonstrando que os resíduos da regressão não se distribuem conforme uma normal). Mesmo sem o ajuste adequado do modelo, foram construídos intervalos de confiança para as diferenças dos valores nos três instantes, dois a dois, utilizando a metodologia de Tukey, sendo que estas não são estatisticamente significantes. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que não demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos, com valor-p = 0,5862 no Basal x Sem fita, valor-p = 0,2693 no Sem fita x Com fita e valor-p > 0,999 no Basal x Com fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável eosinófilos entre os 3 momentos (Basal, Com fita e Sem fita nasal) com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável.

4.1.3 Neutrófilos

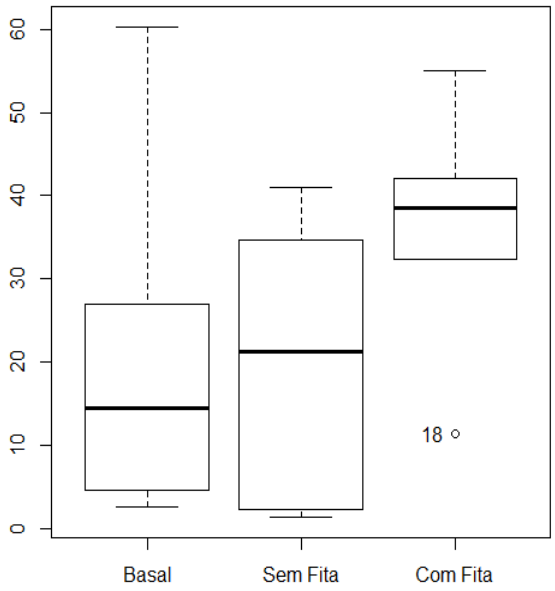
Observando os valores das medições para esta variável é possível verificar uma tendência de aumento dos valores com relação ao valor basal e à medição com fita. Metade dos cavalos apresentou aumento entre a medição basal e a sem fita e a outra metade, redução no valor medido (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Medidas dos animais para a variável neutrófilos nos três instantes - São Paulo - 2015



O boxplot apresentado abaixo confirma o que foi verificado acima. O instante com fita apresenta média maior do que os outros dois instantes, que apresentam pouca diferença entre si (Gráfico 6). O modelo ajustado para explicar os valores de neutrófilos em função da medida (basal, com e sem fita) não é adequado (valor-p igual a 0,237 e qqplot demonstrando que os resíduos da regressão não se distribuem conforme uma normal).

Gráfico 6 - Boxplot dos valores da variável neutrófilos nos três instantes - São Paulo - 2015



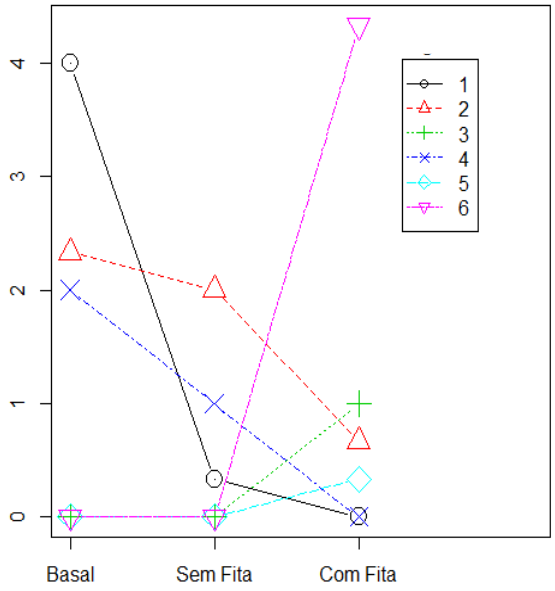
Mesmo sob a não adequação estatística do modelo, foram construídos os intervalos de confiança para as diferenças das médias entre os instantes. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos Sem fita x Com fita com valor-p = 0,0313. Nos grupos Basal x Sem fita (valor-p = 0,8438) e Basal x Com fita (valor-p = 0,2188) não houve diferença estatisticamente significativa.

Na variável neutrófilos houve diferença entre os momentos Com fita x Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita influenciou essa variável.

4.1.4 Linfócitos

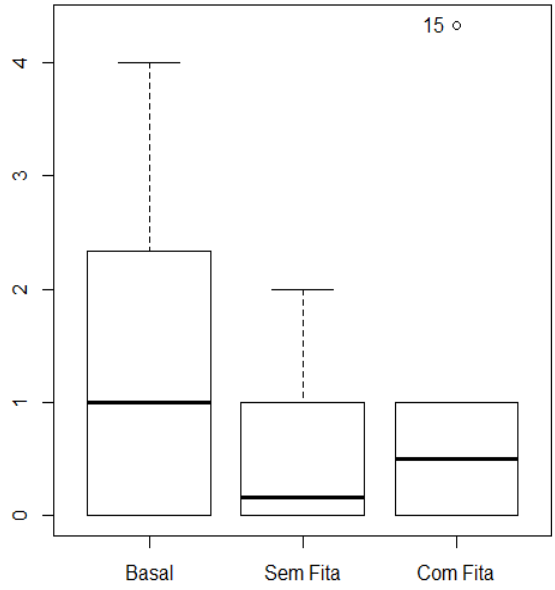
Analisando o perfil dos dados dos animais não é possível afirmar se há tendência de aumento ou de queda no valor entre as medições, pois os dados se comportam de forma diferente para cada animal (Gráfico 7).

Gráfico 7 - Medidas dos animais para a variável linfócitos nos três instantes - São Paulo - 2015



Por meio dos valores médios, verificamos que o instante basal é o que apresenta maiores valores para a variável, porém a diferença é muito pequena se levarmos em consideração a dimensão do desvio padrão. Pelo boxplot é possível dizer que o valor do desvio padrão no instante com fita seria menor, não fosse o "outlier" (Gráfico 8).

Gráfico 8 - Boxplot dos valores da variável linfócitos nos três instantes - São Paulo - 2015



Foi ajustado um modelo de regressão para explicar os valores de linfócitos em função dos instantes de medida. Tal modelo não se mostrou adequado (valor-p igual a 0,608 e qqplot

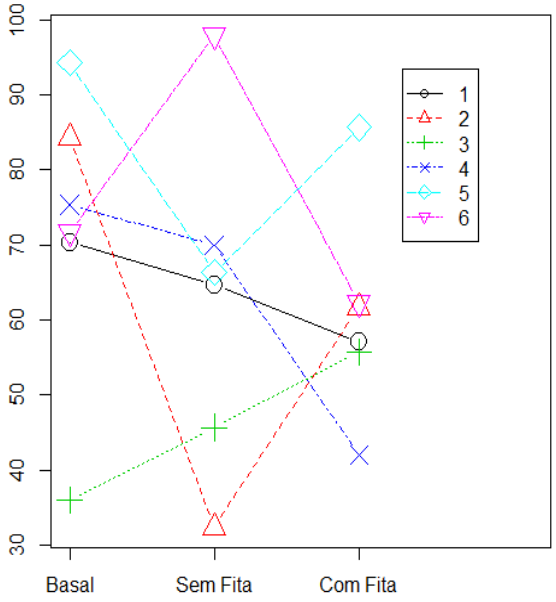
demonstrando que os resíduos da regressão não se distribuem conforme uma normal). Ainda assim, foram construídos os intervalos de confiança para as diferenças entre as médias, que mostraram que não há diferença estatisticamente significante entre elas. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que não demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos, com valor-p = 0,2785 no Basal x Sem fita, valor-p = 0,5807 no Sem fita x Com fita e valor-p > 0,999 no Basal x Com fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável linfócitos entre os 3 momentos (Basal, Com fita e Sem fita nasal) com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável.

4.1.5 Macrófagos

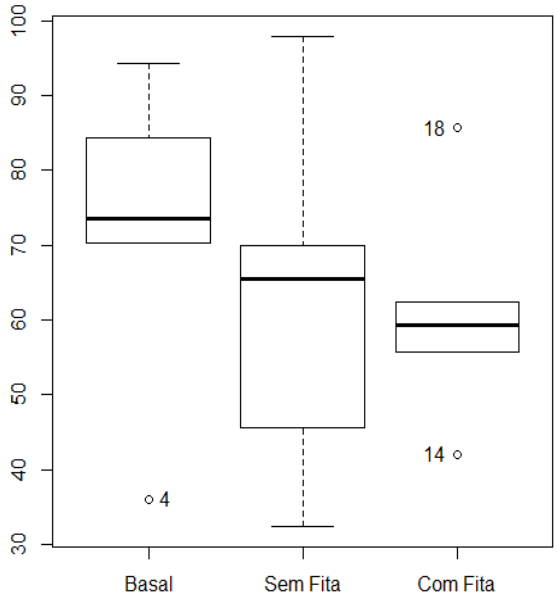
Podemos ver abaixo que o perfil dos dados para esta variável apresenta grande dispersão, não permitindo inferir sobre aumento ou diminuição dos valores conforme as medições (Gráfico 9).

Gráfico 9 - Medidas dos animais para a variável macrófagos nos três instantes - São Paulo - 2015



O que foi observado no gráfico de perfis também pode ser visto, de forma diferente, pelo boxplot (Gráfico 10). O gráfico abaixo nos mostra como três pontos, classificados pelo programa como “outliers”, influenciaram a dispersão dos dados.

Gráfico 10 - Boxplot dos valores da variável macrófagos nos três instantes - São Paulo - 2015



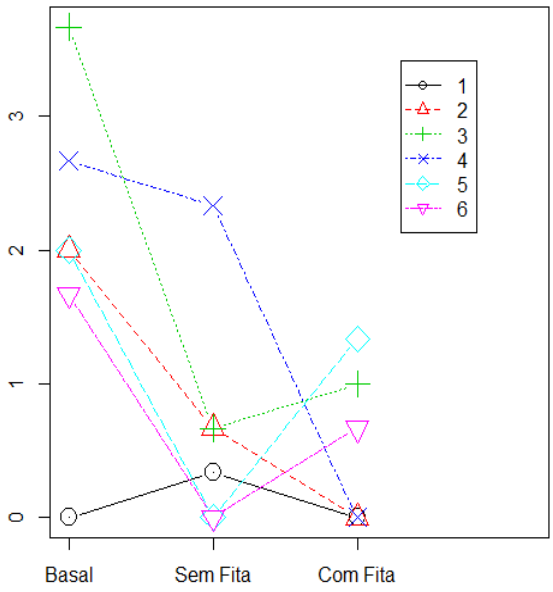
Foi ajustado um modelo de regressão para explicar os valores de macrófagos em função dos instantes de medida. Tal modelo não se mostrou adequado (valor-p = 0,568 e qq plot demonstrando que os resíduos da regressão não se distribuem conforme uma normal). Mesmo sem o adequado ajuste do modelo, testou-se se as diferenças entre as médias nos três instantes eram estatisticamente diferentes de zero. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que não demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos, com valor-p = 0,5625 no Basal x Sem fita, valor-p = 0,4375 no Sem fita x Com fita e valor-p = 0,5625 no Basal x Com fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável macrófagos entre os 3 momentos (Basal, Com fita e Sem fita nasal) com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável.

4.1.6 Multinucleadas

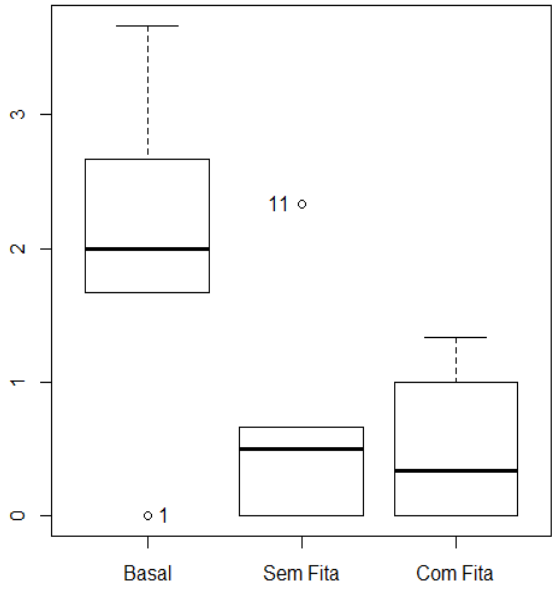
Pelo gráfico de perfis podemos ver que, aparentemente, os valores basais são maiores do que nas outras medições (Gráfico 11).

Gráfico 11 - Medidas dos animais para a variável multinucleadas nos três instantes - São Paulo - 2015



O boxplot nos mostra, mais uma vez que os valores no instante basal tendem a ser maiores do que nas medições com e sem fita, que tem média e variação semelhantes. Também é possível de se visualizar a influência dos pontos discrepantes na amostra (Gráfico 12).

Gráfico 12 - Boxplot dos valores da variável multinucleadas nos três instantes - São Paulo - 2015



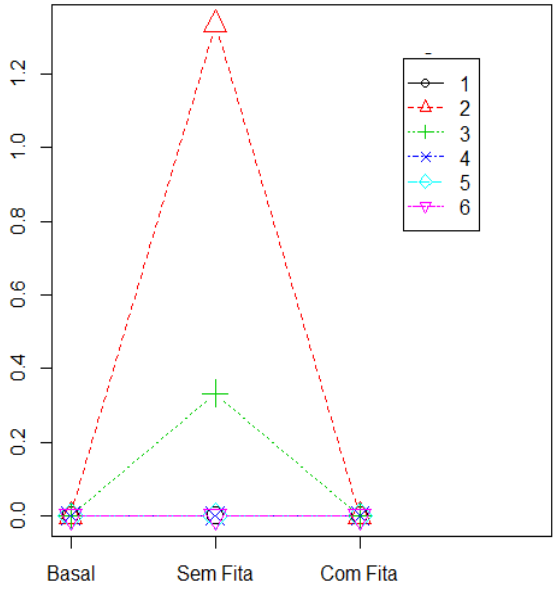
Foi ajustado um modelo de regressão para explicar os valores de multinucleadas em função dos instantes de medida. Tal modelo se mostrou adequado (valor-p = 0,025 e qq plot demonstrando que os resíduos da regressão parecem atender a restrição de normalidade, com valores bem próximos da reta, apesar de um ponto se encontrar fora das bandas). Com base no modelo ajustado, utilizando a metodologia de Tukey, testou-se se as diferenças entre as médias nos três instantes eram estatisticamente diferentes de zero e foram construídos intervalos de confiança. Através dos intervalos de confiança verificamos que há diferença estatisticamente significante (95%) entre o instante basal e a medição com fita, valor-p de 0,033. Já entre o instante basal e sem fita, verificamos valor-p de 0,06, que nos indica fraca evidência de que esta diferença é diferente de zero. Não há diferença estatisticamente significante entre os valores nos instantes com e sem fita.

Houve diferença estatisticamente significativa na variável multinucleadas entre os momentos Basal x Com fita e Basal x Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Porém, as amostras coletadas após o exercício se mostraram diferentes das amostras coletadas sem exercício prévio.

4.1.7 Macrófagos espumosos

Do gráfico de perfis, com exceção de duas medidas no instante sem fita (animais 2 e 3), todas as outras apresentam valor zero, o que não nos permite extrair grandes informações da análise gráfica ou numérica (Gráfico 13).

Gráfico 13 - Medidas dos animais para a variável macrófagos espumosos nos três instantes - São Paulo - 2015



Por termos somente duas medidas em um dos instantes, não foi possível ajustar um modelo de regressão para estimar as diferenças das médias. Como forma de avaliação não paramétrica foram realizados testes de Wilcoxon para amostras pareadas, que não demonstraram diferenças estatisticamente significativas na comparação dos grupos, com valor-p = 0,3711 no Basal x Sem fita e valor-p = 0,3711 no Sem fita x Com fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável macrófagos espumosos entre os 3 momentos (Basal, Com fita e Sem fita nasal) com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável.

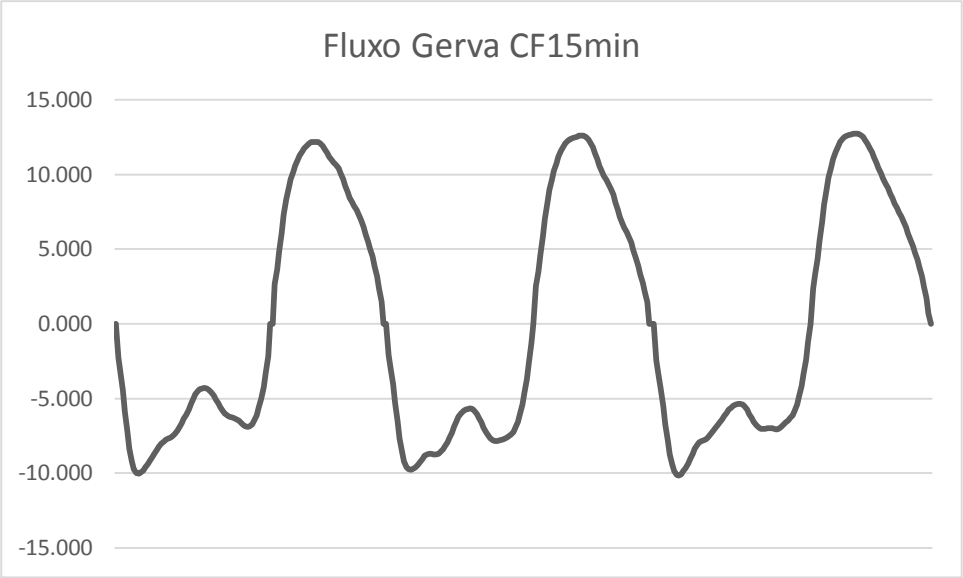
4.2 ESPIROMETRIA

Os dados obtidos por meio da máscara de espirometria foram analisados com a seleção dos primeiros 3 ciclos respiratórios sequenciais semelhantes e livres de artefatos (deglutição, expelir o ar com força) de cada animal e em cada momento sempre que possível.

Uma grande variedade de formas nas curvas respiratórias foi registrada nos animais em repouso. A curva inspiratória registrada foi bifásica em quatro animais e trifásica em dois animais, porém todos os picos do fluxo inspiratório ocorreram no fim da inspiração. Já no registro da curva expiratória, todos os equinos apresentaram a curva bifásica durante o momento basal, sendo que o pico de fluxo expiratório foi sempre registrado no início da expiração. A frequência respiratória dos animais em repouso variou entre 12 e 21 mpm.

Durante o exercício com o uso da fita nasal os animais apresentaram na maioria dos dados uma curva inspiratória bifásica, com alguns poucos momentos de curva monofásica. O pico de fluxo inspiratório foi registrado no início da inspiração na metade dos animais (Gráfico 14) e no final da inspiração na outra metade. O animal 4 apresentou o padrão de curva trifásica na inspiração do momento 15 min. As curvas expiratórias foram predominantemente monofásicas, porém foram observadas curvas bifásicas em alguns animais, sendo que o pico expiratório foi no início da expiração nesses momentos. A frequência respiratória dos animais durante o exercício usando a fita nasal aumentou conforme o avançar do exercício (Gráfico 15).

Gráfico 14 - Gráfico mostrando fluxo em Litros/segundo de 3 ciclos respiratórios com ondas inspiratórias bifásicas e ondas expiratórias monofásicas de um equino durante o teste de esforço com frequência respiratória de 50 mpm – São Paulo – 2015.

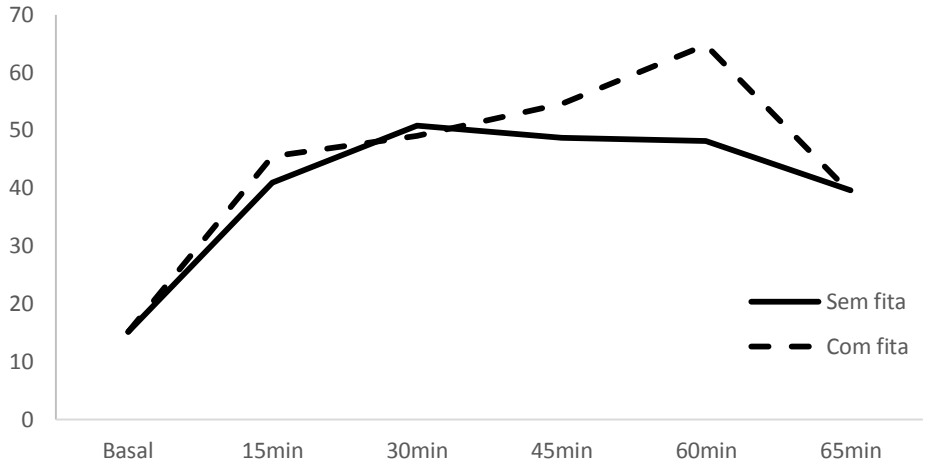


Quando os animais não utilizaram a fita nasal durante o exercício, foi observada predominância de curvas inspiratórias bifásicas assim como nos animais se exercitando com a fita nasal, porém foram também registrados momentos em que as curvas foram monofásicas ou trifásicas. O pico de fluxo inspiratório foi no início da inspiração em todos os animais. Os registros das curvas expiratórias mostraram um padrão de curva predominantemente monofásico, mas com alguns momentos de curvas bifásicas e um momento de curva trifásica (15 min do animal 2). Nas curvas bifásicas o pico de fluxo expiratório foi no início da expiração em todos os animais.

4.2.1 Frequência Respiratória

Os dados coletados referentes à frequência respiratória nos mostram um crescente conforme o exercício progride no grupo Com fita. Entretanto, no grupo Sem fita o os valores param de subir a partir da metade do exercício e iniciam um leve declínio.

Gráfico 15 - Médias da variável frequência respiratória em movimentos por minuto (eixo vertical) nos seis instantes de medição (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,225) e, desta forma, foi eliminado da análise e elaborado um modelo de regressão contendo apenas a variável tempo em sua forma numérica para entender, na média, como é a evolução da frequência respiratória antes, durante e após o exercício.

É importante salientar que estes são valores esperados para a média, calculados a partir de uma reta estimada com base nos valores coletados, de modo que, a menos que esta reta estimada represente muito bem os dados, os valores estimados serão diferentes dos observados. Já os valores médios observados em cada instante, independente da presença ou ausência de fita, podem ser vistos na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 - Médias e erros padrão da variável frequência respiratória medidas nos seis instantes – São Paulo – 2015

Momento	Média	Erro Padrão
Basal	15,17	4,51
15 min	43,24	5,01
30 min	48,73	5,43
45 min	50,56	5,20
60 min	56,04	5,01
65 min	39,71	4,87

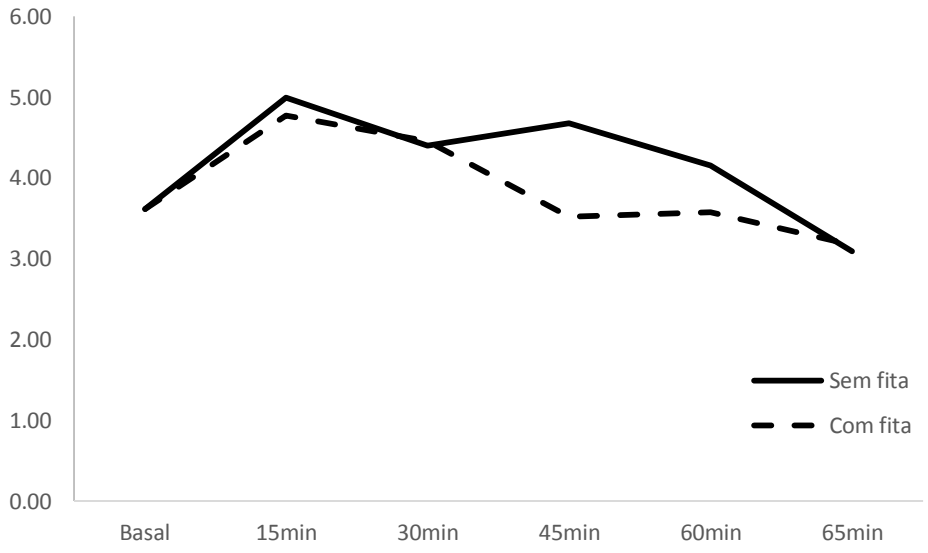
Foi testada de forma não paramétrica – teste de Wilcoxon para dados pareados – a diferença dos valores no instante 60 min para a variável frequência respiratória. Como o animal 4 não tinha valor no instante com fita e o animal 6 não tinha valor para o instante sem fita, apenas 4 medidas de cada instante foram consideradas no teste. O valor p obtido com este teste foi 0,375, que nos indica que, com base nesta amostra, não há evidência de diferença entre os valores de frequência respiratória no fim do exercício com ou sem fita.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável frequência respiratória entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Entretanto, houve um aumento gradativo frequência respiratória conforme o exercício progredia, mesmo com a manutenção da velocidade.

4.2.2 Volume Tidal

O volume tidal apresentou pouca variação durante o exercício. No grupo Com fita houve uma redução acentuada à partir da metade do exercício, porém os dados dos dois grupos no último momento (65min) praticamente atingiram o mesmo patamar (Gráfico 16).

Gráfico 16 - Médias da variável volume tidal em Litros (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,350) e a variável tempo – considerando cada instante de medida um fator – mostrou-se fracamente significante (valor-p igual a 0,015). Desta forma, outro modelo foi construído, desta vez eliminando a variável fita, ainda na forma de fator. A variável tempo, como um todo, foi considerada significativa neste segundo modelo. Porém, quando olhamos cada um dos fatores separadamente eles não tem valores-p significativos.

Isso indica que, com exceção do instante 15 min, as medições não se afastam do valor no instante basal suficientemente para esta diferença ser considerada estatisticamente maior que zero. Sendo assim, construímos um terceiro modelo, considerando tempo uma variável contínua. As estimativas estão na tabela abaixo. O incremento não apresentou valor-p estatisticamente significante (maior que 0,05), então concluímos que não há variação estatisticamente significante no volume tidal se o animal está com ou sem a fita ou em qualquer um dos instantes de medida.

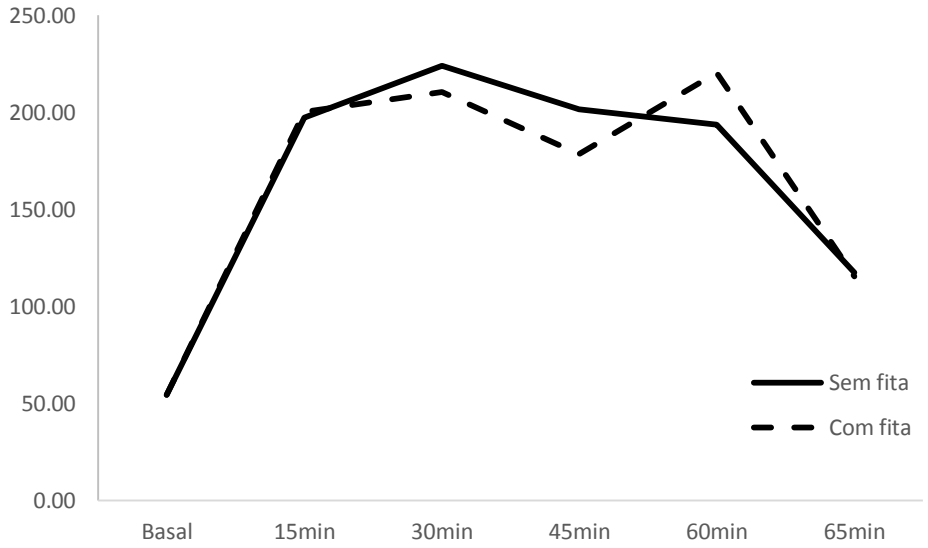
Foi testada de forma não paramétrica – teste de Wilcoxon para dados pareados – a diferença dos valores nos instantes 45 e 60 min para a variável Volume Tidal. Como o animal 4 não tinha valor no instante com fita e o animal 6 não tinha valor para o instante sem fita, apenas 4 medidas de cada instante foram consideradas no teste. Ambos os testes apresentaram valor p igual a 0,875, indicando que não há evidência de diferença entre os valores nos dois instantes.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável volume tidal entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Entretanto, houve um aumento do volume tidal no momento 15min nos dois grupos que foi significativo estatisticamente.

4.2.3 Volume Minuto

Na variável Volume minuto houve um grande aumento com o início do exercício e uma estabilização dos valores durante o exercício, com uma seguinte queda após o exercício nos dois grupos (Gráfico 17).

Gráfico 17 - Médias da variável Volume minuto em Litros/minuto (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,846) e, desta forma, foi eliminado da análise e elaborado um modelo de regressão contendo apenas a variável tempo em sua forma numérica, para podermos entender como é a evolução da variável volume minuto antes, durante e após o exercício. Este modelo nos parece útil apenas para referendar que a variável tem um padrão de ascendência no momento que o exercício se inicia. Pois, apesar do valor-p significativo, ele pouco ajuda quando queremos saber o valor esperado em algum instante.

Para a variável Volume Minuto foram removidos os dados dos instantes basal e pós exercício, construindo uma nova modelagem com Fita e Tempo. Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,878) e, desta forma, foi eliminado da análise e elaborado um modelo de regressão contendo apenas a variável tempo em sua forma numérica, para podermos entender como é a evolução da variável volume minuto antes, durante e após o exercício. Entretanto, o tempo não se mostrou estatisticamente significante para explicar os valores de volume minuto (valor p igual a 0,978), de forma que podemos dizer que o valor desta variável se mantém constante durante o exercício.

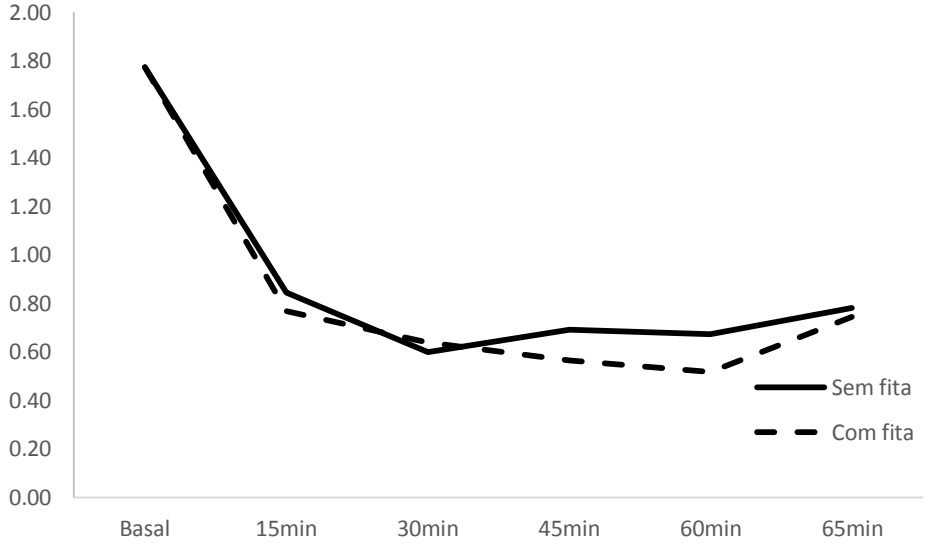
Não houve diferença estatisticamente significativa na variável volume minuto entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não

influencia nessa variável. Entretanto, houve um aumento significativo com o início do exercício e a manutenção desse valor maior durante o exercício.

4.2.4 Tempo inspiratório

O tempo inspiratório apresentou uma queda acentuada com o início do exercício, com posterior estabilização dos dados nos dois grupos. No último instante o tempo inspiratório permaneceu com valores bem abaixo dos valores basais (Gráfico 18).

Gráfico 18 - Médias da variável Tempo inspiratório em segundos (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



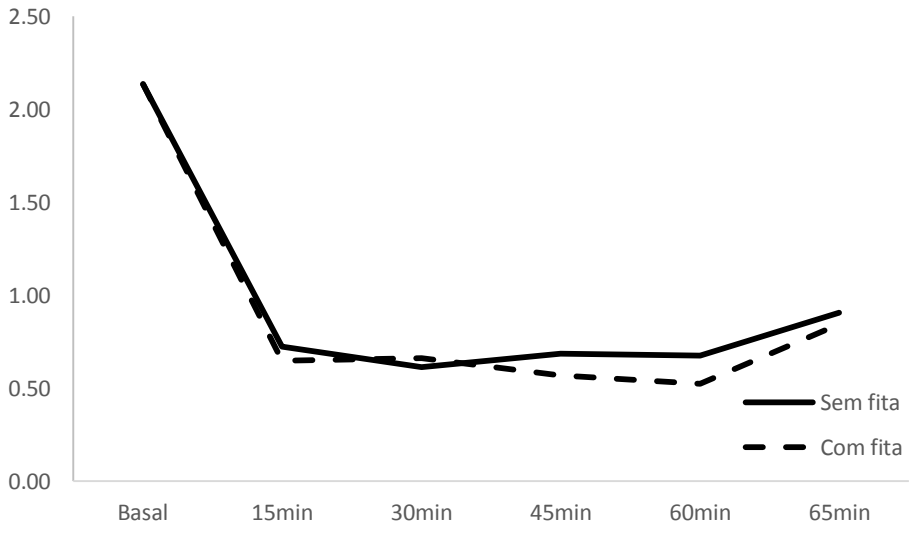
Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,316) e, desta forma, foi eliminado do modelo.

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável tempo inspiratório entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Entretanto, houve uma queda significativa do tempo inspiratório médio com o início do exercício e a manutenção desse valor mais baixo durante o exercício.

4.2.5 Tempo expiratório

O tempo expiratório apresentou uma queda acentuada com o início do exercício, com posterior estabilização dos dados nos dois grupos. No último instante o tempo expiratório permaneceu com valores bem abaixo dos valores basais (Gráfico 19).

Gráfico 19 - Médias da variável Tempo expiratório em segundos (eixo vertical) nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



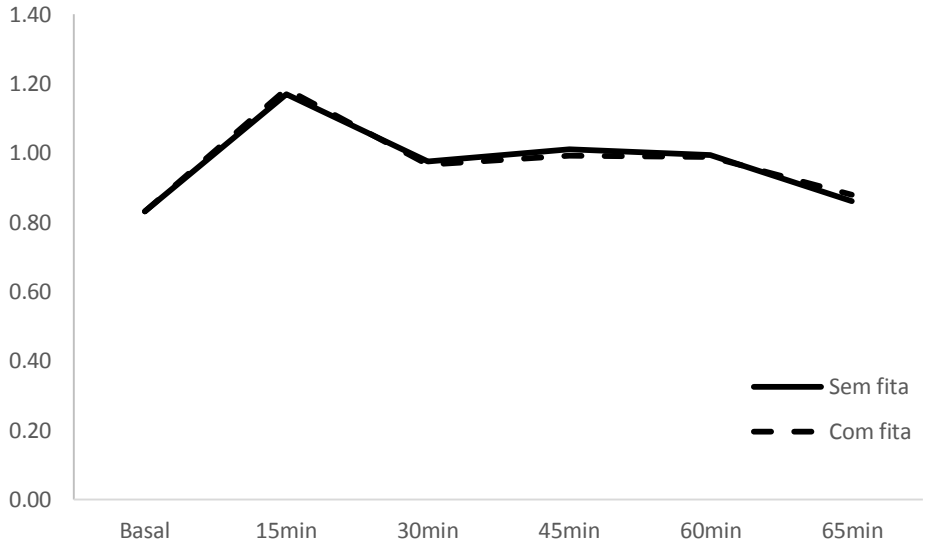
Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,443). Desta forma, outro modelo foi construído, desta vez eliminando a variável fita, mantendo a variável tempo, ainda na forma de fator. A variável tempo, como um todo, foi considerada significativa neste segundo modelo (valor-p menor que 0,001).

Não houve diferença estatisticamente significativa na variável tempo expiratório entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Entretanto, houve uma queda significativa do tempo expiratório médio com o início do exercício e a manutenção desse valor mais baixo durante o exercício.

4.2.6 Tempo inspiratório / Tempo expiratório

A relação entre o tempo inspiratório e o tempo expiratório apresenta um aumento com o início do exercício ultrapassando o valor um, ou seja, com o tempo inspiratório sendo maior que o tempo expiratório. Na sequência do exercício esse valor diminui e se estabiliza abaixo de um (Gráfico 20).

Gráfico 20 - Médias da variável Relação tempo inspiratório/tempo expiratório nos seis instantes de coleta (eixo horizontal) – São Paulo – 2015



Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,788). Desta forma, outro modelo foi construído, desta vez eliminando a variável fita e mantendo a variável tempo na forma de fator. Esta foi considerada significativa no novo modelo (valor-p menor que 0,001). Todos os instantes, com exceção do último, apresentaram valores-p estatisticamente significantes. Isso indica que a medição do instante 65 min não se afasta do valor no instante basal suficientemente para esta diferença ser considerada estatisticamente maior que zero. Não houve diferença estatisticamente significativa na relação tempo inspiratório / tempo expiratório entre os grupos Com fita e Sem fita com a metodologia aplicada, indicando que o uso da fita não influencia nessa variável. Entretanto, houve um aumento significativo desse valor com o início do exercício, a manutenção desse valor durante o exercício e o retorno aos valores pré exercício após 5 minutos de recuperação.

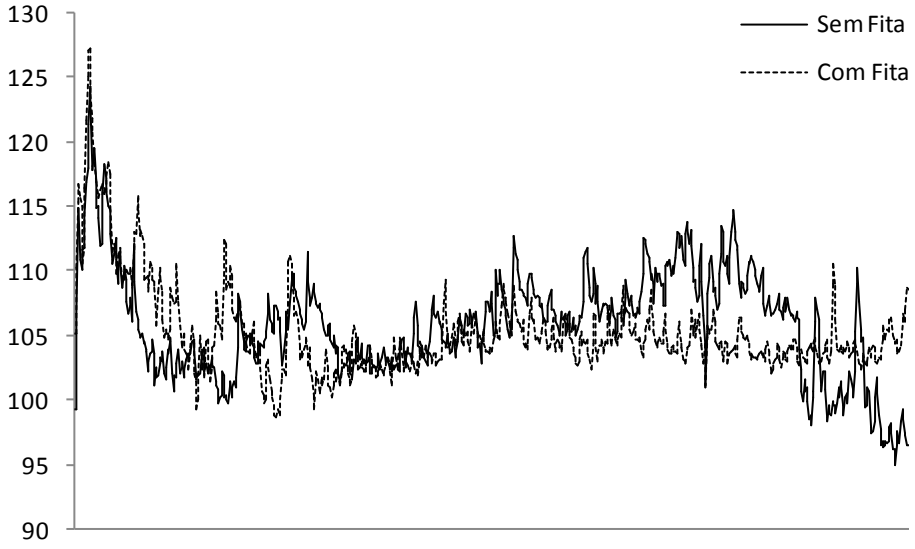
4.3 FREQUÊNCIA CARDÍACA

Para análise estatística os momentos da frequência cardíaca foram divididos em dois momentos: durante o exercício e após o exercício.

4.3.1 Durante o exercício

No gráfico da Gráfico 21 verificamos que, em média, os valores com e sem fita para os diversos instantes de medição no período de recuperação são semelhantes. Alguns períodos a média do grupo Sem fita é maior, em outros esse perfil se inverte.

Gráfico 21 -Valores médios da frequência cardíaca em batimentos por minuto (eixo vertical) no período de exercício com presença ou ausência de fita – São Paulo – 2015



Com base no Boxplot, verificamos que as medianas e distribuições nos dois períodos são muito parecidas (Gráfico 22). Foi construído um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita se mostrou estatisticamente significante (valor-p menor que 0,001). De forma que o uso de fita aparenta reduzir a frequência cardíaca, em média 0,627 unidades, quando comparamos o mesmo instante sem fita (Tabela 3).

Gráfico 22 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de exercício sem (0) e com (1) fita - São Paulo - 2015

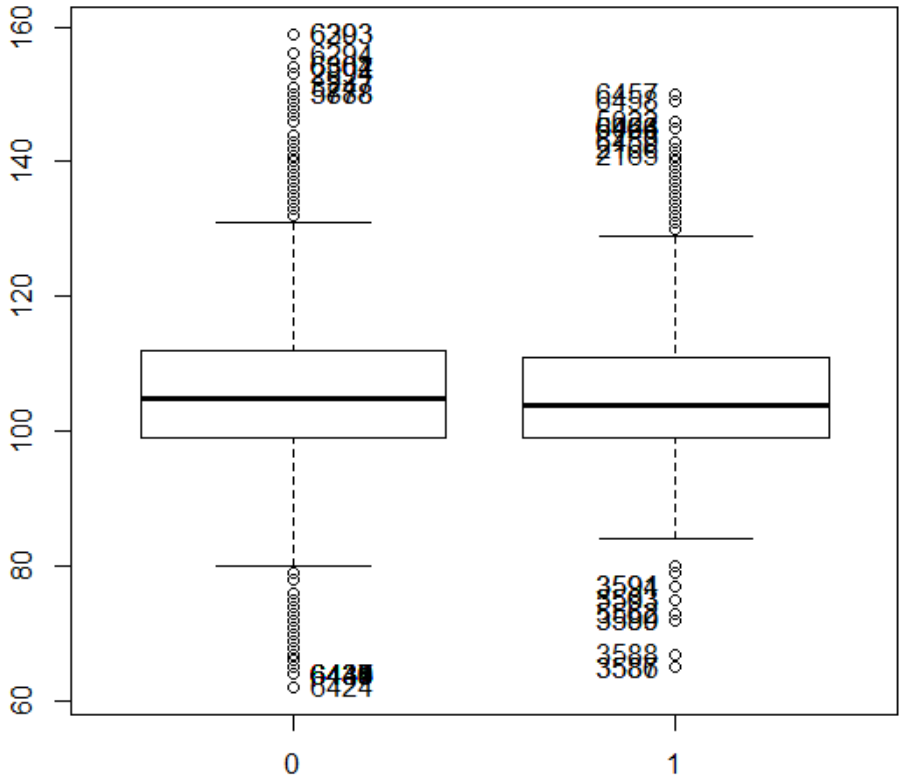


Tabela 3 - Estimativas, erros padrão e valores-p do modelo de exercício mostrando as diferenças (Valor-p <0,001) nas variáveis com fita e no decorrer do tempo (segundos) – São Paulo – 2015

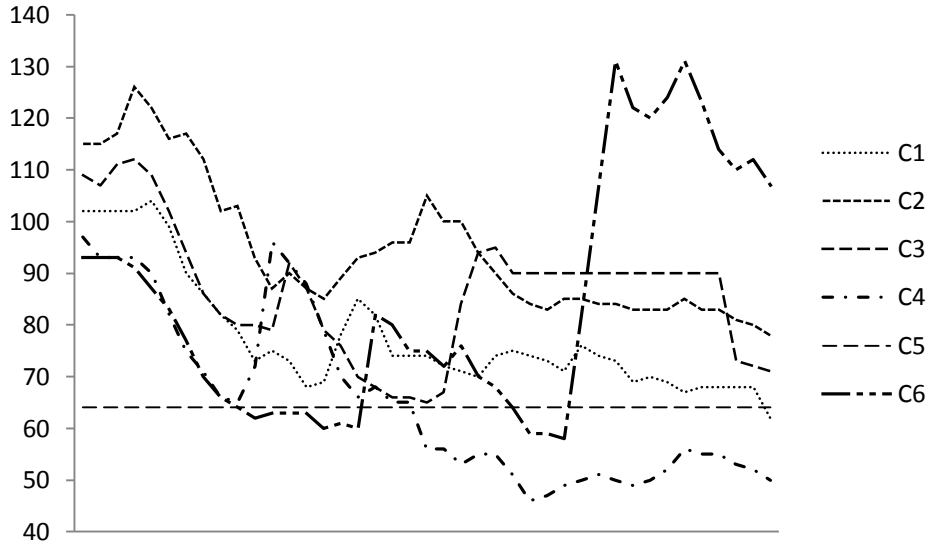
	Estimativa	Erro padrão	Valor-p
Intercepto	107,652	2,839	< 0,001
Fita (Com Fita)	-0,629	0,181	< 0,001
Segundos	-0,001	< 0,001	< 0,001

Quando os animais correram com a fita nasal a frequência cardíaca apresentou em média valores significativamente menores em relação à quando os animais correram sem a fita nasal. Devido ao grande número de observações, houve uma queda significativamente estatística de 0,001 a cada segundo na frequência cardíaca durante o exercício.

4.3.2 Após o exercício

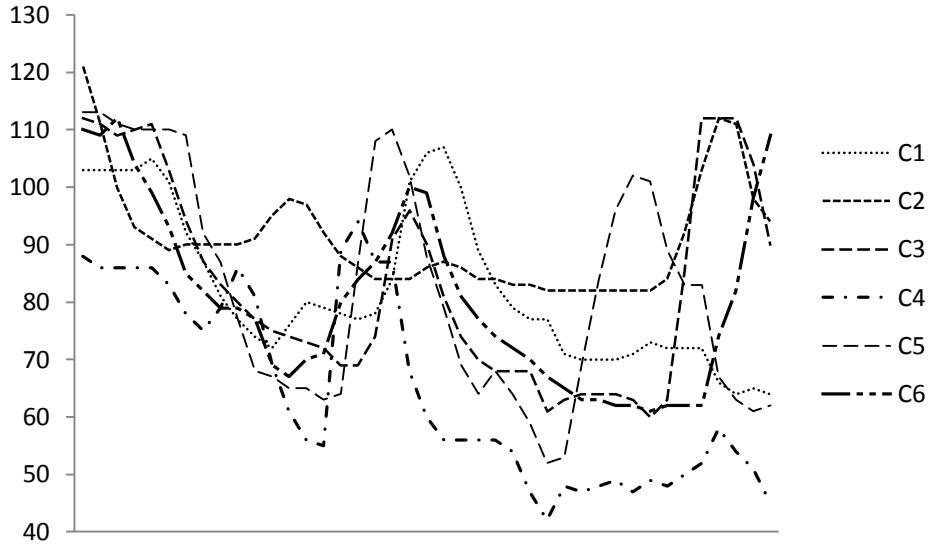
Podemos verificar na Gráfico 23 o gráfico dos valores de cada animal no decorrer do período após o exercício. Os animais apresentaram um padrão semelhante de recuperação da frequência cardíaca, com exceção do animal 6, que apresentou aumento da FC no final do período.

Gráfico 23 - Valores da frequência cardíaca no decorrer do período de recuperação após o exercício sem fita - São Paulo - 2015



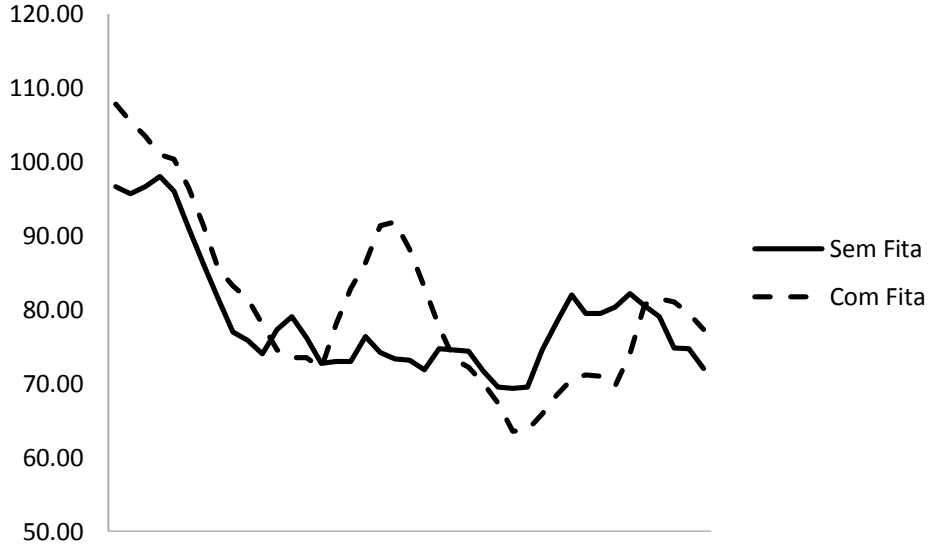
Na Gráfico 24 verificamos no gráfico que os animais apresentaram um padrão semelhante de recuperação da frequência cardíaca, sendo que metade apresentou FC final semelhante ao valor inicial nos animais que correram com a fita nasal.

Gráfico 24 - Valores da frequência cardíaca no decorrer do período de recuperação após o exercício com fita - São Paulo - 2015



A média dos grupos Com fita e Sem fita pode ser observada gráfico abaixo (Gráfico 25), onde os valores com e sem fita para os diversos instantes de medição no período de recuperação são semelhantes.

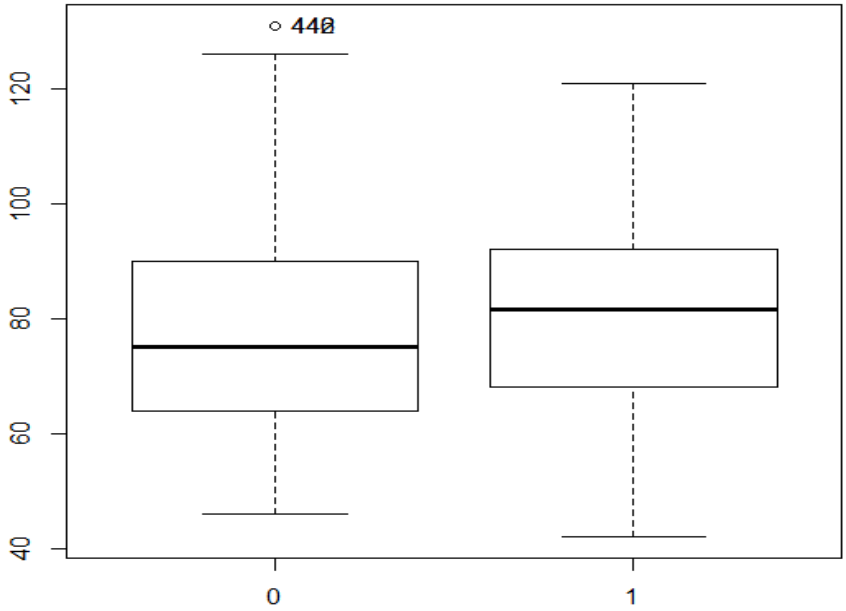
Gráfico 25 - Valores médios da frequência cardíaca no período de recuperação por presença ou ausência de fita - São Paulo - 2015



Com base no Boxplot, verificamos que as medianas e distribuições nos dois períodos são muito parecidas (Gráfico 26). Foi construído um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou

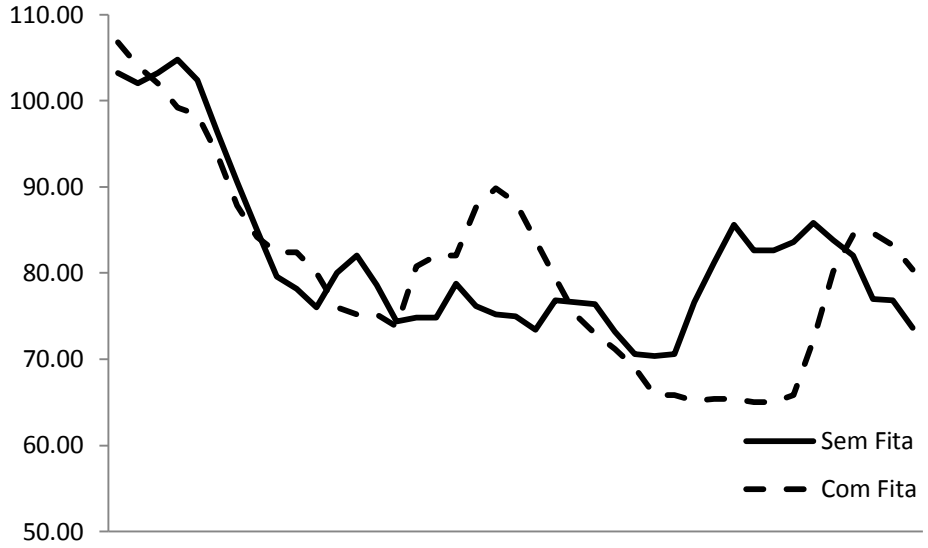
estatisticamente significante (valor-p igual a 0,144). De forma que o uso de fita não se mostrou um fator significante para alterar a frequência cardíaca no período de recuperação, com coeficiente de confiança 95%.

Gráfico 26 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de recuperação sem (0) e com (1) fita - São Paulo - 2015



Os valores do grupo Com fita quando comparados com o grupo Sem fita no mesmo instante são, em média, 1,907 unidades maiores. Porém essa diferença não é estatisticamente significante. Possivelmente, com uma amostra maior, haveria mais poder para concluir sobre esta diferença. Removendo o animal 5 e refazendo a modelagem obtemos valores semelhantes ao gráfico anterior (Gráfico 27).

Gráfico 27 - Valores médios da frequência cardíaca no período de recuperação por presença ou ausência de fita, excluído animal 5 - São Paulo - 2015

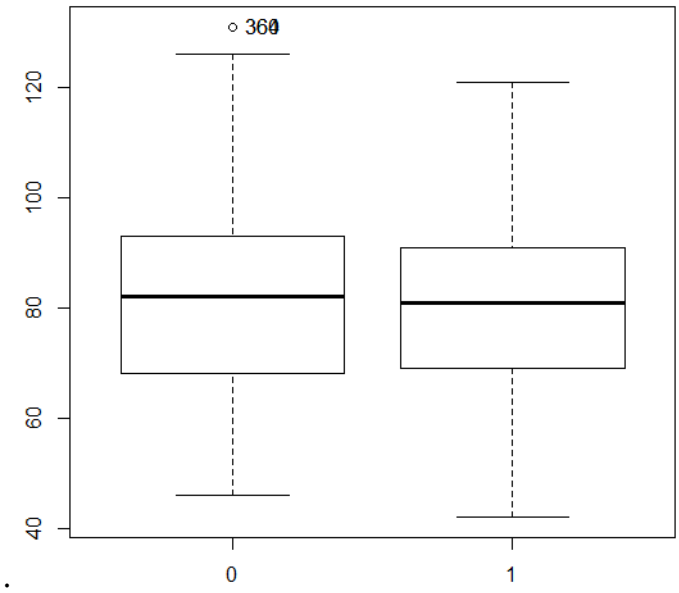


Em comparação com o boxplot anterior, verificamos que a mediana do grupo com fita se apresenta menor do que a do grupo sem fita (Gráfico 28). O oposto ocorria quando considerávamos o animal 5 nos cálculos. Foi construído um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,304). De forma que o uso de fita não se mostrou um fator estatisticamente significante para alterar a frequência cardíaca no período de recuperação, com coeficiente de confiança 95% (Tabela 4).

Tabela 4 - Estimativas, erros padrão e valores-p do modelo de recuperação sem o animal 5, mostrando as diferenças (Valor-p <0,001) nas variáveis com fita e no decorrer do tempo (segundos) – São Paulo – 2015

	Estimativa	Erro Padrão	Valor p
Intercepto	92,97	4,75	> 0,001
Fita (Com Fita)	-1,43	1,39	0,304
Segundos	-0,11	0,01	> 0,001

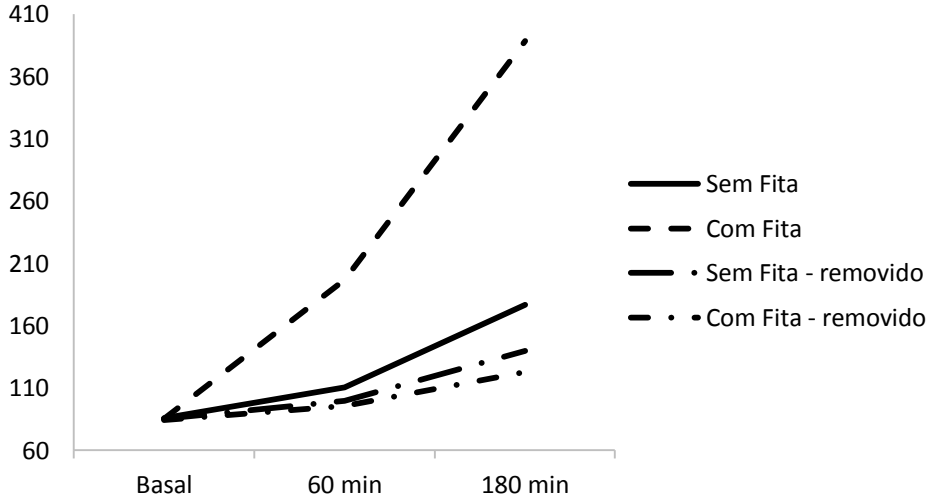
Gráfico 28 - Boxplot dos valores da frequência cardíaca no período de recuperação sem (0) e com (1) fita, excluído animal 5 - São Paulo - 2015



4.4 CREATINAFOSFOQUINASE

O animal 2 apresentou valores muito superiores dos outros animais nos dois últimos instantes (Gráfico 29). Os valores se afastavam de tal forma das outras observações que foram suficientes para aumentar a média como mostra o gráfico abaixo.

Gráfico 29 - Médias de CK com e sem fita e com e sem as observações discrepantes - São Paulo - 2015



A Tabela 5 apresenta os valores que compõe o gráfico acima, indicando os valores discrepantes encontrados nos momentos 60min e 180min no animal 2.

Tabela 5 - Médias de CK com e sem fita nos 3 momentos de coleta e com e sem as observações discrepantes – São Paulo – 2015

Todos os dados			
	Basal	60 min	180 min
Com Fita	85,4	196,6	388,3
Sem Fita	85,7	110,5	176,8
Outlier removido			
	Basal	60 min	180 min
Com Fita	84,1	95,3	122,8
Sem Fita	85,3	99,8	139,6

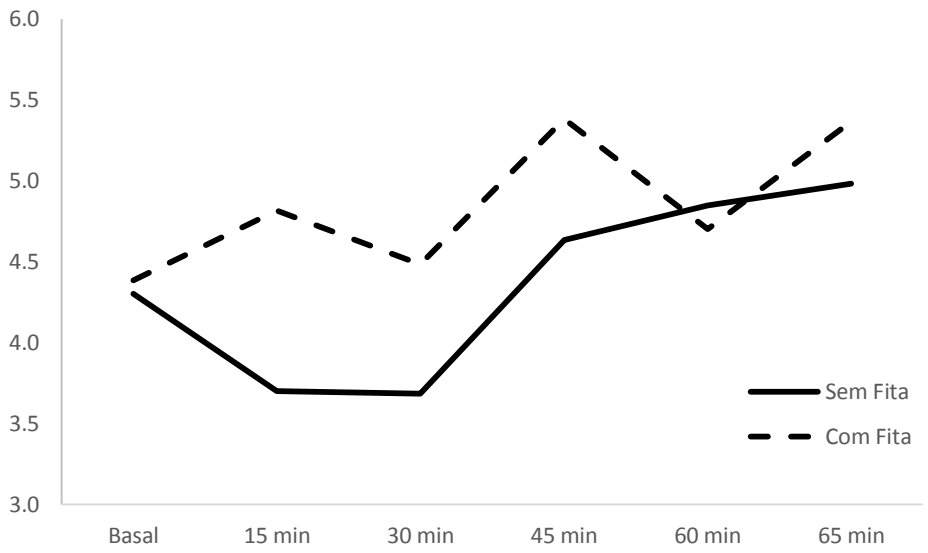
Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita não se mostrou estatisticamente significante (valor-p igual a 0,177). Desta forma, outro modelo foi construído, desta vez eliminando a variável fita, ainda na forma de fator. A variável tempo, como um todo, foi considerada significativa neste segundo modelo (valor-p menor que 0,001).

Podemos concluir que o valor médio da variável CK no instante 60 min não apresenta diferença estatisticamente significante com relação à média do instante basal, enquanto que há diferença estatisticamente significante entre a média do instante 180 min e basal. Entretanto, se tivéssemos mais observações, pode ser que a média do instante 60 min se mostrasse diferente da basal, visto que o valor-p estava próximo de 0,005.

4.5 LACTATO

Os valores de lactato oscilaram pouco durante a execução do teste. Não houve tendência de crescimento ou diminuição nos valores com a progressão do exercício (Gráfico 30).

Gráfico 30 - Médias da variável Lactato nos 6 momentos de análise nos grupos Com fita e Sem fita - São Paulo - 2015



Quando ajustado um modelo levando em consideração o tempo, o uso ou ausência de fita e a estrutura de medidas repetidas, o uso da fita e o tempo não se mostraram estatisticamente significantes (valor-p igual a 0,194 e 0,480, respectivamente). Foi construído outro modelo, desta vez sem a variável fita, apenas com o tempo, e este também não se mostrou eficiente em descrever os resultados de Lactato (valor-p igual a 0,487).

Um último modelo, considerando apenas o tempo como variável numérica foi construído e este também não apresentou ajuste satisfatório (valor-p igual a 0,097). Como não houve ajuste de nenhum modelo, a melhor estimativa para o valor esperado de lactato em qualquer instante, com ou sem fita, é a média das observações (4,61, dp igual a 2,52). Os valores de lactato não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em nenhum dos momentos ou grupos pesquisados.

5 DISCUSSÃO

A aplicação e manutenção da fita nasal na posição correta se mostrou efetiva. Havia o questionamento anterior ao experimento se a fita se manteria na posição adequada, dada a grande taxa de sudorese que esses animais apresentam durante o exercício de baixa intensidade e longa duração. Não é incomum observarmos também em animais PSI de corrida a queda ou deslocamento da fita nasal durante provas de 1000 metros a 3600 metros. O preparo da pele e a colagem da fita como descrita por Poole et al. (2000) foi eficaz para proporcionar a sustentação na região, levando a crer que na prática alguns procedimentos simples, como limpeza da pele com sabão e aplicação 30 minutos antes da prova, podem melhorar a utilização da técnica.

Foi possível verificar uma menor movimentação da região de pele rostral à incisura nasoincisiva, mostrando que a fita proporciona uma maior estabilização dessa região. Para exercícios de alta intensidade, essa estabilização pode ser benéfica para contribuir com o aumento do volume tidal, parâmetro este que é o responsável pelo aumento do volume minuto nesse tipo de atividade. Além disso, no exercício intenso existe a possibilidade de colapso da parede lateral das narinas, o que pode ser prevenido com o uso da fita nasal. Porém, a movimentação dessa região nos exercícios de baixa intensidade parece não trazer tanto prejuízo ao desempenho do animal quanto em alta intensidade. Pelo contrário, a estabilização dessa região parece tender a diminuir o volume tidal durante o exercício de baixa intensidade no decorrer da atividade, como verificamos nos momentos 45 e 60min, apesar de não encontrarmos significância estatística. Ainda assim, os animais não alteraram sua expressão de cansaço ao fim do teste de esforço com ou sem o uso da fita nasal.

A análise estatística aplicada aos dados obtidos por meio do lavado broncoalveolar visava comparar se havia diferença entre os valores nos 3 comparativos medidos, isto é: Basal vs. Sem Fita, Basal vs. Com Fita, Sem Fita vs. Com Fita. Entretanto, se construíssemos três intervalos de confiança de 95%, um para cada diferença, teríamos um coeficiente de confiança global muito menor do que os 95% inicialmente estipulados (0,95 x 0,95 x 0,95 = 0,86). Desta forma, empregamos a metodologia de Tukey que constrói os intervalos de confiança para testar se essas diferenças são significativas fixando o coeficiente de confiança em 95%, pois mesmo quando testamos várias diferenças, ele mantém o coeficiente de confiança global de 5%.

A escolha da velocidade do teste foi com a intenção de submeter os animais a atividades predominantemente aeróbicas. Como nosso experimento envolvia o uso de animais

destreinados, optou-se por buscar na literatura uma velocidade que proporcionasse o teste com predominância aeróbica sem causar danos aos equinos. Oliveira (2011) utilizou animais da raça Árabe, destreinados, machos ou fêmeas e com peso semelhantes aos nossos animais, submetendo-os ao mesmo teste de baixa intensidade e longa duração que utilizamos. A velocidade média de 3,2m/s foi obtida por meio de teste progressivo de esforço máximo e determinação do V150, que é considerado predominantemente aeróbico (JUZADO et al., 2005). Esse metabolismo predominante foi alcançado sem lesão muscular, podendo ser confirmado com os valores máximos atingidos pelos níveis plasmáticos de lactato e séricos de CK. Os valores de séricos de lactato não superaram os 2mmol/L, valor que tem sido adotado para equinos como o limite para a determinação do trabalho predominantemente aeróbico (LINDNER, 2010).

No exercício com predominância de metabolismo aeróbico não ocorre a indução da hemorragia pulmonar induzida pelo esforço, visto que os trabalhos que provocam graus de hemorragia utilizam exercícios intensos de 120% do VO2max em esteira (GEOR et al., 2001) ou são realizados após provas de corridas em hipódromos (MORLEY et al., 2015). Nas nossas amostras do lavado broncoalveolar não foram encontradas hemácias e hemossiderófagos. A ausência dessas células em lavados realizados 120 minutos após o término do exercício é condizente com o tipo de exercício executado no teste.

O procedimento para realização do lavado broncoalveolar se mostrou eficiente. A contenção química com Xilazina na dose de 0,5mg/kg, contenção física com cachimbo e a dessensibilização da traqueia com 20 ml de Lidocaína 0,5% permitiram a coleta da amostra mantendo o animal quieto e sem tosse em excesso. As coletas com 7 dias de intervalo propiciaram uma avaliação sem influência da coleta anterior, com coletas produtivas e com número abundante de células nas lâminas, assim como Clark et al. (1995) que verificou as mesmas proporções de leucócitos em coletas seriadas por dez semanas. A coloração de Rosenfeld mostrou-se suficiente para coloração e identificação de todas as células presentes na amostra corroborando com os dados apresentados por Fernandes, Mori e Sanches (2000), que utilizou esse método para amostras de lavado broncoalveolar e transtraqueal.

Os valores médios de neutrófilos no lavado foram de 25,74%, valor acima de algumas médias relatadas para animais sadios na literatura. Entretanto, os hemogramas dos animais pesquisados se apresentaram dentro dos parâmetros de normalidade e os equinos não apresentaram nenhuma sintomatologia de doença respiratória durante o período do experimento. Acreditamos que alguns fatores influenciaram nesses valores, como o volume infundido, o exercício e o momento em que foi realizada a coleta. O volume de solução

fisiológica 0,9% infundida pelo cateter (40ml) contribui para maiores valores de neutrófilos. Sweeney et al. (1992) verificou que com volumes infundidos em torno de 50 ml esperasse encontrar maiores valores de neutrófilos, pois não há um preenchimento completo dos alvéolos. Como a presença de neutrófilos é maior na região dos brônquios, a área que entra em contato com o fluido apresenta maior proporção de neutrófilos (VALDEZ et al., 2004). Entretanto, esse procedimento não foi considerado um lavado bronquial pois o cateter foi introduzido no brônquio até que fosse encontrada resistência. Mair, Stokes e Bourne (1987) também observaram maiores valores de neutrófilos em lavados bronquiais comparado a outras técnicas para obtenção de secreções pulmonares. O volume infundido em nosso experimento foi capaz de demonstrar a população de células na porção broncoalveolar, visto que a qualidade das amostras do lavado broncoalveolar foi atingida pela presença de surfactante nas amostras e boa celularidade em todas as lâminas (HUGHES et al., 2003).

Outro fator que contribuiu para o valor médio dos neutrófilos mais alto foi a coleta após o exercício. O lavado broncoalveolar em nosso estudo foi realizado duas horas após o término do exercício, assim como Clark et al. (1995) que observaram maiores porcentagens de neutrófilos em coletas 45 minutos após o exercício em animais treinados. Isso se deve à maior ventilação pulmonar durante o exercício que pode levar partículas maiores as porções mais distais do sistema respiratório, ativando a resposta imune inicialmente realizada pelos neutrófilos. Porém, alguns autores relacionam o exercício de alta intensidade com um aumento na proporção de neutrófilos (MCKANE; CANFIELD; ROSE, 1993), e não o exercício de baixa intensidade como realizado em nosso estudo. A duração de 60 minutos da atividade deve ter contribuído para esse resultado.

O lavado broncoalveolar em nosso experimento foi possivelmente realizado do lado direito do pulmão, visto que geralmente o cateter segue para a porção caudodorsal do pulmão direito pela posição anatômica dessa estrutura (HODGSON; HODGSON, 2007). Depecker et al. (2014) verificaram que há maior percentual de neutrófilos do lado direito, devido a mesma característica anatômica que permite com que o cateter progrida para o lado direito, fazendo com que esse lado do pulmão seja mais exposto à alérgenos e microorganismos. Os valores de neutrófilos encontrados em nosso estudo pode estar relacionado a esses fatores, apesar de alguns autores afirmarem que o lado coletado não influencia os valores de leucócitos obtidos no lavado broncoalveolar (MCGORUM et al., 1993; MEYER et al., 1998). A maior porcentagem de neutrófilos também pode estar relacionada ao fato de que nossos animais não foram submetidos ao estresse causado pelo treinamento físico e transporte anterior a execução do teste de esforço. Foi sugerido que o treinamento físico contínuo pode diminuir os níveis de leucócitos no lavado

broncoalveolar devido ao aumento do cortisol plasmático induzido pelo estresse físico, o que inibiria a migração leucocitária nas vias aéreas (CLARK et al., 1995). A supressão da resposta neutrofílica e diminuição da contagem total de leucócitos também foi relatado após o estresse causado pelo transporte (TRAUB-DARGATZ et al., 1988).

O uso da fita nasal influenciou a porcentagem de neutrófilos na amostra do lavado. Quando os animais correram sem a fita nasal apresentaram média de 20,33%, enquanto que quando correram com a fita nasal a média foi de 36,28%, significativamente diferente (valor-p < 0,05). Essa diferença não foi encontrada por nenhum autor na literatura possivelmente porque os lavados broncoalveolares são realizados em média 30 minutos após o exercício com a fita com o objetivo de identificar hemácias para o diagnóstico de hemorragia pulmonar induzida pelo esforço (GEOR et al., 2001; KINDIG et al., 2001). Valdez et al. (2004) também não encontraram diferença nos valores de neutrófilos no lavado em cavalos PSI após 12 a 18 horas após a corrida. Nosso resultado pode ser explicado pela possível diminuição da resistência na passagem do ar pela cavidade nasal devido a ação da fita nasal, por meio da estabilização da região de tecidos moles rostral à incisura nasoincisiva durante o exercício. A diminuição da resistência nessa região, que é responsável por 60 a 80% da resistência no sistema respiratório (LEKEUX; ART, 1994; CUNNINGHAM; KLEIN, 2008), faz com que turbilhonamento do ar durante a passagem pela cavidade nasal também diminua, podendo fazer com que partículas maiores alcancem porções mais distais do sistema respiratório, mesmo sem o aumento do volume tidal durante a respiração. A presença dessas partículas nas porções distais ativaria a atividade neutrofílica nos bronquíolos. O valor maior de neutrófilos nos animais após correrem com a fita nasal é um indício de que mesmo sem alterações nos parâmetros respiratórios de volume respiratório, o uso da fita nasal influencia a resposta imunológica pulmonar do equino.

Couëtil e Denicola (1999) encontraram maiores porcentagens de linfócitos em lavado broncoalveolar realizado 24 horas após o exercício físico de alta intensidade. Os autores concluíram que esses valores seriam secundários à maior mobilização de células do tecido pulmonar ou um influxo de células inflamatórias dentro dos pulmões. Entretanto, Valdez et al. (2004) encontrou diferenças significativas nos números relativos e absolutos de linfócitos, mas com maiores índices nos animais que se exercitaram sem a fita nasal. Esses dados diferem dos encontrados em nosso estudo provavelmente porque o tempo entre o fim do exercício e a realização do lavado foi diferente entre os estudos. Nossa coleta de secreção pulmonar foi realizada 2 horas após o termino do exercício, e por isso não encontramos valores mais altos de linfócitos, e sim de neutrófilos. Creditamos a porcentagem mais baixa de linfócitos à maior proporção de neutrófilos e células epiteliais encontradas em nosso experimento. Não foi

possível a coleta seriada com 2 horas, 12 horas e 24 horas para determinar se há uma resposta imune que progride com o tempo, pois é necessário um intervalo de 7 dias para a reconstituição celular da secreção pulmonar (CLARK et al., 1995; FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000). Couëtil e Denicola (1999) realizaram dois lavados em 3 dias nos mesmos animais, guiando a obtenção de material via endoscopia de um lado do pulmão na primeira coleta e do lado contralateral na segunda coleta como sugerido na literatura (SWEENEY et al., 1994), apesar de outros autores afirmarem haver diferença entre as coletas nos dois lados do pulmão (DEPECKER et al., 2014). Como nossa coleta foi realizada sempre com o cateter de silicone, acredita-se que a obtenção da amostra foi sempre do lado direito do pulmão.

A presença de maior porcentagem de neutrófilos tem importante papel na defesa antimicrobiana e sua ativação excessiva pode implicar em doenças inflamatórias. No entanto, a presença de neutrófilos não indica necessariamente que haverá lesões teciduais, como em casos de grande acúmulo de neutrófilos em humanos com pneumonia lobar por streptococcus, sem a ocorrência de grandes danos estruturais (BRAZIL et al., 2005). A contagem de células epiteliais pode ser um indicativo de leões teciduais e em nosso experimento foi próxima de zero em 14 das 18 amostras de lavado broncoalveolar. Entretanto, em quatro amostras de animais diferentes (três no momento Sem fita e um no Basal) os valores de células epiteliais superaram os 10%. Espera-se no lavado broncoalveolar a ausência ou presença muito baixa dessas células, indicando que essas amostras são provenientes da população celular alveolar e que o procedimento de colheita não proporcionou trauma das vias aéreas anteriores (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000). O valor desses quatro animais pode ter sido influenciado pelo volume da coleta, que assim como nos índices de neutrófilos, apresenta maior presença em brônquios. Mair, Stokes e Bourne (1987) observaram valores de células epiteliais de 32,5% em lavados bronquiais e 14,3% em lavados broncoalveolares, atribuindo esses dados à contaminação da amostra pela passagem do cateter através do sistema respiratório anterior, região que apresenta grande quantidade de células epitelias decorrente da renovação constante do epitélio. Couroucé-Malblanc et al. (2002) também identificou um aumento de células epiteliais em animais com baixo rendimento em provas. Porém, esses autores atribuíram esses resultados a possíveis infecções virais associadas que levariam à erosão epitelial, apesar de não apresentarem outros sinais de doença. Como não encontramos outras manifestações de infecções virais, acreditamos na hipótese de que nossa amostra tenha sofrido influência do volume utilizado para a coleta e da passagem do cateter pelas vias aéreas anteriores.

O número de macrófagos não sofreu influência do uso da fita nasal assim como relatado na literatura (VALDEZ et al., 2004), que realizaram os lavados de 12 a 18 horas após a atividade

física. Os macrófagos apresentam maior atividade em um segundo momento decorrente do estímulo no tecido pulmonar. Entretanto, proporções aumentadas dessas células são difíceis de ser detectadas visto que os macrófagos são células residentes no ambiente pulmonar (HODGSON; HODGSON, 2007). Portanto, era esperado que em um lavado broncoalveolar realizado duas horas após o término do exercício não houvesse nenhuma alteração entre os grupos. O número de macrófagos espumosos foi muito baixo e não permitiu análise estatística, o que também era esperado para os animais hígidos utilizados no experimento.

Outras células apresentaram contagens próximas de zero no lavado broncoalveolar como esperado em animais sadios. O número de eosinófilos nos três grupos foi compatível com valores ciados na literatura (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000; HUGHES et al., 2003). Como era esperado, esse parâmetro não sofreu influência do exercício e do uso da fita nasal. Hughes et al. (2003) verificaram que o método de coleta (aspirado traqueal ou lavado broncoalveolar) também não influencia na presença dessas células, e que a mobilização dessas células para o pulmão do equino está mais relacionada com processos alérgicos e pneumonias provocadas por parasitas. Houve diferença estatisticamente significativa entre os lavados realizados antes do exercício (Basal) e após o exercício (Com fita e Sem fita) referente à variável Multinucleadas, sendo que o número de células antes do exercício foi maior. As células multinucleadas são comumente encontradas em baixo número tanto em lavados traqueais quanto em lavados broncoalveolares de equinos sem evidência de doença inflamatória, sendo encontradas em maior número em inflamações pulmonares crônicas (HODGSON; HODGSON, 2007). Entretanto, essas células podem ser encontradas em equinos sem evidência de doença inflamatória pulmonar significante (BEECH, 1991).

A espirometria coletada por meio da máscara e pneumotacômetros se mostrou eficiente com o animal em repouso, mesmo com a frequência respiratória elevada. A conexão entre o pneumotacômetro e a máscara impedem que as coletas sejam feitas com o animal em exercício, pois a movimentação da cabeça do animal desconectaria esses dispositivos. Porém, a pausa no exercício para a coleta em exercícios de longa duração não prejudicou a avaliação, visto que os parâmetros anteriores à pausa eram rapidamente atingidos pelo animal no estágio seguinte. O uso da máscara dessa tecnologia (Quadflow) foi validado anteriormente (CURTIS et al., 2005) e se mostrou um método não invasivo e eficiente para gerar valores de fluxo e volume respiratório.

O método de seleção das curvas geradas pela espirometria permitiu a análise quantitativa e qualitativa dos dados. O período de coleta com a máscara de 30 segundos foi o suficiente para gerar ondas o suficiente para preenchermos os critérios de seleção dos ciclos

respiratórios. Outros autores selecionaram também de maneira efetiva um número pré estabelecido de 10 ciclos consecutivos, porém trabalharam com a escolha de apenas uma das ondas para análise, com o critério de uma diferença menor que 5% entre o volume inspiratório e expiratório (LUMSDEN et al., 1993). A escolha de três ondas consecutivas e a utilização da média dessas ondas permitiu a comparação dos momentos representando todos os momentos, corroborando com a padronização da seleção dessas ondas como sugerida anteriormente (KUSANO et al., 2007).

O fluxo respiratório nos exercícios de longa duração apresenta uma variação muito grande, permitindo que avaliássemos com dados mais fidedignos a morfologia das ondas durante o exercício de baixa intensidade. O padrão das ondas em geral foi bifásico na inspiração e na expiração em repouso como relatado na literatura (GUTHRIE et al., 1995) e durante o exercício não houve diferença entre o padrão de quando os animais que correram com ou sem a fita. O padrão durante o exercício foi bifásico na inspiração e monofásico na expiração, e a relação entre o tempo de inspiração/expiração foi menor durante o exercício, mostrando que o tempo de expiração foi diminuiu e o fluxo monofásico aumentou, além do pico de fluxo inspiratório ser registrado na primeira fase (passiva). Esses eventos mostram uma grande participação da musculatura abdominal durante os ciclos respiratórios durante o exercício de baixa intensidade, pois essa é fundamental na fase ativa da expiração e, consequentemente, na fase passiva da inspiração.

Não foi observada diferença entre os valores de volume minuto, frequência respiratória e volume tidal entre os animais quando correram com fita ou sem fita. Entretanto, notou-se um aumento progressivo da frequência respiratória no decorrer do exercício nos dois grupos. A frequência respiratória pode aumentar no exercício e durante a termorregulação (CUNNINGHAM; KLEIN, 2008), sendo que em nosso experimento os dois fatores parecem ter contribuído para o aumento da frequência respiratória. O aumento da frequência respiratório também influenciou o tempo inspiratório e expiratório. Com esse aumento com o início do exercício, houve uma diminuição dos tempos inspiratório e expiratório, levando a relação entre os tempos maior que um no momento 15 min nos dois grupos. Após o momento 30min essa relação se estabilizou abaixo de um, o que mostra que o tempo expiratório era um pouco maior que o inspiratório. Esse aumento com 15 min pode ocorrer devido a uma fase de excitação dos animais pelo início do exercício na tentativa exacerbada de suprir a demanda respiratória. Com o decorrer do exercício, esses valores se estabilizam oferecendo uma ventilação compatível com a demanda (MCARDLE; KATCH; KATCH, 1998).

No exercício realizado em nosso teste, predominantemente aeróbico, o aumento da demanda de oxigênio é suprido pelo aumento do volume minuto, que foi atendido pelo aumento progressivo da frequência respiratória. Provavelmente o efeito da fita nasal tenha sido minimizado nesse tipo de exercício por esse motivo, visto que era esperado que com a possível diminuição da resistência na passagem do ar pela cavidade nasal haveria um aumento do volume tidal. Já em exercícios de alta intensidade, onde a frequência respiratória é sincronizada com o ritmo do galope, o aumento do volume minuto se dá pelo aumento do volume tidal. Todavia, Holcombe et al. (2002) verificaram que o uso da fita nasal em exercícios a 100 e 120% da frequência cardíaca máxima não alterou parâmetros como frequência respiratória, volume tidal, volume minuto, fluxo inspiratório e expiratório, apesar de mostrar via endoscópio que há uma maior abertura do meato dorsal com a aplicação da fita. Como esses parâmetros sofrem influência de diversos fatores, ainda não foi possível criar uma metodologia eficiente para se assegurar que o uso da fita nasal influencia ou não os valores ventilatórios em equinos, visto que os métodos utilizados até então não foram capazes de apontar diferenças, como visto também por Goetz et al. (2001) em análises de amostras sanguíneas.

Um dado que traria muito valor a esse experimento seria a pressão inspiratória e a pressão expiratória dos animais durante o experimento. Holcombe et al. (2002) relataram uma diminuição na pressão inspiratória nos animais com o uso da fita, sugerindo uma diminuição do esforço de trabalho dos músculos respiratórios e redução da energia requerida para a respiração. Não foi possível a mensuração da pressão esofágica concomitante a utilização da máscara no nosso protocolo de teste, porque a presença do cateter esofágico altera o fluxo na narina em que é posicionado (ART et al., 1990) o que interferiria nos outros resultados obtidos no teste. Em nosso estudo, o que sugere um menor esforço de trabalho dos músculos respiratórios foi a diminuição dos valores de frequência cardíaca do grupo com a fita nasal, indicando um menor esforço do sistema cardiovascular para atingir a demanda energética. Outra explicação para os menores valores de frequência cardíaca nos animais com fita nasal, seria que a oferta de oxigênio poderia ter sido maior para esse grupo, sendo necessário menos esforço cardíaco para atender a demanda energética, apesar de não termos sido aptos a detectar alterações na oferta ventilatória. O resultado da frequência cardíaca teve significância estatística na média durante o exercício, apesar da grande oscilação desse parâmetro durante o teste. Garotti e Angeli (2009) não encontraram diferença nos valores de frequência cardíaca durante o exercício em animais com a fita nasal, porém o fato de os testes serem realizados à campo com um maior número de interferências externas pode ter influenciado no resultado.

6 CONCLUSÕES

O uso da fita nasal influencia alguns fatores no exercício de longa duração em equinos da raça Árabe. A população de células no lavado broncoalveolar sofreu influência do uso da fita, pois houve aumento na proporção de neutrófilos no pós exercício nos animais que correram com a fita, mostrando um menor turbilhonamento do ar na cavidade nasal durante o exercício. Entretanto, essa intervenção não foi o suficiente para causar alterações significativamente estatísticas nos parâmetros ventilatórios durante o exercício de longa duração.

O uso da fita nasal parece ter exercido influência sobre a frequência cardíaca, diminuindo seus valores em média quando os animais correram usando a fita nasal. Isso pode indicar uma melhor oferta de oxigênio durante o exercício de longa duração com o uso da fita nasal.

REFERÊNCIAS

AMIS, T. C.; KIRKNESS, J. P.; DI SOMMA, E.; WHEATLEY, J. R. Nasal vestibule wall elasticity: interactions with a nasal dilator strip. **Journal of Applied Physiology**, v. 86, n. 5, p. 1638–1643, 1999.

ART, T.; ANDERSON, L.; WOAKES, A. J.; ROBERTS, C.; BUTLER, P. J.; SNOW, D. H.; LEKEUX, P. Mechanics of breathing during strenuous exercise in Thoroughbred horses. **Respiration Physiology**, v. 82, n. 3, p. 279–294, 1990.

BEECH, J. Tracheobronchial aspirates. In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 41–53.

BOGGS, G. W.; WARD, J. R.; STAVRIANEAS, S. The external nasal dilator: style over function? **Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association**, v. 22, n. 1, p. 269–75, jan. 2008. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18296986>. Acesso em: 16 ago. 2015.

BRAZIL, T. J.; DAGLEISH, M. P.; MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; HASLETT, C.; CHILVERS, E. R. Kinetics of pulmonary neutrophil recruitment and clearance in a natural and spontaneously resolving model of airway inflammation. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 35, n. 7, p. 854–865, 2005.

CLARK, C. K.; LESTER, G. D.; VETRO, T.; RICE, B. Bronchoalveolar lavage in horses: effect of exercise and repeated sampling on cytology. **Australian Veterinary Journal**, v. 72, n. 7, p. 249–52, jul. 1995. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8534227>. Acesso em: 11 jul. 2015.

COUËTIL, L. L.; DENICOLA, D. B. Blood gas, plasma lactate and bronchoalveolar lavage cytology analyses in racehorses with respiratory disease. **Equine Veterinary Journal. Supplement**, v. 30, p. 77–82, 1999.

COUROUCÉ-MALBLANC, A.; PRONOST, S.; FORTIER, G.; CORDE, R.; ROSSIGNOL, F. Physiological measurements and upper and lower respiratory tract evaluation in French Standardbred Trotters during a standardised exercise test on the treadmill. **Equine veterinary journal. Supplement**, n. 34, p. 402–407, 2002.

CUNNINGHAM, J.; KLEIN, B. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2008.

CURTIS, R. A.; KUSANO, K.; EVANS, D. L.; LOVELL, N. H.; HODGSON, D. R. Reliability of cardiorespiratory measurements with a new ergospirometer during intense treadmill exercise in Thoroughbred horses. **Veterinary Journal**, v. 169, n. 2, p. 223–231, 2005.

DEPECKER, M.; RICHARD, E. A.; PITEL, P. H.; FORTIER, G.; LELEU, C.; COUROUCÉ-MALBLANC, A. Bronchoalveolar lavage fluid in Standardbred racehorses:

Influence of unilateral/bilateral profiles and cut-off values on lower airway disease diagnosis. **Veterinary Journal**, v. 199, n. 1, p. 150–156, 2014.

DERKSEN, F. J. Applied respiratory phisiology. In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 1–25.

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. 21, n. 1, p. 23–6, jan. 1989. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2920696>. Acesso em: 21 jul. 2015.

DINARDI, R. R.; ANDRADE, C. R. de; IBIAPINA, C. C. External nasal dilators: definition, background, and current uses. **International Journal of General Medicine**, v. 7, p. 491, nov. 2014.

DINARDI, R. R.; DE ANDRADE, C. R.; IBIAPINA, C. C. Evaluation of the effectiveness of the external nasal dilator strip in adolescent athletes: a randomized trial. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 77, n. 9, p. 1500–5, set. 2013. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23876359>. Acesso em: 16 ago. 2015.

ERICKSON, H. H.; EPP, T. S.; POOLE, D. C. Review os alternative therapies for EIPH. In: Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, Orlando. **Anais**... Orlando: 2007.

EVANS, D. L. Physiology of equine performance and associated tests of function. **Equine Veterinary Journal**, v. 39, n. 4, p. 373–383, 2007.

EVANS, D. L.; KIDDELL, L.; SMITH, C. L. Pulmonary function measurements immediately after exercise are correlated with neutrophil percentage in tracheal aspirates in horses with poor racing performance. **Research in Veterinary Science**, v. 90, n. 3, p. 510–515, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.07.003>.

FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente sadios pelo método de coloração de Rosenfeld. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 604–609, dez. 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352000000600009&lng=en&nrm=iso&tlng=pt>. Acesso em: 12 jul. 2015.

FOGARTY, U. Evaluation of a bronchoalveolar lavage technique. **Equine Veterinary Journal**, v. 22, n. 3, p. 174–6, maio 1990. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2361503>. Acesso em: 12 jul. 2015.

FRANKLIN, S. H.; VAN ERCK-WESTERGREN, E.; BAYLY, W. M. Respiratory responses to exercise in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 44, n. 6, p. 726–732, 2012.

GAROTTI, J. R.; ANGELI, A. L. Do nasal dilators improve endurance performance in horses submitted to a 20 km run ? **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1115–1121, 2009.

GEHRING, J. M.; GARLICK, S. R.; WHEATLEY, J. R.; AMIS, T. C. Nasal resistance and flow resistive work of nasal breathing during exercise: effects of a nasal dilator strip. **Journal of Applied Physiology**, v. 89, n. 3, p. 1114–1122, 2000.

GEOR, R. J.; OMMUNDSON, L.; FENTON, G.; PAGAN, J. D. Effects of an external nasal strip and furosemide on pulmonary haemorrhage in Thoroughbreds following high-intensity exercise. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 6, p. 577–584, 2001.

GOETZ, T. E.; MANOHAR, M.; HASSAN, A. S.; BAKER, G. J. Nasal strips do not affect pulmonary gas exchange, anaerobic metabolism, or EIPH in exercising Thoroughbreds. **Journal of Applied Physiology**, v. 90, n. 6, p. 2378–2385, 2001.

GUTHRIE, A. J.; BEADLE, R. E.; BATEMAN, R. D.; WHITE, C. E. Characterization of normal tidal breathing flow-volume loops for Thoroughbred horses. **Veterinary Research Communications**, v. 19, n. 4, p. 331–342, 1995.

HODGSON, J. L.; HODGSON, D. R. Collection and analysis of respiratory tract samples. In: MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; ROBINSON, N. E.; SCHUMACHER, J. (Ed.). **Equine Respiratory Medicine and Surgery**. Philadelphia: Saunders, 2007. p. 119–150.

HOFFMAN, A. M. **Clinical application of pulmonary function testing in horses**. Disponível em: <http://www.ivis.org/special_books/lekeux/hoffman/ivis.pdf?origin=publication_detail>.

HOFFMAN, A. M. Bronchoalveolar lavage: sampling technique and guidelines for cytologic preparation and interpretation. **Veterinary Clinics of North America : equine practice**, v. 24, n. 2, p. 423–435, 2008.

HOLCOMBE, S. J.; BERNEY, C.; CORNELISSE, C. J.; DERKSEN, F. J.; ROBINSON, N. E. on Airway Resistance in Exercising Horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 8, p. 1101–1105, 2002.

HUGHES, K. J.; MALIKIDES, N.; HODGSON, D. R.; HODGSON, J. L. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in race-horses 1. Evaluation of cytological stains and the percentage of mast cells and eosinophils. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. 11, p. 681–684, 2003.

JUZADO, A. M.; HERNÁNDEZ, M. B.; LUCAS, G. R.; CARDETE, S. R.; AMBROJO, K. S. Estimation of physical fitness in sport horses by a scoring system with functional indexes. **Revista Cientifica,** FCV-LUZ, v. 15, n. 3, p. 217–226, 2005.

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 Physiologyology**, v. 91, n. 3, p. 1396–1400, 2001.

KUSANO, K.; CURTIS, R. A.; GOLDMAN, C. A.; EVANS, D. L. Relative flow-time relationships in single breaths recorded after treadmill exercise in thoroughbred horses. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 27, n. 8, p. 362–368, 2007.

LEKEUX, P.; ART, T. The respiratory system: anatomy, physiology, and adaptations to exercise and training. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Ed.). **The Athletic horse**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 497.

LINDNER, A. E. Maximal lactate steady state during exercise in blood of horses. **Journal of Animal Science**, v. 88, n. 6, p. 2038–2044, 26 fev. 2010. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20190168>. Acesso em: 30 set. 2015.

LUMSDEN, J. M.; DERKSEN, F. J.; STICK, J. A.; ROBINSON, N. E. Use of flow-volume loops to evaluate upper airway obstruction in exercising standardbreds. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 5, p. 766–75, maio 1993. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8317771>. Acesso em: 11 jul. 2015.

LUNN, P.; BREATHNACH, C.; SOBOLL, G. Immunology and Immunopathology. In: MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; ROBINSON, N. E.; SCHUMACHER, J. (Ed.). **Equine respiratory medicine and surgery2**. Philadelphia: Saunders, 2007. p. 71–82.

MAIR, T. S.; STOKES, C. R.; BOURNE, F. J. Cellular content of secretions obtained by lavage from different levels of the equine respiratory tract. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 5, p. 458–62, set. 1987. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3678190>. Acesso em: 21 jul. 2015.

MALIKIDES, N.; HUGHES, K. J.; HODGSON, D. R.; HODGSON, J. L. Comparison of tracheal aspirates and bronchoalveolar lavage in racehorses 2. Evaluation of the diagnostic significance of neutrophil percentage. **Australian Veterinary Journal**, v. 81, n. 11, p. 685–687, 2003.

MARLIN, D.; NANKERVIS, K. **Equine exercise phisiology**. Iowa: Oxford: Blackwell Science, 2002.

MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. Dinâmica da ventilacão pulmonar. In: MCARDLE, W. D.; KATCH, F. I.; KATCH, V. L. (Ed.). **Fisiologia do exercício - energia, nutrição e desempenho humano**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara: Koogan, 1998. p. 237 – 253.

MCDONOUGH, P.; KINDIG, C.; HILDRETH, T.; PADILLA, D.; BEHNKE, B.; ERICKSON, H.; POOLE, D. Effect of Furosemide and the Equine Nasal Strip on Exercise-Induced Pulmonary Haemorrhage and Time-to-Fatigue in Maximally Exercising Horses. **Equine and Comparative Exercise Physiology**, v. 1, n. 03, p. 177–184, 1 ago. 2004. Disponível em: <http://journals.cambridge.org/abstract_S1478061504000222>. Acesso em: 11 jul. 2015.

MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; HALLIWELL, R. E.; IRVING, P. Comparison of cellular and molecular components of bronchoalveolar lavage fluid harvested from different segments of the equine lung. **Research in Veterinary Science**, v. 55, n. 1, p. 57–59, 1993.

MCKANE, S.; CANFIELD, P.; ROSE, R. Equine bronchoalveolar lavage cytology: survey of Thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 11, p. 401–404, nov. 1993. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1751-0813.1993.tb06072.x>. Acesso em: 13 jul. 2015.

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.

MIRANDA, M.; QUEIROZ-NETO, A.; SILVA-JÚNIOR, J.; PEREIRA, M.; SOARES, O.; BORGHI, R.; FERRAZ, G. Comparison of the lactate minimum speed and the maximal lactate steady state to determine aerobic capacity in purebred Arabian horses. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 62, n. 1, p. 15–20, 2014.

MORLEY, P. S.; BROMBEREK, J. L.; SAULEZ, M. N.; HINCHCLIFF, K. W.; GUTHRIE, A. J. Exercise-induced pulmonary haemorrhage impairs racing performance in Thoroughbred racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 47, n. 3, p. 358–365, 2015.

NAGY, B. Muscle disease. In: KAPLAN, L. A.; PESCE, A. J. (Ed.). **Clinical chemistry**: theory, analysis and correlation. 2. ed. Missouri: Mosby, 1989. p. 427–435.

O'KROY, J. A. Oxygen uptake and ventilatory effects of an external nasal dilator during ergometry. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 32, n. 8, p. 1491–5, ago. 2000. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10949017>. Acesso em: 16 ago. 2015.

OLIVEIRA, T. M. **Desempenho atlético e adaptação metabólica de cavalos árabes em testes de longa duração em esteira suplementados com óleo de arroz ou óleo de soja**. 2011. 72 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, 2011.

OLSON, L. G.; STROHL, K. P. The response of the nasal airway to exercise. **The American Review of Respiratory Disease**, v. 135, n. 2, p. 356–9, fev. 1987. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3813196>. Acesso em: 5 set. 2015.

OVEREND, T.; BARRIOS, J.; MCCUTCHEON, B.; SIDON, J. External nasal dilator strips do not affect treadmill performance in subjects wearing mouthguards. **Journal of Athletic Training**, v. 35, n. 1, p. 60–4, jan. 2000. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1323440&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>. Acesso em: 16 ago. 2015.

POOLE, D. C.; KINDIG, C. A.; FENTON, G.; FERGUSON, L.; RUSH, B. R.; ERICKSON, H. H. Effects of external nasal support on pulmonary gas exchange and EIPH in the horse. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 20, n. 9, p. 579–585, 2000.

PORTUGAL, L. G.; MEHTA, R. H.; SMITH, B. E.; SABNANI, J. B.; MATAVA, M. J. Objective assessment of the breathe-right device during exercise in adult males. **American Journal of Rhinology**, v. 11, n. 5, p. 393–7, jan. 1997. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9768322>. Acesso em: 4 jul. 2015.

REYNOLDS, H. Y. Bronchoalveolar Lavage. **American Review of Respiratory Disease**, v. 135, n. 1, p. 250–263, 14 maio 1987. Disponível em: <http://www.atsjournals.org/doi/abs/10.1164/arrd.1987.135.1.250#.VaOw3vlViko>. Acesso em: 13 jul. 2015.

RIDGWAY, K. J. Training endurance horses. In: HODGSON, D. R.; ROSE, R. J. (Ed.). **The Athletic horse**. Philadelphia: Saunders, 1994. p. 497.

ROBINSON, N. E. How Horses Breathe: the Respiratory Muscles and the Airways. In: MCGORUM, B. C.; DIXON, P. M.; ROBINSON, N. E.; SCHUMACHER, J. (Ed.). **Equine respiratory medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 2007. p. 19–31.

ROSE, R.; HODGSON, D. R. **The athletic horse**. Philadelphia: Saunders, 1994.

ROSENFELD, G. Corante pancrômico para hematologia e citologia clínica: nova combinação dos componentes do May-Grünwald e do Giemsa num só corante de emprego rápido. **Mémorias do Instituto Butantan**, v. 20, n. 1, p. 329–334, 1947.

SOCIEDADE GERMÂNICA DE QUÍMICA CLÍNICA. Sociedade Germânica de Química Clínica. **Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry**, v. 15, p. 249, 1977.

SWEENEY, C. R.; BEECH, J. Bronchoalveolar lavage. In: BEECH, J. (Ed.). **Equine respiratory disorders**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. p. 55–61.

SWEENEY, C. R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E. L.; LINDBORG, S. Effects of lung site and fluid volume on results of bronchoalveolar lavage fluid analysis in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 53, n. 8, p. 1376–9, ago. 1992. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1510313>. Acesso em: 13 jul. 2015.

SWEENEY, C. R.; ROSSIER, Y.; ZIEMER, E. L.; LINDBORG, S. R. Effect of prior lavage on bronchoalveolar lavage fluid cell population of lavaged and unlavaged lung segments in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n. 11, p. 1501–4, nov. 1994. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7879970>. Acesso em: 12 jul. 2015.

TONG, T. K.; FU, F. H.; CHOW, B. C. Effect of nostril dilatation on prolonged all-out intermittent exercise performance. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 41, n. 2, p. 189–95, jun. 2001. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11447361>. Acesso em: 16 ago. 2015.

TRAUB-DARGATZ, J. L.; MCKINNON, A. O.; BRUYNINCKX, W. J.; THRALL, M. A.; JONES, R. L.; BLANCQUAERT, A. M. Effect of transportation stress on bronchoalveolar lavage fluid analysis in female horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 7, p. 1026–9, jul. 1988. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3421526>. Acesso em: 17 ago. 2015.

TYLER, R.; COWELL, R.; MACALLISTER, C.; MORTON, R.; CARUSO, K. Introduction. In: COWELL, R.; TYLER, R. (Ed.). **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. 2. ed. Missouri: Mosby, 2002. p. 1–18.

VALDEZ, S. C.; NIETO, J. E.; SPIER, S. J.; OWENS, S. D.; BELDOMENICO, P.; SNYDER, J. R. Effect of an external nasal dilator strip on cytologic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid in Thoroughbred racehorses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 4, p. 558–61, 15 fev. 2004. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14989550>. Acesso em: 11 jul. 2015.

WESTGARD, J. O.; LAHMEYER, B. L.; BIRNBAUM, M. L. Use of the Du Pont “automatic clinical analyzer” in direct determination of lactic acid in plasma stabilized with sodium fluoride. **Clinical Chemistry**, v. 18, n. 11, p. 1334–8, nov. 1972. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4347132>. Acesso em: 12 maio. 2015.

ZINKL, J. G. Lower respiratory tract. In: COWELL, R.; TYLER, R. (Ed.). **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. 2. ed. Missouri: Mosby, 2002. p. 73–86.

Apêndice A

Tabela 6 - Valores relativos das células encontradas no lavado broncoalveolar listados na ordem em que foi realizado o lavado – São Paulo – 2015

	Epiteliais	Eosinófilos	Neutrófilos	Linfócitos	Macrófagos	Multinucluadas	Macrófagos Espumosos
NegaSF	48	0	16	2	32	1	1
FaltaSF	12	0	41	0	46	1	0
BrancaCF	1	0	42	0	57	0	0
OrelhaCF	2	1	55	0	42	0	0
GervaSF	31	0	2	0	66	0	0
RouseCF	0	0	32	4	62	1	0
NegaCF	0	2	35	1	62	0	0
BrancaSF	0	0	35	0	65	0	0
FaltaCF	1	0	42	1	56	1	0
OrelhaSF	0	0	27	1	70	2	0
GervaCF	1	0	11	0	86	1	0
RouseSF	0	0	1	0	98	0	0
Branca	2	6	18	4	70	0	0
Nega	0	0	11	2	84	2	0
Orelha	15	0	5	2	75	3	0
Falta	0	0	60	0	36	4	0
Gerva	1	0	3	0	94	2	0
Rouse	0	0	27	0	72	2	0

Apêndice B

Tabela 7 - Limites e valor-p das diferenças entre os instantes de medição – São Paulo - 2015

Tipo de célula	Sem fita – Basal			Com fita – Basal			Com fita - Sem fita		
	LI	LS	Valor-p	LI	LS	Valor-p	LI	LS	Valor-p
Células epiteliais	-5,87	30,32	0,218	-20,26	15,93	0,948	-32,48	3,71	0,131
Eosinófilos	-3,23	1,23	0,491	-2,67	1,79	0,864	-1,67	2,79	0,797
Neutrófilos	-26,88	26,32	>0,999	-10,94	42,27	0,306	-10,66	42,55	0,294
Linfócitos	-2,98	1,31	0,583	-2,48	1,81	0,915	-1,65	2,65	0,820
Macrófagos	-37,88	19,55	0,692	-39,99	17,44	0,576	-30,82	26,60	0,980
Multinucleadas	-2,72	0,05	0,060	-2,89	-0,11	0,033	-1,55	1,22	0,948

Obs.: No valor de Macrófagos espumosos não foi possível ajustar um modelo de regressão para estimar as diferenças das médias por termos somente duas medidas em um dos instantes.