

AYRTON RODRIGO HILGERT

**Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando
administrada por via inalatória em equinos**

São Paulo

2016

AYRTON RODRIGO HILGERT

**Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando administrada por
via inalatória em equinos**

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Departamento:
Clínica Médica

Área de concentração:
Clínica Veterinária

Orientador:
Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes

**São Paulo
2016**

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.3312
FMVZ

Hilgert, Ayrton Rodrigo
Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando administrada por via inalatória em equinos / Ayrton Rodrigo Hilgert. -- 2016.
59 f. il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, São Paulo, 2016.

Programa de Pós-Graduação: Clínica Veterinária.

Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Roberto Fernandes.

1. Nebulização. 2. Glicocorticoide. 3. Lavado broncoalveolar. 4. Cavalo. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudo da farmacocinética da Dexametasona administrada por via inalatória em Equinos", protocolado sob o CEUA nº 6218011015, sob a responsabilidade de **Wilson Roberto Fernandes** e equipe; **Ayrton Rodrigo Hilgert** - 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 09/12/2015.

We certify that the proposal "Study of the pharmacokinetics of dexamethasone administered by inhalation in Horses", utilizing 6 Equines (6 females), protocol number CEUA 6218011015, under the responsibility of **Wilson Roberto Fernandes** and team; **Ayrton Rodrigo Hilgert** - 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 University of São Paulo (CEUA/FMZV) in the meeting of 12/09/2015.

Vigência da Proposta: de 10/15 a 11/15

Área: Clínica Médica Veterinária

Procedência: Animais provenientes de estabelecimentos comerciais

Espécie: Equídeos

sexo: Fêmeas

idade: 7 anos

N: 6

Linagem: PSA

Peso: 400 kg

Resumo: Doenças do trato respiratório estão entre as afecções mais comuns em equinos (DIXON et al., 1995), sendo a segunda maior causa de baixo desempenho no cavalo atleta (ROSSDALE et al., 1985). Entre as principais afecções das vias respiratórias que provocam baixa performance, pode-se citar a Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA) (CARNEIRO, 2002). Em humanos existem duas afecções do sistema respiratório, que são conhecidas como Asma e Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), que são muito semelhantes à ORVA dos equinos quanto à sua patogenia (LECLERE, 2011), sendo que na espécie humana ambas apresentam elevada importância por apresentarem alta incidência, prejudicar a qualidade de vida do portador e serem potencialmente fatais (LOYMANS, et al 2014; OBA, et al 2014). A base do tratamento preconizado para a Asma e DPOC em humanos é a administração de corticosteroides, sendo recomendado o uso dessa medicação por via parenteral somente durante emergências ou crises, enquanto que para o controle desta afecção a via de administração preconizada desses fármacos é a via inalatória, já que desta forma o princípio ativo irá atuar diretamente no sítio desejado, tendo uma menor absorção sistêmica, e ainda, pode-se utilizar uma dose muito menor do que quando administrado pela via parenteral, diminuindo assim de forma significativa os efeitos colaterais dessa classe medicamentosa (LOYMANS, et al 2014; OBA, et al 2014). O tratamento da ORVA em equinos, assim como o tratamento das enfermidades inflamatórias das vias aéreas em humanos, tem como uma das principais vias de atuação os fármacos anti-inflamatórios corticosteroides, sendo a Dexametasona um dos princípios ativos mais utilizados nesta espécie. Entretanto, diferentemente da medicina humana, na clínica equina ainda utiliza-se muito a administração sistêmica desses medicamentos e existem poucos estudos sobre a sua utilização pela via inalatória (LECLERE, 2011; REED, 2004). Em vista disso, acredita-se que em equinos também pode ser benéfica a utilização de corticosteroides por via inalatória em substituição à via parenteral no controle da Obstrução Recorrente das Vias Aéreas.

São Paulo, 14 de janeiro de 2016

Prof.ª. Dra. Denise Tabacchi Fantoni

Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Roseli da Costa Gomes

Secretaria Executiva da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: HILGERT, Ayrton Rodrigo

Título: **Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando administrada por via inalatória em equinos**

Dissertação 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 Mestre em Ciências

Data: ___/___/_____

Banca examinadora

Prof.(a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof.(a). Dr.(a). _____

Instituição: _____ Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pelo carinho, apoio incondicional e incentivo ao estudo que me deram por toda a minha vida, pois estes com certeza são fatores determinantes para a realização deste trabalho. Ao meu irmão, que de maneira não intencional e mesmo que não saiba, é com certeza o meu maior motivador e lhe sinto a cada dia ao meu lado, me impulsionando! Aproveito para agradecer também à toda a família dos Ph & Cia e aos Hilgert, pelo incentivo que sempre me deram.

Ao professor Wilson, meu grande mestre e orientador nesta jornada, por todo o conhecimento que de forma clara e objetiva me passou desde o meu primeiro estágio na FMVZ-USP até a conclusão deste trabalho. Por todo o seu companheirismo e amizade que tenho a honra de ter e certamente contribui muito também na minha formação pessoal.

À professora Cris Massoco, pelo incentivo e orientações que foram fundamentais para a realização deste trabalho. Ao Vagner, pela paciência comigo e dedicação que de maneira insistente tornou possível a realização das análises laboratoriais essenciais nesse projeto.

À Talissa, que me ajudou muito durante a realização do experimento, tanto com mão-de-obra quanto por deixar o ambiente muito mais leve e divertido, pois como ela mesma dizia ao chegar: “A alegria chegou!”. E principalmente, por todo o apoio, carinho e amor que tem me dedicado nesse período final.

Aos amigos que ao meu lado tornaram essa caminhada possível e muito prazerosa. Em especial ao Gui, que de maneira voluntária movido pelo seu instintivo companheirismo, ajudou na execução de todo o projeto. Passou inclusive várias noites no hospital simplesmente para ajudar nas coletas sanguíneas, o que deixou esse tempo muito mais fácil e divertido de ser percorrido, e certamente se não fosse o seu sempre pontual grito de “hora da coleta!” a metodologia do trabalho estaria bastante danificada. Ao Tiago, que muito me ensina tanto na vida acadêmica, quanto profissional e pessoal, por toda a sua amizade e ajuda na execução desse trabalho. Aos demais, Paulo, Henrique, Fernanda Maschietto, Fernanda Stievani, Maria Letícia, Carol, Cris, Ana, Kaio, Felipe, Tiago Henrique, Cynthia, Joyce e tantos os outros, muito obrigado! Aproveito para agradecer também ao Cris, um irmão que

ganhei na graduação, e agora mesmo estando longe não se importou em me ajudar com a estatística em pleno sábado à noite.

Ao Marquinhos, pela sua amizade, cafezinhos e suas sempre geniais “coisas de Marquinhos”, que sempre surgem para resolver os nossos problemas e foram essenciais no ajuste da metodologia no início do experimento, como sempre!

Aos demais professores da FMVZ-USP que me ensinaram muito desde os períodos de estágio e residência até a conclusão do mestrado. Ao Julio, que certamente foi uma das pessoas com quem mais aprendi desde que entrei nessa universidade. Aproveito para agradecer a todos os professores que contribuíram com a minha formação, desde os tempos de colégio e graduação.

Aos funcionários da FMVZ-USP que me auxiliaram ao longo dessa trajetória, em especial aos do Hospital Veterinário, Henrique, Cícero, Rose, Gerva, Ganga e Felipe que estão sempre prontos a nos ajudar e divertir com seu bom humor. À Clara pela sua prontidão em me ajudar com algumas análises laboratoriais, à Elza pelo seu auxílio na formatação deste e à Adelaide por todas as suas informações e paciência.

Por fim, peço desculpas àqueles que aqui não foram citados e agradeço imensamente a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram na minha trajetória até a conclusão deste trabalho. Muito obrigado!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”

Arthur Schopenhauer

RESUMO

HILGERT, A. R. **Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando administrada por via inalatória em equinos.** [Evaluation of pulmonary deposition of dexamethasone when administered by inhalation in horses]. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Afecções do sistema respiratório estão entre as mais frequentes em equinos, sendo uma das principais causas de baixo desempenho em animais atletas. Dentre essas doenças pode-se citar as afecções inflamatórias das vias aéreas, que apresentam uma prevalência considerável e afetam a saúde e vida atlética do animal. Um dos principais meios de atuação terapêutica no tratamento dessas doenças é a administração de medicamentos corticoides, sendo a dexametasona um dos principais fármacos dessa classe utilizados na medicina equina. No tratamento de doenças semelhantes em humanos preconiza-se a administração dos fármacos por via inalatória, otimizando assim o seu efeito terapêutico e diminuindo os efeitos colaterais. Em equinos existem trabalhos que mostram a deposição pulmonar de medicamentos quando administrados por via inalatória, no entanto, não foram encontrados estudos nesse sentido utilizando a dexametasona. O objetivo desse estudo foi avaliar a deposição pulmonar de dexametasona quando administrada por via inalatória em equinos, bem como fatores que possam interferir no seu nível de deposição e a concentração plasmática do fármaco quando administrada por essa via. Para isso foram utilizados seis equinos que foram submetidos à inalação com dexametasona duas vezes, cada uma utilizando um veículo diferente (aquoso ou oleoso) na formulação do fármaco, e quatro animais foram utilizados para o grupo controle, sendo submetidos à inalação somente com o veículo. Após cada inalação foi realizado um lavado broncoalveolar (LAB) e coletas sanguíneas seriadas para quantificação da dexametasona. Após a inalação o fármaco foi identificado nas amostras de LAB dos animais nos grupos tratados. Não houve diferença significativa entre os veículos utilizados e houve diferença entre os animais agitados e os animais calmos, sendo que os primeiros apresentaram uma concentração significativamente maior de dexametasona no LAB. O fármaco não foi identificado no plasma dos animais. A dexametasona quando administrada via nebulização pneumática atinge a

região de bronquíolos e alvéolos respiratórios em equinos, principalmente os de comportamento agitado, e não atinge níveis plasmáticos significativos.

Palavras-chave: Nebulização. Glicocorticoide. Lavado broncoalveolar. Cavalo.

ABSTRACT

HILGERT, A. R. **Evaluation of pulmonary deposition of dexamethasone when administered by inhalation in horses.** [Avaliação da deposição pulmonar da dexametasona quando administrada por via inalatória em equinos]. 2016. 59 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Disorders of the respiratory system are among the most frequent diseases in horses and one of the main causes of low performance in athletic animals. Inflammatory diseases of the airways should be mentioned due to its considerable prevalence and to affect the health and athletic life of the animal. One of the main ways of therapeutic action of these diseases is the administration of corticosteroid drugs, being dexamethasone one of the main drugs used in equine medicine. In the treatment of similar diseases in humans it is recommended the administration of drugs by inhalation, which optimizes its therapeutic effect and reduces side effects. In horses, there are studies that show the pulmonary deposition of drugs when administered by inhalation, however, there are no studies using dexamethasone. The aim of this study was to evaluate the pulmonary deposition of dexamethasone when administered by inhalation in horses, as well as factors that may interfere with their level of deposition and the plasma concentration of the drug when administered by inhalation. To that, it was used six horses that were submitted to inhalation of dexamethasone twice, each one using a different vehicle (aqueous or oily) in the drug formulation, and four animals were used as control group, being submitted to inhalation just with the vehicle. After each inhalation a bronchoalveolar lavage (BAL) and serial blood collections for quantification of dexamethasone were performed. After the inhalation, the drug was identified in BAL samples from the animals of the treated groups. There was no significant difference between the vehicles used and there was difference between the agitated animals and calm animals, and the first ones had a significantly higher concentration of dexamethasone in the BAL. The drug was not identified in the plasma of animals. Dexamethasone, when administered via nebulization air, reaches the bronchioles region and respiratory alveoli in horses, especially the agitated behavior ones, and it does not affects plasma levels.

Key words: Nebulization. Glucocorticoids. Bronchoalveolar lavage. Horse

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Imagem ilustrando o procedimento de nebulização sendo realizado com máscara facial do tipo Aeromask[®] em equino.....33
- Figura 2 - Amostra de Lavado Broncoalveolar com grande quantidade de espuma, representando boa recuperação de líquido surfactante36
- Figura 3 - Curva de calibração, equação da reta e coeficiente de correlação (r^2) da dexametasona na faixa de 3,125 a 200 $\mu\text{g/mL}$, em lavado bronco alveolar.....39

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Comparação dos valores de concentração da dexametasona (mg/ml) nas amostras de LBA entre os diferentes tratamentos (veículo aquoso e oleoso)41
- Gráfico 2 - Comparação dos valores de dexametasona observados nas amostras de lavado bronco alveolar em relação ao comportamento dos animais durante o procedimento de inalação42
- Gráfico 3 - Relação entre veículo utilizado e o tempo de duração da inalação (minutos) em cada animal43
- Gráfico 4 - Correlação entre o peso do animal e o valor médio da dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar deste animal nos dois tratamentos44

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Concentração de dexametasona (mg/ml) nas amostras de lavado broncoalveolar dos animais em ambos os tratamentos | 41 |
|------------|--|----|

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|--|----|
| Apêndice A - Descrição dos tratamentos realizados em relação aos valores obtidos de dexametasona no lavado broncoalveolar (ex-LBA), ureia no LBA (U-LBA), ureia no soro (U-SORO), fator de correção da ureia (Fator), concentração de dexametasona no LBA em $\mu\text{g/ml}$ ([]Dex-LBA ($\mu\text{g/ml}$), concentração de dexametasona no LBA em mg/ml ([]Dex-LBA (mg/ml), peso dos animais, duração da inalação em minutis (tempo) e temperamento dos animais..... | 59 |
|--|----|

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|------------|---|
| C | Celsius |
| cm | Centímetro |
| CLAE | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| CLAE-DAD | Cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos |
| Dex | Dexametasona |
| DIVA | Doença Inflamatória das Vias Aérea |
| DPI | Dry powder inhalers |
| DPOC | Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica |
| EDTA | Ácido etilenodiamino tetra-acético |
| FMVZ – USP | Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo |
| IL | Interleucina |
| Kg | Quilograma |
| L | Litro |
| LAMEQ | Laboratório de Medicina Esportiva Equina |
| LBA | Lavado broncoalveolar |
| LD | Limite de detecção |
| LQ | Limite de quantificação |
| MDI | Metered-dose inhalers |
| mg | Miligramas |
| min | Minuto |
| ml | Mililitros |
| mm | Milímetro |

| | |
|------------------|--------------------------------------|
| nm | Nanômetro |
| PaO ₂ | Pressão de oxigênio arterial |
| PSA | Puro sangue árabe |
| r ² | Coeficiente de correlação |
| U | Ureia |
| UI | Unidade internacional |
| ORVA | Obstrução recorrente das Vias Aéreas |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-----|------------------|
| [] | Concentração |
| ° | Graus |
| ® | Marca registrada |
| < | Menor |
| μ | Micro |
| / | Por |
| % | Porcentagem |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 20 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 22 |
| 2.1 | DOENÇAS INFLAMATÓRIAS DO SISTEMA RESPIRATÓRIO DE EQUINOS | 22 |
| 2.1.1 | Obstrução recorrente das vias aéreas..... | 22 |
| 2.1.2 | Doença Inflamatória das Vias Aéreas..... | 24 |
| 2.2 | DIAGNÓSTICO DAS AFECÇÕES INFLAMATÓRIAS DAS VIAS AÉREAS | 25 |
| 2.3 | TERAPÊUTICA DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS DAS VIAS AÉREAS | 27 |
| 2.4 | AEROSSOLTERAPIA EM EQUINOS..... | 29 |
| 3 | OBJETIVOS | 31 |
| 4 | MATERIAIS E MÉTODOS | 32 |
| 4.1 | ANIMAIS | 32 |
| 4.2 | INALAÇÃO..... | 33 |
| 4.3 | TRATAMENTOS..... | 34 |
| 4.4 | COLHEITA DE AMOSTRAS..... | 34 |
| 4.4.1 | Lavado Broncoalveolar | 35 |
| 4.4.2 | Colheita de sangue..... | 36 |
| 4.5 | ANÁLISE DAS AMOSTRAS | 37 |
| 4.6 | EXTRAÇÃO | 38 |
| 4.6.1 | Curvas analíticas | 38 |
| 4.7 | ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 39 |
| 5 | RESULTADOS | 40 |
| 6 | DISCUSSÃO | 45 |
| 7 | CONCLUSÕES | 50 |
| | REFERÊNCIAS | 51 |
| | APÊNDICES | 59 |

1 INTRODUÇÃO

Doenças do trato respiratório estão entre as afecções mais comuns em equinos, sendo a segunda maior causa de baixo desempenho no cavalo atleta (REED et al., 2004). Dentre as principais afecções que podem acometer esse sistema, pode-se citar as doenças puramente inflamatórias, como Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA) e Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA) (ROBINSON, 2001; PIRIE, 2014; COUETIL et al., 2016).

Essas doenças apresentam ampla ocorrência e causam um grande impacto na criação de equinos por prejudicar a saúde do animal e comprometer a sua vida atlética. Muitos animais acabam por apresentar performances muito abaixo da sua capacidade devido a essas alterações no sistema respiratório, comprometendo a sua carreira no esporte (AVIZA et al., 2001)

Uma das principais vias de atuação no tratamento dessas afecções é a administração de fármacos antiinflamatórios esteroidais, sendo a dexametasona um dos fármacos dessa classe mais amplamente utilizados na medicina equina (BERTONE; HORSPOOL, 2004)

Em humanos existem duas afecções do sistema respiratório conhecidas como Asma e Doença Pulmonar Obstrutiva Cônica (DPOC), que são muito semelhantes às doenças inflamatórias do sistema respiratório dos equinos quanto à sua patogenia e manifestações clínicas (LECLERE; LAVOIE-LAMOUREUX; LAVOIE, 2011; AHARONSON-RAZ et al., 2012; BULLONE; LAVOIE, 2015), e assim como em equinos, na espécie humana essas doenças apresentam importância por apresentarem alta incidência, prejudicar a qualidade de vida do portador e serem potencialmente fatais (HOLMBERG et al., 2015; LIU et al., 2015)

A base do tratamento preconizado para a Asma e DPOC em humanos é a administração de corticosteroides, sendo recomendado o uso dessa medicação por via parenteral somente durante emergências ou crises, enquanto que para o controle desta afecção a via de administração preconizada desses fármacos é a via inalatória, já que desta forma o princípio ativo irá atuar diretamente no sítio desejado, tendo uma menor absorção sistêmica, e ainda, pode-se utilizar uma dose muito menor do que quando administrado pela via parenteral, diminuindo assim de forma

significativa os efeitos colaterais dessa classe medicamentosa (LOYMANS et al., 2014; OBA; LONE, 2014).

Nota-se então, que tanto na medicina humana quanto na medicina equina a corticoterapia é amplamente utilizada para o tratamento das afecções inflamatórias das vias aéreas, entretanto, na veterinária ainda prevalece a sua utilização de forma sistêmica e existem poucos estudos sobre a sua administração pela via inalatória (REED, 2004; LECLERE, 2011), sendo que não foi encontrado nenhum trabalho sobre a utilização da dexametasona por esta via.

Por acreditar-se que em equinos também possa ser benéfica a administração de antiinflamatórios corticosteroides pela via inalatória, foi formulada a hipótese de que a dexametasona, quando administrada por esta via, atinja a região de bronquíolos e alvéolos no parênquima pulmonar, possibilitando assim a sua ação diretamente nessa região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOENÇAS INFLAMATÓRIAS DO SISTEMA RESPIRATÓRIO DE EQUINOS

Dentre as afecções que podem acometer o sistema respiratório de equinos existem aquelas que são caracterizadas por resposta inflamatória não séptica nas vias aéreas inferiores, que são a Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA) e a Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA) (VIEL, 1997; ROBINSON, 2001; IVESTER et al., 2014; PIRIE, 2014), para as quais foi recentemente sugerido a utilização do termo de “Síndrome da Aasma Equina” ao se descrever as duas em conjunto (LECLERE; LAVOIE-LAMOUREUX; LAVOIE, 2011; BULLONE; LAVOIE, 2015; COUETIL et al., 2016).

2.1.1 Obstrução recorrente das vias aéreas

A Obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA) também é conhecida como Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) (REED; BAYLY; SELLON, 2004; PIRIE, 2014), e trata-se de uma inflamação crônica das vias aéreas inferiores caracterizada por broncoespasmo, produção excessiva de muco e alterações na parede bronquiolar que levam à obstrução da região terminal das vias aéreas (DAVIS; RUSH, 2002).

A ocorrência desta doença na população total de cavalos é difícil de se estimar, entretanto Hotchkiss, Reid e Christley (2006) calcularam uma prevalência de 14% no Reino Unido e, em um trabalho realizado no Hospital Veterinário da FMVZ-USP, Fernandes et al. (2011) constataram uma prevalência de 15,4% da doença entre os animais com alguma afecção do sistema respiratório atendidos no referido hospital.

Em um estudo retrospectivo com quase 1500 cavalos diagnosticados com ORVA, Couëttil e Ward (2003) constataram uma maior prevalência da doença em países do hemisfério norte e observaram também uma ocorrência muito maior em

animais com mais de 7 anos de idade em relação aos animais com menos de 4 anos, como também, uma maior ocorrência em animais das raças puro sangue de corrida em relação às demais. O período do ano com maior casuística da doença foi durante os meses de inverno e primavera, sendo que, os animais que vivem em ambientes urbanos possuem um maior risco de serem acometidos.

O aparecimento da doença também tem sido relacionado a fatores como a exposição do animal a poeira, feno de baixa qualidade, vapores de amônia, esporos de fungos, e outros estímulos não específicos (DAVIS; RUSH, 2002).

A ORVA se desenvolve em resposta à uma hipersensibilidade das vias aéreas em relação aos antígenos e fatores citados acima. Ainda existe muito a se descobrir a respeito dos mecanismos imunológicos específicos que levam a inflamação e disfunção pulmonar (ROBINSON et al., 1996), entretanto, já é estabelecido que nesse processo ocorre um influxo luminal de neutrófilos enquanto que na submucosa surge um infiltrado composto por linfócitos, mastócitos, plasmócitos e ocasionalmente, eosinófilos. No espaço peribrônquico os linfócitos presentes são linfócitos B produtores de imunoglobulinas e linfócitos T CD4+, sendo que esses últimos apresentam nesse caso o fenótipo T helper 2 (Th2), produtor das interleucinas IL-4, IL-8 e IL-13, contribuindo para a produção de Imunoglobulina E e recrutamento de neutrófilos (HOROHOV, 2000; DAVIS; RUSH, 2002).

A patogenia da ORVA dos equinos é muito semelhante com a da Asma em humanos, que apresenta as mesmas alterações descritas no parágrafo acima, salvo que, na espécie humana ocorre também um aumento nos níveis de IL-5, o que resulta em uma hipersensibilidade do tipo 1 com predomínio de eosinófilos (DAVIS; RUSH, 2002). Devido as semelhanças na base de desenvolvimento imunológico das afecções em humanos e equinos, as duas doenças são tidas como similares e o equino é considerado um modelo animal para o estudo da Asma (BOWLES et al., 2002; LECLERE; LAVOIE-LAMOUREUX; LAVOIE, 2011).

Os sinais clínicos que o animal apresenta são representativos da obstrução difusa que ocorre nas vias aéreas inferiores e podem ser resumidos em aumento de esforço respiratório, tosse e intolerância ao exercício (PIRIE, 2014), variando em intensidade de acordo com o grau de acometimento do animal, podendo ir desde uma moderada intolerância ao exercício até uma severa dificuldade respiratória em repouso (LÉGUILLETTE, 2003).

2.1.2 Doença Inflamatória das Vias Aéreas

A doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) é a afecção crônica das vias aéreas mais comum em cavalos atletas (IVESTER; COUETIL; ZIMMERMAN, 2014) e consiste em uma afecção inflamatória não séptica das vias aéreas inferiores com etiologia e patogenia semelhantes à ORVA, porém, com sintomatologia mais branda, esporádica e de ocorrência principalmente em animais jovens (ROBINSON, 2001; CARDWELL et al., 2011). Essas características levaram alguns autores à considerarem como um estágio inicial da ORVA (VIEL, 1997; HOFFMAN, 1999), entretanto, atualmente o conceito mais aceito é de que são duas doenças distintas, podendo ou não a DIVA evoluir para ORVA, e que devido as suas semelhanças podem ser agrupadas no conceito de Síndrome da Asma Equina (LECLERE; LAVOIE-LAMOUREUX; LAVOIE, 2011; BULLONE; LAVOIE, 2015; COUETIL et al., 2016).

A doença inflamatória das vias aéreas também já foi conhecida como inflamação das pequenas vias aéreas posteriores (HOFFMAN, 1999), doença das pequenas vias aéreas (VIEL, 1997) e inflamação do trato respiratório posterior ou doença das vias aéreas posteriores (LAVOIE, 1997).

Sweeney, Humber e Roby (1992) observaram uma variação de 27-80% na prevalência de DIVA nos Estados Unidos, o que mostra uma grande variação na literatura nesse quesito. De uma maneira geral, diversos estudos indicam que a prevalência gira em torno de 11 a 50% (KUSANO et al., ; BURRELL, 1985; WOOD et al., 1999; CHAPMAN et al., 2000). Em cavalos de policiamento na Cidade do Rio de Janeiro, Lessa *et al.* (2002) verificaram que 60% das amostras de lavado broncoalveolar apresentaram alterações compatíveis com quadros inflamatórios, sendo um compatível com DPOC e os onze demais compatíveis com DIVA.

A etiologia da DIVA não é totalmente conhecida pois são poucos os estudos especificamente voltados à este propósito, pois uma vez que é de consenso que os fatores etiológicos e desencadeantes desta afecção são semelhantes aos da ORVA, considera-se então as mesmas possibilidades etiológicas para as duas doenças (ROSENTHAL; GRUNTMAN; COUETIL, 2006; IVESTER et al., 2014).

As vias de desencadeamento e desenvolvimento da DIVA também apresentam semelhanças em relação às da ORVA. As duas são consideradas hipersensibilidade das vias aéreas e em ambos os casos é comum a observação de aumento no número de neutrófilos em amostras de lavado broncoalveolar dos animais acometidos (BEDENICE; MAZAN; HOFFMAN, 2008). No entanto, nos casos de DIVA essa neutrofilia geralmente é leve ou moderada, e, quando se trata de um animal jovem, é mais comum que se observe aumento no número de eosinófilos e mastócitos (IVESTER; COUETIL; ZIMMERMAN, 2014), o que implica em algumas diferenças no perfil de citocinas liberadas, mas em ambos os casos, é caracterizada uma hiperresponsividade das vias aéreas associada à queda de performance (HARE; VIEL, 1998; BEDENICE; MAZAN; HOFFMAN, 2008; COUETIL et al., 2016).

A apresentação clínica se caracteriza por queda de performance, excesso de muco nas vias aéreas e tosse, que muitas vezes só são observados com o animal em exercício, sendo difícil a avaliação dos sinais clínicos com o animal em repouso (WOOD et al., 2005; IVESTER; COUETIL; ZIMMERMAN, 2014) A ausência de tosse durante o exercício não descarta o diagnóstico de DIVA (WASKO et al., 2011), enquanto que, a ocorrência de episódios de tosse ocasionais no animal em repouso aumenta as chances deste de se tornar portador de ORVA (BOSSHARD; GERBER, 2014). A auscultação torácica de animais com DIVA geralmente não mostra alterações, entretanto, algumas vezes pode-se notar um aumento nos sons respiratórios e a presença de sibilos, principalmente nos momentos pós-exercício. (LAVOIE et al., 2011; COUETIL et al., 2016).

2.2 DIAGNÓSTICO DAS AFECÇÕES INFLAMATÓRIAS DAS VIAS AÉREAS

O diagnóstico presuntivo muitas vezes já é estabelecido com base nas informações coletadas na anamnese e exame físico do paciente (DAVIS; RUSH, 2002), mas para a sua confirmação, avaliação do grau de acometimento do animal e acompanhamento do tratamento podem ser realizados exames complementares, como endoscopia das vias aéreas, ventigrafia, respirometria, hemogasometria e

citologia de amostras de aspirado traqueal, lavado traqueal ou lavado broncoalveolar (PIRIE, 2014; COUETIL et al., 2016).

A endoscopia fornece uma gama importante de informações relevantes para os casos de afecções inflamatórias, pois através dela consegue-se ter uma avaliação do aspecto da mucosa das vias aéreas superiores, traqueia e brônquios, observando sinais de inflamação como coloração, edemaciação e aumento da vascularização (KOBLINGER et al., 2011). Além disso, através da endoscopia também é possível avaliar se existe secreção nas vias aéreas, a quantidade e aspecto desta secreção, e ainda, quando houver interesse pode-se coletar amostras da secreção para realização de citologia (SANTOS; MICHELOTTO; KOZEMJAKIN, 2007).

Outro método bastante elucidativo no diagnóstico das doenças inflamatórias é a citologia a partir de amostras coletadas diretamente nas vias aéreas inferiores, podendo ser um aspirado da secreção encontrada na traqueia, ou um lavado da região traqueal (traqueobrônquico) ou da região broncoalveolar (HEWSON; VIEL, 2002; FERNANDES et al., 2011). Amostras coletadas na região traqueal tem por vantagem a possibilidade de serem representativas de toda a área pulmonar, enquanto que o lavado broncoalveolar traz informações relacionadas apenas à região em que foi realizado, o que não interfere na sua interpretação nos casos de alterações difusas, como as doenças inflamatórias, por exemplo. Por outro lado, o lavado broncoalveolar tem a vantagem de ser mais sensível e apresentar menos variações do que amostras da região traqueal (FERNANDES; MORI; SANCHES, 2000; HEWSON; VIEL, 2002; HODGSON; HODGSON, 2007).

Nos casos de obstrução recorrente das vias aéreas o quadro citológico classicamente observado caracteriza-se pela presença de infiltrado neutrofílico variável. Viel (1997) encontrou valores médios de $44,8 \pm 7,3\%$ para este tipo celular, enquanto que Hoffman (1999) observou valores que variaram de menos de 10% até próximo a 80%, sendo que a maioria dos animais apresentou contagem de neutrófilos logo abaixo de 50%. O muco, que nos animais acometidos por ORVA geralmente está presente em grande quantidade, pode se apresentar sob a forma de cilindros em espiral, que são chamados de espirais de Curschmann's e são muito característicos de obstrução bronquiolar (LESSA et al., 2007).

Já na avaliação citológica dos casos de DIVA, é frequente a observação de aumento leve a moderado no número de neutrófilos, sendo que quando se trata de

um animal jovem, é mais comum que se observe aumento no número de eosinófilos e mastócitos (BEDENICE; MAZAN; HOFFMAN, 2008; IVESTER et al., 2014).

A ventigrafia nos fornece dados indiretos sobre o esforço inspiratório e expiratório realizado pelo animal através da mensuração da pressão interpleural (BACCARIN et al., 1998). Em animais com ORVA esses valores se apresentam acima dos valores de referência encontrados em animais saudáveis, entretanto, devido a grande variabilidade do teste, este é muito mais utilizado como um meio de acompanhar a evolução do animal durante o tratamento do que para confirmação diagnóstica (HODGSON; HODGSON, 2002). Em relação aos animais com DIVA, Lessa et al. (2008) não encontrou diferença significativa ao compará-los com animais saudáveis.

Diferentes meios para realizar medições do fluxo de ar durante os ciclos respiratórios do equino também têm sido sugeridos como possíveis métodos auxiliares a serem utilizados no diagnóstico de afecções inflamatórias das vias aéreas (PIRIE, 2014; COUETIL et al., 2016), entretanto, valores de referência para a espécie ainda não estão completamente estabelecidos (HERHOLZ et al., 2003).

Hemogasometria é frequentemente utilizada para avaliar a funcionalidade e grau de comprometimento do sistema respiratório, uma vez que animais com manifestação severa da ORVA apresentam valores significativamente menores de PaO₂ (NYMAN et al., 1991). No entanto, esse exame não apresenta sensibilidade suficiente para avaliação nos casos leves a moderados da doença (STOPYRA; SOBIECH; WACLAWSKA-MATYJASIK, 2012).

2.3 TERAPÊUTICA DAS DOENÇAS INFLAMATÓRIAS DAS VIAS AÉREAS

As doenças inflamatórias das vias aéreas caracterizam-se como reações de hipersensibilidade do sistema respiratório à antígenos encontrados em suspensão no ar inalado, desencadeando uma resposta inflamatória nessa região e diminuição da luz das vias aéreas, principalmente em nível de brônquios e bronquíolos, devido ao edema da mucosa e broncoespasmos (IVESTER et al., 2014; PIRIE, 2014). Os principais objetivos no tratamento dessas afecções se baseiam então nesses três

pontos: a diminuição do contato do animal à antígenos possivelmente nocivos, combate à resposta inflamatória e à diminuição da luz das vias aéreas (DAVIS; RUSH, 2002).

A diminuição da exposição do animal aos agentes etiológicos dessas afecções se baseia no manejo de ambiente, com o objetivo de diminuir a quantidade de partículas nocivas em suspensão. Esta é a principal medida a ser tomada para o controle da DIVA e ORVA e deve ser realizado de maneira intensa e constante durante toda a vida dos animais portadores dessas doenças (DAVIS; RUSH, 2002; LÉGUILLETTE, 2003; PIRIE, 2014). No entanto, muitas vezes as medidas tomadas nesse sentido não são o suficiente para evitar os quadros de agravamento das doenças, se fazendo necessária a associação à terapias medicamentosas de maneira constante ou nos momentos de crise (MAZAN, 2015).

A diminuição da luz das vias aéreas em nível de brônquios e bronquíolos se devem ao edema de mucosa, acúmulo de secreção e broncoconstrição que ocorrem tanto nos casos de DIVA quanto de ORVA (HOROHOV, 2000; COUETIL et al., 2016). Os fármacos broncodilatadores diminuem a broncoconstrição apenas por gerar um alívio imediato na contração do músculo liso na parede de brônquios e bronquíolos (DAVIS; RUSH, 2002), o que gera um efeito a curto-prazo e faz com que a sua administração seja descrita como tratamento sintomático e indicada sempre em associação à corticosteroides (LÉGUILLETTE, 2003; PIRIE, 2014; MAZAN, 2015).

Já para o combate à resposta inflamatória é indicado o uso de fármacos antiinflamatórios, e se tratando de sistema respiratório, a classe medicamentosa que apresenta melhor efeito nessa região é a de fármacos glicocorticoides (YODER JR.; CHUA; TEPPER, 1991; BUECHNER-MAXWELL V., 2004), o que faz com que o tratamento da ORVA, por exemplo, seja a causa mais comum de utilização de corticoides sistêmicos em equinos (BERTONE; HORSPOOL, 2004).

Dentre os medicamentos corticosteroides, um dos mais utilizados na medicina equina é a Dexametasona, um fármaco que apresenta efeito aproximadamente 20 a 30 vezes mais potente do que outros como prednisolona e triancinolona, e possui meia vida plasmática maior do que 300 minutos (STAHN et al., 2007).

O organismo do equino é extremamente sensível aos efeitos colaterais dos corticoides, sendo indicado portanto a priorização da utilização de terapias locais

sempre que possível para assim, diminuir a concentração sistêmica da droga e consequentemente os seus efeitos colaterais (BERTONE; HORSPOOL, 2004), assim como é preconizado e de uso rotineiro na medicina humana (ALLEN et al., 2003; CHANEZ et al., 2004; BECKHAUS; RIUTORT; CASTRO-RODRIGUEZ, 2014).

Com esse objetivo foram realizados trabalhos em equinos que mostram o efeito de fármacos corticoides quando administrados diretamente nas vias aéreas, sugerindo a viabilidade e eficácia desta via de administração para estes fármacos no tratamento de doenças respiratórias em equinos. No entanto, esses trabalhos foram realizados utilizando somente os fármacos beclometasona (AMMANN; VRINS; LAVOIE, 1998; COUËTIL et al., 2006) ou fluticasona (GIGUÈRE et al., 2002; GRAY et al., 2013).

Na literatura foram encontrados estudos que mostram o efeito da dexametasona quando administrada por via inalatória em humanos (SCARFONE et al., 1995; LURIA et al., 2001), enquanto que em equinos foram encontrados apenas estudos que avaliam o seu efeito quando administrada de forma sistêmica (RUSH et al., 1998; COUËTIL et al., 2006).

2.4 NEBULIZAÇÃO EM EQUINOS

A administração de substâncias terapêuticas por via inalatória também é conhecida como aerossolterapia, e é considerada vantajosa no tratamento de afecções do sistema respiratório pois pode proporcionar uma alta concentração da droga no sítio de ação com baixa concentração sanguínea, favorecendo então o seu efeito terapêutico e minimizando os efeitos colaterais (DUVIVIER et al., 1997; VOTION et al., 1997; PEREIRA, 1998; SOLANO; SOUZA, 1998; GRONEBERG et al., 2003).

Diferentes métodos de se realizar aerossolterapia já foram estudados para utilização na espécie equina, como administração de aerossóis pelo uso de um dosador de aerossol (MDI) ou através de um inalador de partículas secas (DPI), ou ainda, por meio da atomização de um líquido, que pode ser feita com emprego de ar

comprimido (nebulização pneumática) ou vibração de um quartzo piezelétrico (nebulização-ultrassônica) (DUVIVIER et al., 1997; VOTION et al., 1997; BASTOS et al., 2001).

A nebulização pneumática já se mostrou eficiente quando utilizada na espécie equina (VOTION et al., 1997), desde que o compressor de ar utilizado seja capaz de gerar uma pressão de no mínimo 6 bar e um fluxo de ar de 6 a 8 l/min, pois nessas condições é gerado um aerossol com diâmetro menor do que 5 μ m, que é o ideal para que este atinja as vias aéreas inferiores (DUVIVIER et al., 1997).

3 OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo principal verificar se a dexametasona, quando administrada via nebulização pneumática em equinos atinge as vias aéreas inferiores a nível de bronquíolos e alvéolos.

Simultaneamente buscou-se descobrir se o veículo utilizado na formulação da dexametasona e fatores inerentes ao animal interferem na deposição pulmonar do fármaco, bem como, avaliar se este atinge níveis detectáveis no plasma quando administrado por via inalatória.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento foi realizado nas dependências da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-USP), sendo que os procedimentos com os animais foram feitos no Serviço de Clínica Médica de Equinos do Departamento de Clínica Médica e do Hospital Veterinário, e as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Farmacologia Aplicada e Toxicologia do Departamento de Patologia.

4.1 ANIMAIS

Foram utilizados 6 equinos, fêmeas, da raça Árabe, com idade média de 9 anos e peso variando entre 350 e 416kg. Os animais foram alojados aos pares em baias com dois coxos para alimentação e um para fornecimento de água. Eram alimentados com feno *coast-cross* e água *ad-libitum*, além de 2kg de ração comercial de manutenção fracionada em duas vezes ao dia. A cama utilizada foi de maravalha, sendo realizada a limpeza das baias diariamente.

Antes do início da fase experimental todos os animais foram submetidos a exame clínico completo para verificar o seu estado de saúde geral e sanidade do sistema respiratório. Para isso, foram realizadas as aferições da frequência cardíaca, frequência respiratória, motilidade intestinal, temperatura retal, inspeção das mucosas aparentes e tempo de preenchimento capilar, além de auscultação traqueal e pulmonar. Como exames complementares foram realizados lavado broncoalveolar para avaliação citológica e hemograma de todos os animais.

Ao longo da fase experimental foi realizado o acompanhamento do estado geral de saúde dos animais realizando exame físico antes e após cada etapa do experimento.

4.2 INALAÇÃO

Para administração da dexametasona diretamente nas vias respiratórias foi utilizado o método de nebulização pneumático. Para isso, foi utilizado um compressor de ar do modelo Pulmo-Aide 5650C, da marca DeVilbiss[®], que conforme descrito pelo fabricante e comprovado em testes antes da realização do experimento, gera um fluxo de ar de 8 l/min e pressão de 6 bar, o que segundo (BASTOS et al., 2001) é indicado para a nebulização em equinos.

O compressor era conectado a uma mangueira que conduz fluxo de ar gerado até uma cúpula onde entra em contato com o medicamento e forma o aerossol que, através do sistema da máscara facial do modelo Aeromask[®], é conduzido até as narinas para ser inalado pelo animal (Figura 1).

Figura 1 - Imagem ilustrando o procedimento de nebulização sendo realizado com máscara facial do tipo Aeromask[®] em equino



Fonte: Laboratório de medicina esportiva equina (LAMEQ)

Antes da realização do experimento foi feita uma sessão de nebulização com solução fisiológica para adaptação dos animais. Não foram realizadas mais sessões

para que o condicionamento dos equinos utilizados fosse próximo ao dos animais que não estão acostumados com este procedimento, e assim, mimetizasse as condições encontradas pelo veterinário na rotina clínica.

4.3 TRATAMENTOS

A dose de Dexametasona utilizada para nebulização dos animais foi de 0,05 mg/kg e a concentração utilizada na formulação do fármaco foi de 5 mg/ml. Para que em todos os animais o volume a ser nebulizado fosse o mesmo, estabeleceu-se 10 ml como volume total padrão, que era composto da Dexametasona calculada para aquele animal e completado com solução fisiológica.

Com o objetivo de analisar se o veículo utilizado na formulação do medicamento interfere no seu grau de deposição pulmonar, foram utilizadas duas formulações nesse experimento, obtidas em uma farmácia de manipulação de medicamentos veterinários.

Na formulação da Dexametasona utilizada no Tratamento 1 (T1), foi utilizado o veículo totalmente aquoso (água destilada), enquanto que no tratamento 2 (T2) o veículo era composto de água destilada e propilenoglicol (substância oleosa) em mesma proporção, ou seja, 50% de cada composto.

Todos os animais foram submetidos primeiramente à inalação com Dexametasona em veículo aquoso (T1), e, após 15 dias eles foram submetidos à inalação com Dexametasona em veículo oleoso (T2). Por fim, quatro animais foram submetidos à inalação apenas com os veículos utilizados na formulação, sendo que em dois foi utilizado o veículo aquoso e nos outros dois o veículo oleoso.

4.4 COLHEITA DE AMOSTRAS

Imediatamente (prazo máximo de 15 minutos) após a realização da inalação foi realizada uma colheita de lavado broncoalveolar (LBA) e foram realizadas 14 colheitas de sangue nos seguintes momentos:

- M0 – Antes da Inalação;
- M1 – Imediatamente após a inalação;
- M2 – 15 minutos após a inalação;
- M3 – 30 minutos após a inalação;
- M4 – 45 minutos após a inalação;
- M5 – 60 minutos após a inalação;
- M6 – 2 horas após a inalação;
- M7 – 4 horas após a inalação;
- M8 – 8 horas após a inalação;
- M9 – 12 horas após a inalação;
- M10 – 24 horas após a inalação;
- M11 – 36 horas após a inalação;
- M12 - 48 horas após a inalação;
- M13 – 72 horas após a inalação.

4.4.1 Lavado Broncoalveolar

O lavado broncoalveolar foi realizado para avaliar a quantidade de dexametasona que atingiu as vias aéreas inferiores em nível de bronquíolos e sacos alveolares, sendo que para isso foi utilizada a técnica descrita por (HOFFMAN; VIEL, 1997) com as adaptações sugeridas por (LESSA, 2003), que recomenda a utilização de um cateter com “cuff” (BIVONA[®]), que possui três metros de comprimento e dez milímetros de diâmetro.

Seguindo essa técnica, os animais eram posicionados no tronco de contenção com a cabeça e pescoço estendidos, sedados com Xilazina na dose de 0,5 mg/kg e contidos fisicamente com cachimbo. A sonda era introduzida pelo meato nasal ventral até atingir a região da carina, onde era instilado 20 ml de solução de lidocaína (0,5%, sem vasoconstritor) para diminuir o estímulo ao reflexo da tosse. Continuava-se a progressão da sonda até encontrar resistência. Nesse ponto era inflado o cuff e se iniciava o processo de lavagem utilizando 40 ml de solução

fisiológica 0,9%, introduzida lentamente e imediatamente aspirada por sucção leve com seringa até que se recuperasse um volume mínimo de 15 ml com significativa quantidade de líquido surfactante, representado pela formação de espuma no material aspirado (Figura 2). As amostras foram condicionadas em tubos Falcon® e conservadas a uma temperatura de 20 graus negativos até o momento das análises.

Figura 2 - Amostra de Lavado Broncoalveolar com grande quantidade de espuma, representando boa recuperação de líquido surfactante



Fonte: Laboratório de medicina esportiva equina (LAMEQ)

4.4.2 Colheita de sangue

A colheita de sangue foi feita para verificar se a Dexametasona atinge níveis plasmáticos significativos quando administrada diretamente nas vias aéreas, e se possível então, realizar uma avaliação da sua farmacocinética quando administrada por esta via.

Para isso os animais foram preparados previamente com tricotomia e antissepsia da região de acesso da veia jugular esquerda, no terço médio do pescoço, e então foi colocado um cateter 16G nesse vaso. Em seguida o cateter foi fixado e acoplado a um tubo extensor que, fixado ao pescoço, facilitava a manipulação e coletas de sangue. Ao final deste procedimento e de cada coleta, esse sistema era preenchido com solução heparinizada na concentração de 10000

UI/L. As amostras foram coletadas em tubos siliconizados sem anticoagulantes e tubos siliconizados com EDTA para se obter soro e o plasma dessas amostras, respectivamente. O conteúdo obtido foi acondicionado em microtubos de um ml e congelados à 20 graus negativos para posterior análise.

4.5 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

A quantificação da dexametasona nas amostras de sangue e de lavado bronco alveolar foi realizada empregando-se um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjos de diodos (CLAE-DAD) Shimadzu, com degaseificador DGU 20A, bomba LC 20AD, injetor automático SIL 20AC HT, integrador CBM 20A, detector de arranjos diodos SPD M20A e forno STD 20A.

Foi utilizada a coluna Shimpack CLD-ODS com dimensões de 15 cm x 4,6 mm x 5 µL e o volume de injeção foi de 30 µL. A temperatura do forno foi constante em 30°C e o comprimento de onda foi ajustado em 254 nm para obter melhor resolução do pico cromatográfico.

A fase móvel foi composta por água-acetonitrila (70:30, v/v), empregando-se a eluição isocrática e um fluxo constante de 1.000 µL/min. O tempo de corrida cromatográfica foi de 3 minutos.

O cálculo da concentração (µg/ml) da dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar foi feito multiplicando-se o seu valor quantificado na cromatografia líquida de alta eficiência pelo fator de correção da ureia, que é a relação entre a concentração sérica da ureia e a sua concentração no lavado broncoalveolar. Isso é possível pois a ureia possui alta capacidade de difusão entre os tecidos, o que faz com que ela se mantenha em concentrações semelhantes nos diversos fluidos corporais, como o sangue e líquido surfactante, por exemplo (FERNANDES 2001; PORTO et al., 2010).

4.6 EXTRAÇÃO

A extração líquido - líquido “temperatura abaixo de zero” mostrou-se adequada para o presente trabalho. Consiste em uma extração líquido-líquido com acetonitrila e amostra (1:1), onde a acetonitrila é separada da fase aquosa a -20°C devido ao fenômeno de hidrofobicidade (YOSHIDA, 1999).

Para obtenção de cada amostra biológica processada, adicionou-se 0,4 mL da amostra em microtubo com capacidade de 1,5 mL e 0,4 mL de acetonitrila.

Os microtubos foram vigorosamente agitados em vórtex por 30 segundos e centrifugados, por 5 minutos, a 1200 g. Retirou-se a fase orgânica e injetou-se 30 μL no equipamento CLAE-DAD.

4.6.1 Curvas analíticas

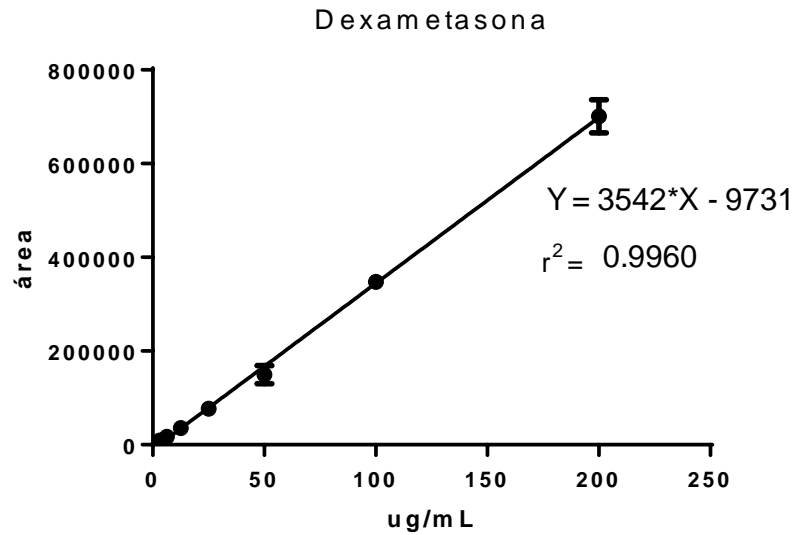
A solução padrão estoque de dexametasona, em acetonitrila, para construção da curva analítica, foi preparada individualmente em balão volumétrico obtendo-se a concentração de 1.000 $\mu\text{g/mL}$, sendo estocada a -20°C .

Foram realizadas triplicatas de sete níveis distintos de concentração, em matriz biológica para obter concentrações que variaram de 3,125 a 200 $\mu\text{g/mL}$. Essas soluções fortificadas foram alcançadas através de diluição da solução estoque em lavado bronco alveolar branco, ou seja, de um animal controle.

Foi, então, construído o gráfico da curva analítica, o qual foi examinado visualmente, e a regressão linear foi calculada pelo método dos mínimos quadrados, utilizando-se o software GraphPad Prism 6 (GraphPad Software Inc.).

A figura 3 mostra curva de calibração foi obtida a partir de três curvas, contendo diferentes concentrações (3,125 a 200 $\mu\text{g/mL}$) do padrão de dexametasona em matriz biológica.

Figura 3 - Curva de calibração, equação da reta e coeficiente de correlação (r^2) da dexametasona na faixa de 3,125 a 200 $\mu\text{g/mL}$, em lavado bronco alveolar



4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar se houve diferença significativa entre as médias obtidas pelos grupos nos diferentes tratamentos e a sua relação com as demais variáveis foi feita uma análise de variância através do teste Anova.

5 RESULTADOS

Nenhum dos animais apresentou alterações detectáveis no exame físico e nos exames complementares realizados antes do início e durante a execução do experimento, sendo então todos considerados hígidos e aptos a participar do projeto.

O procedimento de nebulização pneumática com a máscara facial do tipo Aeromask[®] se mostrou eficiente, permitindo a nebulização de todo o volume proposto em todos os animais.

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência utilizada para a quantificação de dexametasona foi eficaz, apresentando excelentes níveis de linearidade ($r^2 = 0,9960$) quando utilizada com amostras de concentração previamente estabelecidas. O limite de detecção (LD) foi de 0,78 µg/ml e o limite de quantificação (LQ) foi de 3,125 µg/ml.

A dexametasona foi identificada em todas as amostras de lavado broncoalveolar dos animais nos grupos tratados que receberam o fármaco via nebulização, e não foi identificada nas amostras dos animais pertencentes ao grupo controle, que receberam somente os veículos na nebulização (Tabela 1).

Para a quantificação de dexametasona no sangue, foram primeiramente analisadas as amostras de todos os momentos (M0 ao M13) do cavalo número 1, e a dexametasona não foi encontrada em nenhuma destas amostras. Para a pesquisa nos outros animais foram então selecionados dois momentos, M2 e M5 (15 e 60 minutos após o término da inalação, respectivamente), e mais uma vez, a dexametasona não foi identificada em nenhuma das amostras analisadas.

A concentração da dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar foi calculada utilizando-se o fator de correção pela ureia (Apêndice A), e os seus valores apresentaram considerável variação entre os animais, o que dificultou a análise estatística por elevar significativamente o coeficiente de variação.

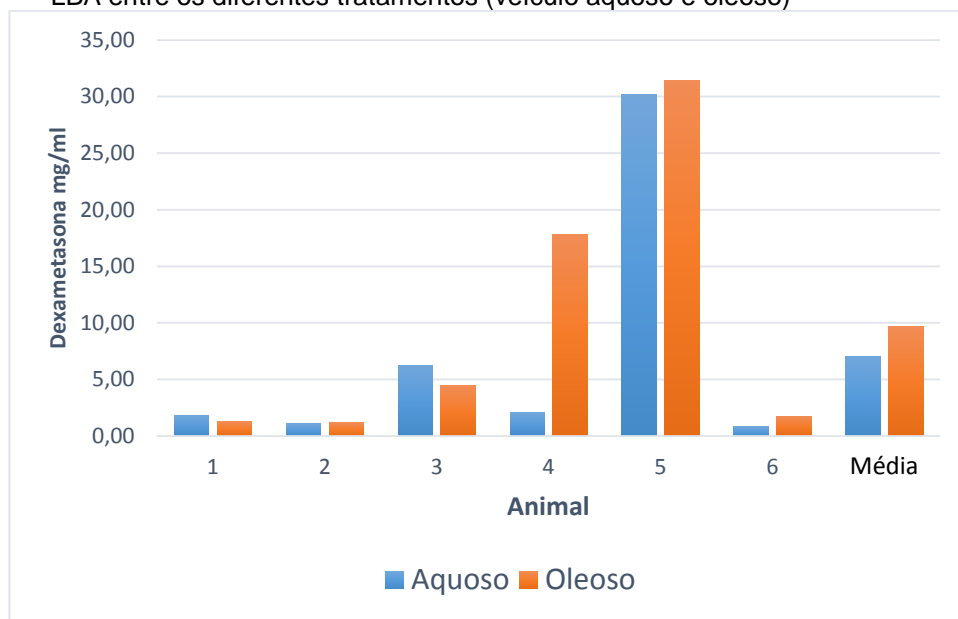
Na comparação entre os tratamentos, o grupo oleoso apresentou em média valores de concentração de dexametasona no LBA acima dos observados no

tratamento com veículo aquoso (Gráfico 1), no entanto, não houve diferença estatística significativa (Tabela 1).

Tabela 1 - Concentração de dexametasona (mg/ml) nas amostras de lavado broncoalveolar dos animais em ambos os tratamentos

| Animal | Tratamento | | | Média do animal |
|---------------------|------------|--------|----------|-----------------|
| | Aquoso | Oleoso | Controle | |
| 1 | 1,79 | 1,32 | 0 | 1,56 |
| 2 | 1,11 | 1,21 | 0 | 1,16 |
| 3 | 6,28 | 4,43 | 0 | 5,35 |
| 4 | 2,07 | 17,80 | 0 | 9,94 |
| 5 | 30,18 | 31,47 | - | 30,82 |
| 6 | 0,87 | 1,76 | - | 1,32 |
| Média do tratamento | 7,05 | 9,67 | 0 | |

Gráfico 1 - Comparação dos valores de concentração da dexametasona (mg/ml) nas amostras de LBA entre os diferentes tratamentos (veículo aquoso e oleoso)

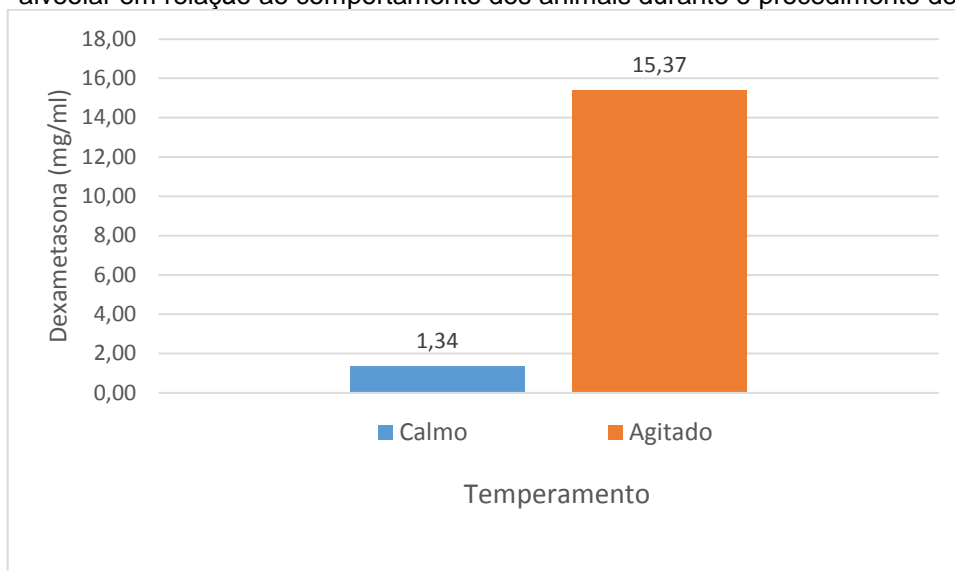


Dos seis animais utilizados no experimento, três adaptaram-se bem ao procedimento de nebulização desde o início e permaneceram calmos durante o processo em todas as fases do projeto. Os outros três animais, que já possuíam um

perfil mais agitado, apresentaram-se inquietos durante a inalação, dificultando o seu manuseio e contenção, mas não impossibilitando a realização dos procedimentos.

Ao agruparmos os animais em dois grupos tendo como critério de classificação o seu comportamento, observamos uma expressiva diferença na concentração de dexametasona entre os animais calmos e agitados, sendo estatisticamente significativo ($p < 0,0001$), conforme ilustrado no Gráfico 2.

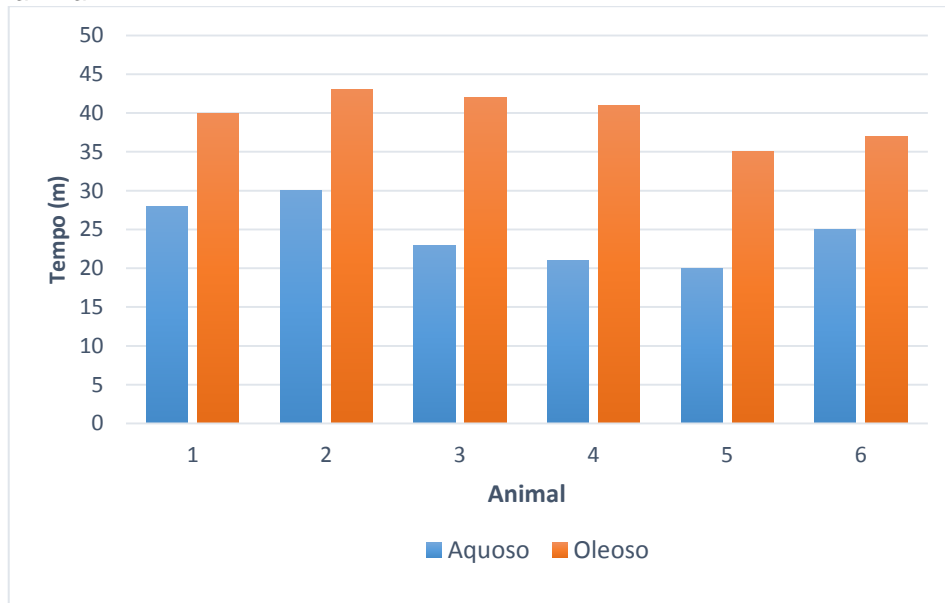
Gráfico 2 - Comparação dos valores de dexametasona observados nas amostras de lavado bronco alveolar em relação ao comportamento dos animais durante o procedimento de inalação



Em vista dessa diferença, também foi realizada uma análise estatística em fatorial para identificar se haveria alguma interação entre os veículos e o comportamento animal, sugerindo, por exemplo, qual a combinação tratamento/comportamento teria uma melhor interação. Entretanto, não houve diferença estatística nessa análise.

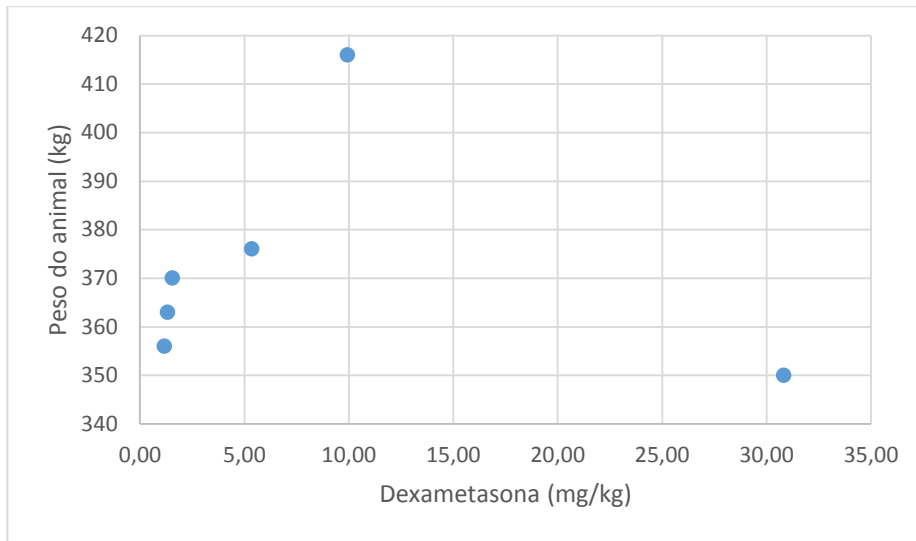
Outro parâmetro que apresentou diferença significativa entre os tratamentos foi o tempo de inalação, no qual o grupo oleoso necessitou de um tempo maior para a nebulização de todo o volume a ser administrado (Gráfico 3).

Gráfico 3 - Relação entre veículo utilizado e o tempo de duração da inalação (minutos) em cada animal



As dimensões do trajeto no sistema respiratório que deve ser percorrido pelo fármaco nebulizado poderiam interferir no seu nível de deposição pulmonar, com o intuito de esclarecer essa dúvida foi realizada a comparação entre o peso do animal e a concentração de dexametasona no LBA (Gráfico 4), entretanto, não houve uma distribuição normal dos valores de concentração da dexametasona no LBA em relação ao peso, indicando que não houve interação entre esses dois fatores. Por exemplo, o animal que apresentou os maiores níveis de dexametasona no LBA é o menor de todos os utilizados, entretanto, o animal que apresentou o segundo maior valor de concentração da dexametasona no LBA é o maior de todos os animais, mostrando a falta de correlação entre esses parâmetros.

Gráfico 4 - Correlação entre o peso do animal e o valor médio da dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar deste animal nos dois tratamentos



6 DISCUSSÃO

Não foram encontrados na literatura estudos que avaliassem a administração da dexametasona por via inalatória, o que gerou dúvidas no momento de se estabelecer os métodos que seriam utilizados para administração e quantificação da dexametasona nesse experimento. Isto implicou na necessidade de realizar o estudo com base em trabalhos sobre outros fármacos extrapoláveis ao aqui estudado e também a realização de várias tentativas até se atingir o êxito na administração e quantificação do fármaco.

Segundo Bastos et al. (2001), para que o fármaco administrado via nebulização ultrapasse as barreiras existentes nas vias aéreas superiores e atinja as vias inferiores de equinos, apresentando bons índices de deposição pulmonar, é necessário que o aerossol formado tenha um diâmetro menor do que 5 μm . Para que isso seja possível o compressor de ar deve gerar um fluxo mínimo de 6 a 8 l/min, o que foi verificado antes da realização das nebulizações neste projeto, através medições de fluxo no compressor do modelo Pulmo-Aide 5650C, da marca DeVilbiss[®], que atendeu aos requisitos descritos acima e foi então utilizado na execução do experimento.

A máscara facial para equinos, do modelo Aeromask[®] de tamanho médio, se adequou ao formato e tamanho da cabeça dos animais utilizados no presente estudo, permitindo um bom fluxo de ar aos animais na maioria das vezes, salvo nos casos em que os animais ficavam mais agitados e ofegantes, quando foi necessário a abertura parcial de uma das válvulas que impedem a entrada de ar no sistema, para assim atender as requisições momentâneas de maior fluxo de ar inspiratório pelo animal.

Desta forma, o conjunto utilizado para a inalação dos animais foi eficiente ao administrar todo o volume (10ml) em um prazo máximo de 43 minutos. Outro ponto positivo é que não foi observado qualquer tipo de reação adversa ou manifestação clínica nos animais durante ou após o tratamento.

Ao se identificar e quantificar a dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar foram respondidos afirmativamente dois questionamentos propostos nesse trabalho, sendo um deles o de que a metodologia de se realizar um lavado

broncoalveolar e analisa-lo em cromatografia líquida de alta eficiência seguindo a técnica utilizada neste experimento é capaz de verificar a presença de substâncias na luz de bronquíolos e alvéolos.

Mckenzie III e Murray (2000) também obtiveram êxito ao analisar o lavado broncoalveolar de equinos com o objetivo de verificar a concentração de determinado fármaco após este ser administrado via inalatória. No trabalho em questão os autores verificaram a deposição pulmonar da gentamicina foi significativamente maior quando administrada via inalatória em relação à via intravenosa.

No presente estudo a colheita do lavado foi feita por meio de sonda, que segundo Hodgson e Hodgson (2007) permite a obtenção de amostra da região mais caudal do pulmão, mais especificamente, da região caudal dorsal do pulmão direito, já que a sonda é direcionada naturalmente para essa região devido as características anatômicas das vias aéreas. Mckenzie III e Murray (2000) tinham também por objetivo verificar a distribuição da droga na área pulmonar, para isso utilizaram endoscópio para realizar a coleta do lavado direcionando-o para vários pontos dos dois pulmões, e verificaram que não houve diferença significativa nos valores de concentração da gentamicina nos diferentes pontos, mostrando uma distribuição homogênea da droga quando administrada por via inalatória.

Como já foi dito anteriormente, é frequente a ocorrência de afecções inflamatórias como a obstrução recorrente das vias aéreas e a doença inflamatória das vias aéreas em equinos (VIEL, 1997; PIRIE, 2014; COUETIL et al., 2016). O tratamento dessas doenças tem como um dos principais meios de intervenção terapêutica a administração de medicamentos glicocorticoides (DAVIS; RUSH, 2002), sendo a dexametasona um dos fármacos dessa categoria mais utilizados na medicina equina (BERTONE; HORSPOOL, 2004).

Na medicina humana também é de grande relevância a ocorrência de doenças inflamatórias no sistema respiratório (VIEGI et al., 2001; HOLMBERG et al., 2015; LIU et al., 2015; PATEL et al., 2015), cuja patogenia se assemelha em muitos aspectos às afecções deste gênero em equinos (AHARONSON-RAZ et al., 2012; BULLONE; LAVOIE, 2015) e o tratamento também se baseia muitas vezes na corticoterapia (WELTE, 2009; DURHAM et al., 2015). Entretanto, na medicina

humana a principal via de administração utilizada nesses casos é a inalatória, pois assim é possível aumentar a concentração local do fármaco sem aumentar a sua concentração sistêmica, otimizando o seu efeito no sítio desejado e minimizando os efeitos colaterais (ALLEN et al., 2003; BECKHAUS; RIUTORT; CASTRO-RODRIGUEZ, 2014; LOYMANS et al., 2014).

Em equinos existem trabalhos que avaliaram técnicas de administração de fármacos glicocorticoides diretamente nas vias aéreas e comprovaram a sua deposição pulmonar (AMMANN; VRINS; LAVOIE, 1998; GIGUÈRE et al., 2002; COUËTIL et al., 2006; GRAY et al., 2013), entretanto, os princípios ativos utilizados nesses estudos foram fluticasona e beclometasona. Existem trabalhos que avaliam a administração de dexametasona por via inalatória em humanos e cobaias (SCARFONE et al., 1995; YAN et al., 2012), porém não foram encontrados na literatura estudos nesse sentido voltados para a espécie equina.

Em vista disso esse trabalho tinha como objetivo principal avaliar se quando administrada via nebulização a dexametasona atingiria a região terminal das vias aéreas inferiores, indicando assim a possibilidade de utilização deste fármaco por essa via de administração.

Ao se constatar a presença e ainda quantificar a dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar após a sua administração via inalação, foi comprovado que quando administrada por meio de nebulização pneumática a dexametasona atinge a região de bronquíolos e alvéolos pulmonares em equinos, tornando factível a sua administração por esta via para atuar nesses locais.

Outro resultado interessante a ser discutido é o fato de que a dexametasona não foi detectada nas amostras de sangue, o que quando confrontado com os dados da sua quantificação no lavado broncoalveolar nos informa que o fármaco atingiu as vias aéreas, mas não foi absorvido em quantidade e de maneira rápida o suficiente para atingir uma concentração plasmática detectável pela técnica utilizada (limite de detecção 0,78 µg/ml). Essa informação nos sugere um bom nível de segurança para administração da droga pela via inalatória, uma vez que os efeitos colaterais causados pelos medicamentos corticoides são dependentes do seu nível de concentração plasmática e do tempo em que permaneceu em alta concentração no sangue (BERTONE; HORSPOOL, 2004).

Para avaliar se a ao chegar no local a dexametasona é capaz de gerar efeito anti-inflamatório são necessários estudos com metodologia voltada à essa questão, entretanto, existem várias indicações da utilização da dexametasona por administração direta no local de ação, como administração local para atuar em articulações (KANEPS et al., 2002; HUEBNER; SHRIVE; FRANK, 2014) olho (YAMAGATA; WILKIE; GILGER, 1996; BRATTON; HE; WEAKLEY, 2014; TOMKINS-NETZER et al., 2014; WALTERS et al., 2015), orelha (LEE et al., 2015; PANCHASARA et al., 2015), cavidade oral (PARK et al., 2013), faringe (BASUNI; EZZ; ALBIRMAWY, 2013) e aplicação tópica para atuar diretamente na pele (YARWOOD et al., 1993) ou em nervos adjacentes (JANG; CHO; CHOI, 2012), por exemplo, com inúmeros trabalhos comprovando a sua eficácia quando aplicada diretamente no tecido em que é desejado a sua atuação como medicamento antiinflamatório. Portanto, baseado nessas informações pode-se inferir que a dexametasona ao atingir as vias aéreas inferiores seja capaz de gerar efeito antiinflamatório diretamente nesses locais.

Outro objetivo do trabalho era avaliar se há diferença nos níveis de deposição pulmonar da dexametasona de acordo com o veículo utilizado na sua formulação, uma vez que vários autores sugerem que exista interferência da viscosidade do fármaco na sua vaporização e deposição pulmonar (MC CALLION; PATEL, 1996; BASTOS et al., 2001; GRONEBERG et al., 2003; LABIRIS; DOLOVICH, 2003; BECK-BROICHSITTER et al., 2014), ainda que não exista um consenso sobre a relação entre esses fatores.

No presente trabalho a média de concentração de dexametasona nas amostras de lavado broncoalveolar dos animais que receberam dexametasona em veículo oleoso (9,67 mg/ml) foi maior do que a média do grupo aquoso (7,05 mg/ml), no entanto, não houve diferença estatística entre os grupos. Esse resultado parece estar de acordo com alguns resultados obtidos por (MC CALLION; PATEL, 1996) que mostram que pode não haver linearidade entre a viscosidade da solução e o tamanho das partículas formadas pela sua vaporização.

Em contrapartida, ao se comparar a duração do processo de nebulização das soluções com diferentes veículos foi encontrada uma diferença estatística significativa de que o veículo oleoso necessitou de um tempo médio maior (39,67 minutos) para que ocorresse a vaporização de todo o seu volume em relação ao

veículo aquoso (média de 24,5 minutos), corroborando com (PEREIRA, 1998) e podendo ser considerado um ponto vantajoso ao veículo aquoso, pois provavelmente quanto menor for o tempo necessário para a realização da inalação, maior deve ser a aceitação do responsável pelo animal em realizar o procedimento e também menor será o estresse a que o animal é submetido.

Um resultado surpreendente foi observado ao analisarmos o nível de deposição pulmonar da dexametasona em comparação ao comportamento dos animais, pois os cavalos que possuem perfil mais agitado e permaneceram inquietos durante o processo de nebulização apresentaram uma concentração média de dexametasona no lavado broncoalveolar cerca de onze vezes maior do que aquela observada nos animais mais calmos.

O fluxo dos equinos em repouso é muito menor do que quando em exercício, e os animais quando estão agitados podem adotar um padrão respiratório semelhante ao que apresentam durante ou após o exercício, no qual aumentam o seu volume minuto através do aumento da frequência respiratória e do volume corrente (ROBINSON, 2007). Em humanos já é descrito que esse tipo de padrão respiratório é considerado o ideal por ser mais eficiente no que diz respeito à deposição pulmonar de fármacos administrados por via inalatória (PEREIRA, 1998), entretanto, seres humanos quando estão agitados adotam um padrão respiratório em que aumentam a frequência e a superficialidade da respiração, diminuindo assim a deposição pulmonar do medicamento, diferindo então do que foi observado nos equinos no presente estudo. Com isso pode se sugerir que é possível otimizar a deposição pulmonar de fármacos administrados por via inalatória em equinos ao provocar um aumento no seu esforço respiratório, como a realização de exercício imediatamente antes da inalação ou indução de breves momentos de hipercapnia.

Outro fator que acreditava-se que pudesse interferir na deposição pulmonar da dexametasona são as dimensões das vias aéreas do animal, que aqui foram avaliadas indiretamente através do peso corporal dos indivíduos. Porém não houve correlação entre a concentração de dexametasona obtida no lavado broncoalveolar e o peso do animal, mas, como o número amostral nesse experimento era pequeno para esse tipo de análise e o peso dos animais apresentou considerável variação dentro do grupo, são necessários mais estudos nesse sentido para que se possa ter uma melhor avaliação da correlação entre esses parâmetros.

7 CONCLUSÕES

A Dexametasona, quando administrada via nebulização pneumática em equinos, atinge as vias aéreas inferiores a nível de bronquíolos e alvéolos. Não houve diferença significativa entre os veículos utilizados na formulação da dexametasona quanto a deposição pulmonar do fármaco, mas quanto ao tempo de duração da inalação o veículo aquoso foi vaporizado mais rapidamente do que o oleoso.

O comportamento do animal mostrou expressiva interferência no nível de deposição pulmonar da dexametasona, uma vez que os animais agitados apresentaram concentrações significativamente mais elevadas do fármaco nas amostras de lavado broncoalveolar.

Não foi possível detectar o fármaco no plasma dos animais, sugerindo um bom nível de segurança quanto a ocorrência e efeitos colaterais sistêmicos, entretanto, são necessários maiores estudos para que se confirme essa sugestão.

REFERÊNCIAS

- AHARONSON-RAZ, K.; LOHMANN, K. L.; TOWNSEND, H. G.; MARQUES, F.; SINGH, B. Pulmonary intravascular macrophages as proinflammatory cells in heaves, an asthma-like equine disease. **American Journal of Physiology. Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 303, n. 3, p. L189–98, 2012.
- ALLEN, D. B.; BIELORY, L.; DERENDORF, H.; DLUHY, R.; COLICE, G. L.; SZEFLER, S. J. Inhaled corticosteroids: past lessons and future issues. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 112, p. S1–S40, 2003.
- AMMANN, V. J.; VRINS, A. A.; LAVOIE, J. P. Effects of inhaled beclomethasone dipropionate on respiratory function in horses with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Equine Veterinary Journal**, v. 30, n. 2, p. 152–157, 1998.
- AVIZA, G. A.; AINSWORTH, D. M.; EICKER, S. W.; SANTIAGO, M. A.; DIVERS, T. J.; PERKINS, G. A. Outcome of horses diagnosed with and treated for RAO_ Case Report. **Equine Veterinary Education**, v. 13, n. 5, p. 243–246, 2001.
- BACCARIN, R. Y. A.; ALVARENGA, J. De; FANTONI, D. T.; SILVA, L. C. L. C. Da. Toracotomia em eqüinos sob anestesia com ventilação mecânica controlada. **Ciência Rural**, v. 28, n. 2, p. 263-270, 1998.
- BASTOS, M.; DUVIDIER, D. H.; VOTION, D.; ART, T.; LEKEUX, P. Aerosolterapia nas doenças respiratórias em equinos. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 38, n. 2, p. 88–96, 2001.
- BASUNI, A. S.; EZZ, H. A. A.; ALBIRMAWY, O. A. Preoperative peritonsillar infiltration of dexamethasone and levobupivacaine reduces pediatric post-tonsillectomy pain: A double-blind prospective randomized clinical trial. **Journal of Anesthesia**, v. 27, n. 6, p. 844–849, 2013.
- BECK-BROICHSITTER, M.; PRIFER, N.; OESTERHELD, N.; SEEGER, W.; SCHMEHL, T. Nebulization of active pharmaceutical ingredients with the eFlow ??rapid: Impact of formulation variables on aerodynamic characteristics. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 8, p. 2585–2589, 2014.
- BECKHAUS, A. A.; RIUTORT, M. C.; CASTRO-RODRIGUEZ, J. A. Inhaled versus systemic corticosteroids for acute asthma in children. A systematic review. **Pediatric Pulmonology**, v. 49, n. 4, p. 326–334, 2014.
- BEDENICE, D.; MAZAN, M. R.; HOFFMAN, A. M. Association between cough and cytology of bronchoalveolar lavage fluid and pulmonary function in horses diagnosed with inflammatory airway disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 4, p. 1022–1028, 2008.
- BERTONE, J. J.; HORSPOOL, L. J. I. Equine clinical pharmacology. **Igarss 2004**, n. 1, p. 1–5, 2004.

BOSSHARD, S.; GERBER, V. Evaluation of coughing and nasal discharge as early indicators for an increased risk to develop equine recurrent airway obstruction (RAO). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 2, p. 618–623, 2014.

BOWLES, K. S.; BEADLE, R. E.; MOUCH, S.; POURCIAU, S. S.; LITTLEFIELD-CHABAUD, M. A.; LE BLANC, C.; MISTRIC, L.; FERMAGLICH, D.; HOROHOV, D. W. A novel model for equine recurrent airway obstruction. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 87, n. 3-4, p. 385–389, 2002.

BRATTON, M. L.; HE, Y. G.; WEAKLEY, D. R. Dexamethasone intravitreal implant (Ozurdex) for the treatment of pediatric uveitis. **Journal of AAPOS**, v. 18, n. 2, p. 110–113, 2014.

BUECHNER-MAXWELL V. Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms and the RAO horse. In: **Proceedings of the ACVIM, Anais...2004**.

BULLONE, M.; LAVOIE, J. P. Asthma “of horses and men”-How can equine heaves help us better understand human asthma immunopathology and its functional consequences? **Molecular Immunology**, v. 66, n. 1, p. 97–105, 2015.

CARDWELL, J. M.; CHRISTLEY, R. M.; GERBER, V.; MALIKIDES, N.; WOOD, J. L. N.; NEWTON, J. R.; HODGSON, J. L. What’s in a name? Inflammatory airway disease in racehorses in training. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 6, p. 756–758, 2011.

CHANEZ, P.; BOURDIN, a; VACHIER, I.; GODARD, P.; BOUSQUET, J.; VIGNOLA, a M. Effects of inhaled corticosteroids on pathology in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. **Proceedings of the American Thoracic Society**, v. 1, n. 3, p. 184–90, 2004. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16113433>>

COUËTIL, L. L.; ART, T.; DE MOFFARTS, B.; BECKER, M.; MÉLOTTE, D.; JASPAR, F.; BUREAU, F.; LEKEUX, P. Effect of beclomethasone dipropionate and dexamethasone isonicotinate on lung function, bronchoalveolar lavage fluid cytology, and transcription factor expression in airways of horses with recurrent airway obstruction. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 2, p. 399–406, 2006.

COUËTIL, L. L.; CARDWELL, J. M.; GERBER, V.; LAVOIE, J.-P.; EGUILLETTE, R. L.; RICHARD, E. A. Inflammatory airway disease of horses—Revised consensus statement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, 2016.

COUËTIL, L. L.; WARD, M. P. Analysis of risk factors for recurrent airway obstruction in North American horses: 1,444 cases (1990-1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 223, n. 11, p. 1645–1650, 2003.

DAVIS, E.; RUSH, B. R. Equine recurrent airway obstruction: pathogenesis, diagnosis, and patient management. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 18, n. 3, p. 453–467, 2002.

DURHAM, A. L.; CARAMORI, G.; CHUNG, K. F.; ADCOCK, I. M. Targeted anti-inflammatory therapeutics in asthma and chronic obstructive lung disease.

Translational Research: the journal of laboratory and clinical medicine, v. 167, n. 1, p. 1–12, 2015.

DUVIVIER, D. H.; VOTION, D.; VANDENPUT, S.; LEKEUX, P. Aerosol therapy in the equine species. **The Veterinary Journal**, v. 154, n. 3, p. 189–202, 1997. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023397800202>>.

FERNANDES, W. R.; MORI, E.; SANCHES, A. Avaliação citológica de lavados traqueobrônquico e broncoalveolar em cavalos clinicamente saudáveis pelo método de coloração de Rosenfeld. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 6, p. 604–609, 2000.

FERNANDES, W. R.; SANCHES, A.; RAMOS, M. C. C.; SOUZA, V. R. C.; COELHO, C. S. Achados microbiológicos do lavado traqueobrônquico de equinos clinicamente saudáveis e daqueles portadores de afecções do sistema respiratório atendidos no HOVET – USP. **ARS Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 73–79, 2011.

GIGUÈRE, S.; VIEL, L.; LEE, E.; MACKAY, R. J.; HERNANDEZ, J.; FRANCHINI, M. Cytokine induction in pulmonary airways of horses with heaves and effect of therapy with inhaled fluticasone propionate. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 85, n. 3-4, p. 147–158, 2002.

GRAY, B. P.; BIDDLE, S.; PEARCE, C. M.; HILLYER, L. Detection of fluticasone propionate in horse plasma and urine following inhaled administration. **Drug Testing and Analysis**, v. 5, n. 5, p. 306–314, 2013.

GRONEBERG, D. A.; WITT, C.; WAGNER, U.; CHUNG, K. F.; FISCHER, A. Fundamentals of pulmonary drug delivery. **Respiratory Medicine**, v. 97, n. 4, p. 382–387, 2003.

HARE, J. E.; VIEL, L. Pulmonary eosinophilia associated with increased airway responsiveness in young racing horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 12, n. 3, p. 163–170, 1998.

HERHOLZ, C.; STRAUB, R.; BRAENDLIN, C.; IMHOF, a; LÜTHI, S.; BUSATO, a. Measurement of tidal breathing flow-volume loop indices in horses used for different sporting purposes with and without recurrent airway obstruction. **The Veterinary record**, v. 152, n. 10, p. 288–92, 2003. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12650471>>.

HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling, Microbiology and Cytology of the Respiratory Tract. **Equine Respiratory Diseases**, 2002.

HODGSON, J. L.; HODGSON, D. R. Inflammatory airway disease. In: **Equine Respiratory Diseases**. 2002

HODGSON, J. L. ; HODGSON, D. R. Collection and analysis of respiratory tract samples. In: **Equine respiratory medicine and surgery**. [s.l: s.n.]p. 119–150.

HOFFMAN, A. M. Bronchoalveolar lavage technique and cytological diagnosis of small airway inflammatory disease. **Equine Veterinary Education**, v. 11, n. 6, p. 330–336, 1999.

HOFFMAN, A. M.; VIEL, L. Techniques for sampling the respiratory tract of horses. **The Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 13, n. 3, p. 463–475, 1997.

HOLMBERG, K.; LUNDHOLM, C.; ANCKARSATER, H.; LARSSON, H.; ALMQVIST, C. Impact of asthma medication and familial factors on the association between childhood asthma and attention-deficit/hyperactivity disorder: A combined twin- and register-based study. **Clinical and Experimental Allergy**, v. 45, n. 5, p. 964–973, 2015.

HOROHOV, D. W. Equine T-cell cytokines. Protection and pathology. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 16, n. 1, p. 1-14, 2000. .

HOTCHKISS, J. W.; REID, S. W.; CHRISTLEY, R. Construction and validation of a risk-screening questionnaire for the investigation of recurrent airway obstruction in epidemiological studies of horse populations in Great Britain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 75, n. 1-2, p. 8–21, 2006.

HUEBNER, K. D.; SHRIVE, N. G.; FRANK, C. B. Dexamethasone inhibits inflammation and cartilage damage in a new model of post-traumatic osteoarthritis. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 32, n. 4, p. 566–572, 2014.

IVESTER, K. M.; COUETIL, L. L.; MOORE, G. E.; ZIMMERMAN, N. J.; RASKIN, R. E. Environmental exposures and airway inflammation in young thoroughbred horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 3, p. 918–924, 2014.

IVESTER, K. M.; COU??TIL, L. L.; ZIMMERMAN, N. J. Investigating the Link between Particulate Exposure and Airway Inflammation in the Horse. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 28, n. 6, p. 1653–1665, 2014.

JANG, C. H.; CHO, Y. B.; CHOI, C. H. Effect of topical dexamethasone in reducing dysfunction after facial nerve crush injury in the rat. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, v. 76, n. 12, p. 1823–1826, 2012.

KANEPS, A. J.; CRAIG, A. M.; WALKER, K. C.; TRUE, J. E. Iontophoretic administration of dexamethasone into the tarsocrural joint in horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 63, n. 1, p. 11-14, 2002. .

KOBLINGER, K.; NICOL, J.; MCDONALD, K.; WASKO, A.; LOGIE, N.; WEISS, M.; LÉGUILLETTE, R. Endoscopic Assessment of Airway Inflammation in Horses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 5, p. 1118–1126, 2011.

KUSANO, K.; ISHIKAWA, Y.; SEKI, K.; KUSUNOSE, R. Characteristic of Inflammatory Airway Disease in Japanese thoroughbred racehorses. *Journal Equine Science*, v. 19, n. 2, p. 25-29, 2008. Favor ver esta referênci se está correta com os seus papeis.

LABIRIS, N. R.; DOLOVICH, M. B. Pulmonary drug delivery. Part II: the role of inhalant delivery devices and drug formulations in therapeutic effectiveness of aerosolized medications. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 56, n. 6, p. 600–612, 2003.

LAVOIE, J.-P.; CESARINI, C.; LAVOIE-LAMOUREUX, A.; MORAN, K.; LUTZ, S.; PICANDET, V.; JEAN, D.; MARCOUX, M. Bronchoalveolar lavage fluid cytology and cytokine messenger ribonucleic Acid expression of racehorses with exercise intolerance and lower airway inflammation. **Journal of Veterinary Internal Medicine / American College of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 322–9, 2011.

LECLERE, M.; LAVOIE-LAMOUREUX, A.; LAVOIE, J. P. Heaves, an asthma-like disease of horses. **Respirology**, v. 16, n. 7, p. 1027–1046, 2011.

LEE, M. Y.; LEE, J. H.; LEE, H. S.; CHOI, J.-J.; JANG, J.; CHOI, H.; OH, S.-H.; JANG, J. H. Continuous topical drug delivery using osmotic pump in animal cochlear implant model: Continuous steroid delivery is effective for hearing preservation. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 135, n. 8, p. 791–798, 2015.

LÉGUILLETTE, R. Recurrent airway obstruction - Heaves. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, v. 19, n. 1, p. 63–86, 2003.

LESSA, D. A. B. **Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) em eqüinos de policiamento na cidade do Rio de Janeiro, RJ**: estudo clínico e da atividade macrofágica alveolar. 2003. 102 f. Tese (Doutorado) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

LESSA, D. A. B.; JORGE, M. L. L. A.; LIMA, J. R. P. D. A.; FERNANDES, W. R. Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) em eqüinos de policiamento : estudo clínico. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 15, n. 21, p. 88–93, 2008.

LESSA, D. A. B.; MORI, E.; VIANA, E. B.; ORLEI, J. dos S.; MOREIRA, J. F. E.; FERNANDES, W. R. Lavado Broncoalveolar Em Eqüinos : Revisão De Literatura Parte 2 : Achados Citológicos. **Arq. Ciên. Vet. Zool. Unipar**, v. 10, n. 1, p. 31–38, 2007.

LESSA, D. A. B. ; VIANA, E. B. .; ABRAMOVITC, G. .; PAIVA, V. S. .; FERNANDES, W. R. Aspectos citológicos do lavado bronco-alveolar de equinos da polícia militar do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002, Gramado. **Anais...** Gramado. 2002.

LIU, Y.; PLEASANTS, R. A.; CROFT, J. B.; LUGOGO, N.; OHAR, J.; HEIDARI, K.; STRANGE, C.; WHEATON, A. G.; MANNINO, D. M.; KRAFT, M. Body mass index, respiratory conditions, asthma, and chronic obstructive pulmonary disease. **Respiratory Medicine**, v. 109, n. 7, p. 851–859, 2015.

LOYMANS, R. J. B.; GEMPERLI, A.; COHEN, J.; RUBINSTEIN, S. M.; STERK, P. J.; REDDEL, H. K.; JÜNI, P.; TER RIET, G. Comparative effectiveness of long term drug treatment strategies to prevent asthma exacerbations: network meta-analysis. **BMJ (Clinical Research ed.)**, v. 348, p. g3009, 2014.

- LURIA, J. W.; GONZALEZ-DEL-REY, J. a; DIGIULIO, G. a; MCANENEY, C. M.; OLSON, J. J.; RUDDY, R. M. Effectiveness of oral or nebulized dexamethasone for children with mild croup. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 155, n. 12, p. 1340–1345, 2001.
- MAZAN, M. R. Update on noninfectious inflammatory diseases of the lower airway. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 31, n. 1, p. 159–185, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.cveq.2014.11.008>>.
- MC CALLION, O. N. M.; PATEL, M. J. Viscosity effects on nebulisation of aqueous solutions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 130, n. 2, p. 245–249, 1996.
- MCKENZIE III, H. C.; MURRAY, M. J. Concentrations of gentamicin in serum and bronchial lavage fluid after intravenous and aerosol administration of gentamicin to horses. **American Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 10, p. 1185–1190, 2000.
- NYMAN, G.; LINDBERG, R.; WECKNER, D.; BJORK, M.; KVART, C.; PERSSON, S. G. B.; GUSTAFSSON, H.; HEDENSTIERNA, G. Pulmonary gas-exchange correlated to clinical signs and lung pathology in horses with chronic bronchiolitis. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, p. 253–260, 1991.
- OBA, Y.; LONE, N. A. Comparative efficacy of inhaled corticosteroid and long-acting beta agonist combinations in preventing COPD exacerbations: a Bayesian network meta-analysis. **International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease**, v. 9, p. 469–479, 2014.
- PANCHASARA, A.; SINGH, A.; MANDAVIA, D.; JHA, S.; TRIPATHI, C.; TAKHTASINHJI, S.; HOSPITAL, G. Efficacy and safety of ofloxacin and its combination with dexamethasone in chronic suppurative otitis media . A randomised , double blind , parallel group , comparative study. **Acta otorhinolaryngologica Italica: organo ufficiale della Società italiana di otorinolaringologia e chirurgia cervico-facciale** v. 35, n. 1, p. 39–44, 2015.
- PARK, A. R.; LA, H. O.; CHO, B. S.; KIM, S. J.; LEE, B. K.; RHIE, J. Y.; GWAK, H. S. Comparison of budesonide and dexamethasone for local treatment of oral chronic graft-versus-host disease. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 70, n. 16, p. 1383–1391, 2013.
- PATEL, M. R.; LEO, H. L.; BAPTIST, A. P.; CAO, Y.; BROWN, R. W. Asthma outcomes in children and adolescents with multiple morbidities: Findings from the National Health Interview Survey. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 135, n. 6, p. 1444–1449, 2015.
- PEREIRA, L. F. F. Como administrar drogas por via inalatória na asma. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 24, n. 3, p. 133–144, 1998.
- PIRIE, R. S. Recurrent airway obstruction: A review. **Equine Veterinary Journal**, v. 46, n. 3, p. 276–288, 2014.

- PORTO, A. C. R. C.; MIRANDOLA, R. M. S.; MORI, C. S.; FERNANDES, W. R. Ureia como marcador de diluição em amostras de lavado traqueobrônquico de potros com rodococose 1. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 749–753, 2010.
- REED, S.; BAYLY, W. M.; SELLON, D. **Equine internal medicine**. 2. ed.[s.l.]: Elsevier, 2004.
- ROBINSON, E. International Workshop on Equine Chronic Airway Disease Michigan State University 16-18 June 2000. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 1, p. 5–19, 2001.
- ROBINSON, N. E.; DERKSEN, F. J.; OLSZEWSKI, M. A.; BUECHNER-MAXWELL, V. a. The pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease of horses. **British Veterinary Journal**, v. 152, n. 3, p. 283–306, 1996.
- ROSENTHAL, F. S.; GRUNTMAN, A.; COUETIL, L. L. A Comparison of Total, Respirable, and Real-Time Airborne Particulate Sampling in Horse Barns. **Journal of Occupational and Environmental Hygiene**, v. 3, n. 11, p. 599–605, nov. 2006.
- RUSH, B. R.; RAUB, E. S.; RHOADS, W. S.; FLAMINIO, M. J. B. F.; MATSON, C. J.; HAKALA, J. E.; GILLESPIE, J. R. Pulmonary function in horses with recurrent airway obstruction after aerosol and parenteral administration of beclomethasone dipropionate and dexamethasone, respectively. **American Journal of Veterinary Research**, 1998.
- SANTOS, L. C. P.; MICHELOTTO, P. V. J.; KOZEMJAKIN, D. A. ACHADOS ENDOSCÓPICO E CITOLÓGICO DAS VIAS RESPIRATÓRIAS DE POTROS PURO SANGUE INGLÊS EM INÍCIO DE TREINAMENTO NO JÓQUEI CLUBE DO PARANÁ. **Arq. Ciên. Vet. Zool. Unipar**, v. 10, n. 1, p. 9–13, 2007.
- SCARFONE, R. J.; LOISELLE, J. M.; WILEY, J. F.; DECKER, J. M.; HENRETIG, F. M.; JOFFE, M. D. Nebulized dexamethasone versus oral prednisone in the emergency treatment of asthmatic children. **Annals of Emergency Medicine**, v. 26, n. 4, p. 480–6, 1995.
- SOLANO, L.; SOUZA, D. F. Aerosolterapia na asma da criança. **Jornal de Pediatria**, v. 74, p. 189–204, 1998.
- STAHN, C.; LÖWENBERG, M.; HOMMES, D. W.; BUTTGEREIT, F. Molecular mechanisms of glucocorticoid action and selective glucocorticoid receptor agonists. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v. 275, n. 1-2, p. 71–78, 2007.
- STOPYRA, A.; SOBIECH, P.; WACLAWSKA-MATYJASIK, A. Acid-base indicators in the venous and arterial blood of horses affected by recurrent airway obstruction (RAO). **Polish Journal of Veterinary Science**, v. 15, p. 463–467, 2012.
- TOMKINS-NETZER, O.; TAYLOR, S. R. J.; BAR, A.; LULA, A.; YAGANTI, S.; TALAT, L.; LIGHTMAN, S. Treatment with repeat dexamethasone implants results in long-term disease control in eyes with noninfectious uveitis. **Ophthalmology**, v. 121, n. 8, p. 1649–1654, 2014.

VIEGI, G.; SCOGNAMIGLIO, A.; BALDACCI, S.; PISTELLI, F.; CARROZZI, L. Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Respiration; International Review of Thoracic Diseases**, v. 68, n. 1, p. 4–19, 2001.

VIEL, L. Small airway disease as a vanguard for chronic obstructive pulmonary disease. **Veterinary Clinics of North America: equine practice**, 1997.

VOTION, D.; GHAFIR, Y.; MUNSTERS, K.; DUVIVIER, D. H.; ART, T.; LEKEUX, P. Aerosol deposition in equine lungs following ultrasonic nebulisation versus jet aerosol delivery system. **Equine veterinary journal**, v. 29, n. 5, p. 388–393, 1997.

WALTERS, T.; ENDL, M.; ELMER, T. R.; LEVENSON, J.; MAJMUDAR, P.; MASKET, S. Sustained-release dexamethasone for the treatment of ocular inflammation and pain after cataract surgery. **Journal of Cataract & Refractive Surgery**, v. 41, n. 10, p. 2049–2059, 2015.

WASKO, A. J.; BARKEMA, H. W.; NICOL, J.; FERNANDEZ, N.; LOGIE, N.; LÉGUILLETTE, R. Evaluation of a risk-screening questionnaire to detect equine lung inflammation: Results of a large field study. **Equine Veterinary Journal**, v. 43, n. 2, p. 145–152, 2011.

WELTE, T. Optimising treatment for COPD--new strategies for combination therapy. **International Journal of Clinical Practice**, v. 63, n. 8, p. 1136–49, 2009.

WOOD, J. L. N.; NEWTON, J. R.; CHANTER, N.; MUMFORD, J. A. Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. **Equine Veterinary Journal**, v. 37, n. 3, p. 236–242, 2005.

YAMAGATA, M.; WILKIE, D. a; GILGER, B. C. Eosinophilic keratoconjunctivitis in seven horses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. , n. , p. m 1996.

YAN, Y. M.; LI, Y. D.; SONG, X. L.; LIU, M. Y.; DIAO, F.; WANG, Y.; SUN, Y.; WANG, Z. H.; LU, J. Therapeutic effects of inhaling aerosolized surfactant alone or with dexamethasone generated by a novel noninvasive apparatus on acute lung injury in rats. **Journal of Trauma and Acute Care Surgery**, v. , n. , p. , 2012.

YARWOOD, H.; NOURSHARGH, S.; BRAIN, S.; WILLIAMS, T. J. Effect of dexamethasone on neutrophil accumulation and oedema formation in rabbit skin: an investigation of site of action. **British Journal of Pharmacology**, v. 108, n. 4, p. 959–66, 1993.

YODER JR., M. C.; CHUA, R.; TEPPER, R. Effect of dexamethasone on pulmonary inflammation and pulmonary function of ventilator-dependent infants with bronchopulmonary dysplasia. **Am.Rev.Respir.Dis.**, v. 143, n. 5 Pt 1, p. 1044–1048, 1991.

APÊNDICE A - Descrição dos tratamentos realizados em relação aos valores obtidos de dexametasona no lavado broncoalveolar (ex-LBA), ureia no LBA (U-LBA), ureia no soro (U-SORO), fator de correção da ureia (Fator), concentração de dexametasona no LBA em µg/ml ([]Dex-LBA (µg/ml), concentração de dexametasona no LBA em mg/ml ([]Dex-LBA (mg/ml), peso dos animais, duração da inalação em minutos (tempo) e temperamento dos animais.

| Tratamento | Animal | Dex-LBA | U-LBA | U-SORO | Fator | []Dex-LBA (µg/ml) | []Dex-LBA (mg/ml) | Peso (Kg) | Tempo (m) | Temperamento |
|-----------------|--------|---------|-------|--------|---------|--------------------|--------------------|-----------|-----------|--------------|
| Aquoso | 1 | 12,09 | 0,321 | 47,6 | 148,29 | 1792,79 | 1,79 | 370,0 | 28,0 | Calmo |
| | 2 | 8,13 | 0,317 | 43,2 | 136,28 | 1107,94 | 1,11 | 356,0 | 30,0 | Calmo |
| | 3 | 11,14 | 0,090 | 50,7 | 563,33 | 6275,53 | 6,28 | 376,0 | 23,0 | Agitado |
| | 4 | 14,48 | 0,325 | 46,5 | 143,08 | 2071,75 | 2,07 | 416,0 | 21,0 | Agitado |
| | 5 | 10,38 | 0,014 | 40,7 | 2907,14 | 30176,14 | 30,18 | 350,0 | 20,0 | Agitado |
| | 6 | 12,54 | 0,698 | 48,5 | 69,48 | 871,33 | 0,87 | 363,0 | 25,0 | Calmo |
| Oleoso | 1 | 6,73 | 0,228 | 44,7 | 196,05 | 1319,43 | 1,32 | 370,0 | 40,0 | Calmo |
| | 2 | 20,18 | 0,607 | 36,5 | 60,13 | 1213,46 | 1,21 | 356,0 | 43,0 | Calmo |
| | 3 | 14,7 | 0,128 | 38,6 | 301,56 | 4432,97 | 4,43 | 376,0 | 42,0 | Agitado |
| | 4 | 27,35 | 0,057 | 37,1 | 650,88 | 17801,49 | 17,80 | 416,0 | 41,0 | Agitado |
| | 5 | 38,23 | 0,039 | 32,1 | 823,08 | 31466,23 | 31,47 | 350,0 | 35,0 | Agitado |
| | 6 | 18,04 | 0,509 | 49,7 | 97,64 | 1761,47 | 1,76 | 363,0 | 37,0 | Calmo |
| Controle aquoso | 1 | 0 | 0,582 | 36,3 | 62,37 | 0,00 | 0,00 | 370,0 | 25,0 | Calmo |
| | 2 | 0 | 0,120 | 35,8 | 298,33 | 0,00 | 0,00 | 356,0 | 24,0 | Calmo |
| Controle oleoso | 3 | 0 | 0,357 | 41,4 | 115,97 | 0,00 | 0,00 | 376,0 | 39,0 | Agitado |
| | 4 | 0 | 0,013 | 39 | 3000,00 | 0,00 | 0,00 | 416,0 | 41,0 | Agitado |