

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

TESE

Avaliação da viabilidade de associação entre exames laboratoriais e a classificação da inflamação pulmonar pela broncoscopia em equinos domésticos (*Equus caballus*) fisicamente hígidos.

Eduardo Borges Viana

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**Avaliação da viabilidade de associação entre exames laboratoriais e a
classificação da inflamação pulmonar pela broncoscopia em equinos
domésticos (*Equus caballus*) fisicamente hígidos.**

EDUARDO BORGES VIANA

Sob a Orientação do Professor

Gilberto Garcia Botelho

Tese submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de *Doctor
Scientiae* em Ciências Veterinárias,
Área de Concentração em Sanidade
Animal.

Seropédica, RJ

Dezembro de 2008

636.1

V614a

T

Viana, Eduardo Borges, 1972-

Avaliação da viabilidade de associação entre exames laboratoriais e a classificação da inflamação pulmonar pela broncoscopia em eqüinos domésticos (*Equus caballus*) fisicamente hígidos/ Eduardo Borges Viana. - 2008.

146f.

Orientador: Gilberto Garcia Botelho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 39-47.

1. Cavalo - Teses. 2. Sistema cardiopulmonar - Doenças - Teses. I. Botelho, Gilberto Garcia, 1947-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

EDUARDO BORGES VIANA

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Sanidade Animal, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Veterinárias.

TESE APROVADA EM 22 / 12 / 2008



Gilberto Garcia Botelho. PhD. UFRRJ
Orientador



Daniel Augusto Barroso Lessa. D.Sc., UFF



Mauricio Afonso Vericimo. PhD. UFF



José Machado Neves Junior. D.Sc., FAA/USS



Nádia Regina Pereira Almosny. PhD. UFF

DEDICATÓRIA

Com amor aos Meus Pais; José Barbosa Viana (*in memoriam*) e Maria Agostinha Borges Viana, que abdicaram de parte de suas vidas, lutando em terras estranhas e distantes em amor a mim, a minha esposa Juliane Lopes Reis Viana, por estar comigo desde o começo, suportando tudo em amor, ao meu irmão, Rogério, aos meus poucos e preciosos amigos, família, e aos animais; todos eles.

RESUMO

VIANA, Eduardo Borges. **Avaliação da viabilidade de associação entre exames laboratoriais e a classificação da inflamação pulmonar pela broncoscopia em equinos domésticos (*Equus caballus*) fisicamente hígidos**. Seropédica: UFRRJ, 2008. 146p. (Tese, Doutorado em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal).

O número de casos de equinos que apresentam algum grau de inflamação do aparelho respiratório é extremamente alto, embora existam animais fisicamente hígidos mas que podem apresentar algum grau de processo inflamatório de vias aéreas, cujo diagnóstico precoce só seria possível através de exames mais precisos. Os objetivos da presente pesquisa são: avaliar quais exames poderiam estar relacionados à classificação endoscópica de animais fisicamente hígidos; verificar a relação com a idade; pesquisar níveis dos parâmetros avaliados que possam indicar tendências de seu aumento ou diminuição e sugerir um número mínimo apropriado de animais. As amostras foram divididas em 4 Categorias de Análises: avaliação da eficácia da técnica, grupos de abrangência maior, grupos de abrangência menor e avaliação das relações percentuais dentro das Categorias 2 e 3. Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: citológico, hematológico, Atividade pro coagulante (APC), Fator de Necrose Tumoral (*TNF*) e Óxido Nítrico (*NO*). Os resultados revelaram que: em relação às análises de APC, somente testes *ex-vivo* são apropriados. Para o *TNF*, sugere-se que os testes AD Lps e TT Lps sejam utilizados. O *NO*, não gerou conclusões. A pesquisa demonstrou ainda que os seguintes parâmetros poderiam ser utilizados para pesquisas futuras e apoio diagnóstico: volume recuperado, número de células por microlitro, percentuais de linfócitos, macrófagos espumosos, macrófagos em sincícios, eosinófilos, mastócitos, leucometria global, proteínas plasmáticas totais, APC *ex-vivo* TT, *TNF* AD Lps e TT Lps. O número de animais apropriados para experimentos futuros é de cerca de 120, ou 2 grupos de 60 indivíduos. Concluiu-se que os dados observados na presente pesquisa são válidos para o auxílio diagnóstico de inflamações no aparelho respiratório de equinos.

Palavras chave: Equinos, Sistema cardiopulmonar, Doenças

ABSTRACT

VIANA, Eduardo Borges. **Evaluation of the association between laboratorial exams and broncoscopy lung inflammation score in domestic horses (*Equus caballus*) physically healthy.** Seropédica: UFRRJ, 2008. 146p. (Thesis, Doctor Scientiae / Veterinary Sciences, Animal Sanity).

The number of equines that present some degree of inflammation of the lungs is high, although exists physically healthy animals that present some degree of airways inflammatory processes, in which precocious diagnosis would be only possible through more detailed exams. The aims of this work are: evaluate which exams could be related to the endoscopic classification of physically healthy animals; verify the relationship with the age; research levels of the parameters that can indicate tendencies of its increase or decrease and suggest an appropriated number of individuals. The samples were divided in 4 Categories of Analyses: evaluation of the effectiveness of the technique, groups of larger inclusion, groups of smaller inclusion and evaluation of the relationships between the percentiles inside of the Categories 2 and 3. The horses were accomplished through the following laboratorial exams: cytological, hematological, Pro Coagulant Activity (PCA), Tumor Necrosis Factor (TNF) and Nitric Oxid (NO). The results revealed that: in relation to the analyses of PCA, only tests ex-life are appropriate. TNF suggests that the tests AD Lps and TT Lps must be used. NO didn't generate any conclusions. The results revealed that the following parameters could be used for future researches and diagnosis: recovered volume, number of cells / μL , percentile of linfocytes, cloud macrophages, giant macrophages, eosinophils, mastocytes, WBC, total plasmatic proteins, PCA ex-life TT, TNF AD Lps and TT Lps. The number of animals adapted for future experiments is of about 120, or 2 groups of 60 individuals. Finally, it is concluded that the dates observed in this present research are valid for the diagnosis of inflammations in the equines lungs .

Key Words: Equine, Cardiopulmonary System, Diseases

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Técnica de lavado broncoalveolar em equino – introdução da sonda na narina do animal.....	53
Figura 2: Técnica de lavado broncoalveolar em equino – depois de introduzida, a sonda foi fixada na cabeça do equino e de pois de inflado o <i>cuff</i> , a solução era infundida ativamente a partir do bombeamento com uma pêra de borracha acoplada a um frasco de soro.....	53
Figura 3: Técnica de lavado broncoalveolar em equino – depois de aspirado o conteúdo infundido, ainda com o <i>cuff</i> inflado, uma chave de três vias era rotacionada, permitindo a colheita do lavado em um frasco.....	53
Figura 4: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): neutrófilo, linfócito, macrófago, eosinófilo e mastócito.....	54
Figura 5: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): linfócito, macrófago, eosinófilo.....	54
Figura 6: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): macrófagos esparsos e um grande sincício de macrófagos.....	54
Figura 7: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): grande sincício de macrófagos espumosos ao centro.....	55
Figura 8: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): grande sincício de macrófagos espumosos ao centro.....	55
Figura 9: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): linfócitos, macrófagos em ativação a espumosos e eosinófilo.....	55
Figura 10: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): mastócitos.....	56
Figura 11: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): aglomerado de células epiteliais.....	56
Figura 12: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): aglomerado de células epiteliais.....	56
Figura 13: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação da APC, através do teste t de Student (n=40, gl= 38 e 0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro 1).....	57

Figura 14: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do <i>TNF</i> , através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro2).....	59
Figura 15: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do <i>NO</i> , através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro 3).....	61
Figura 16: Comparação entre os resultados médios de idade (anos) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	63
Figura 17: Comparação entre os resultados médios da citologia (Viabilidade em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	64
Figura 18: Comparação entre os resultados médios da citologia (Volume em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	65
Figura 19: Comparação entre os resultados médios da citologia (células x 1000/ μ L) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.	66
Figura 20: Comparação entre os resultados médios da citologia (neutrófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	67
Figura 21: Comparação entre os resultados médios da citologia (linfócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	68
Figura 22: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	69
Figura 23: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos espumosos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	70
Figura 24: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos com hemossiderina em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	71
Figura 25: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em sincícios/gigantes em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	72
Figura 26: Comparação entre os resultados médios da citologia (células epiteliais em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	73
Figura 27: Comparação entre os resultados médios da citologia (eosinófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	74
Figura 28: Comparação entre os resultados médios da citologia	

(mastócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	75
Figura 29: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Leucometria Global em células / mm ³) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	76
Figura 30: Comparação entre os resultados médios da citologia (volume globular em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	77
Figura 31: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Proteínas plasmáticas totais em g / dL) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	78
Figura 32: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Fibrinogênio em mg / dL) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	79
Figura 33: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (basófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	80
Figura 34: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (eosinófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	81
Figura 35: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (bastões em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	82
Figura 36: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (neutrófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	83
Figura 37: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (linfócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	84
Figura 38: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (relação N / L) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	85
Figura 39: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (monócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	86
Figura 40: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC ex vivo em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	87
Figura 41: Comparação entre os resultados médios das análises das análises da Atividade pro coagulante (APC ex vivo TT em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	88
Figura 42: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC AD em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de	89

Análises II.....	
Figura 43: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC AD Lps), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	90
Figura 44: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC TT em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	91
Figura 45: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC TT Lps), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	92
Figura 46: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (<i>TNFAD</i>) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	93
Figura 47: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (<i>TNFAD</i> Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	94
Figura 48: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (<i>TNF TT</i>) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	95
Figura 49: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (<i>TNF TT</i> Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	96
Figura 50: Comparação entre os resultados médios das análises do Óxido Nítrico (<i>NO AD</i>) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	97
Figura 51: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (<i>NO AD</i> Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	98
Figura 52: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (<i>NO TT</i>) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	99
Figura 53: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (<i>NO TT</i> Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.....	100
Figura 54: Comparação entre os resultados médios de idade (anos) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (1% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	101
Figura 55: Comparação entre os resultados médios da citologia (viabilidade em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	102

Figura 56: Comparação entre os resultados médios da citologia (volume em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	103
Figura 57: Comparação entre os resultados médios da citologia (células x 1000/ μ L) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	104
Figura 58: Comparação entre os resultados médios da citologia (neutrófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	105
Figura 59: Comparação entre os resultados médios da citologia (linfócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	106
Figura 60: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	107
Figura 61: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos espumosos) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	108
Figura 62: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos com hemossiderina em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	109
Figura 63: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos gigantes em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	110
Figura 64: Comparação entre os resultados médios da citologia (células epiteliais em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3..	111
Figura 65: Comparação entre os resultados médios da citologia (eosinófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	112
Figura 66: Comparação entre os resultados médios da citologia (mastócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	113
Figura 67: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (LG em cel x 1000 / mm ³) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	114
Figura 68: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (volume globular em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	115

Figura 69: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (proteínas plasmáticas totais em g/dL) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	116
Figura 70: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (fibrinogênio em mg/dL) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	117
Figura 71: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (basófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	118
Figura 72: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (eosinófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	119
Figura 73: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (bastões em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	120
Figura 74: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (segmentados em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	121
Figura 75: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (linfócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	122
Figura 76: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Relação N / L) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	123
Figura 77: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (monócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	124
Figura 78: Comparação entre os resultados médios das análises de APC ex vivo AD (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	125
Figura 79: Comparação entre os resultados médios das análises de APC ex vivo TT (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3..	126
Figura 80: Comparação entre os resultados médios das análises do APC AD (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	127
Figura 81: Comparação entre os resultados médios das análises de APC AD Lps (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	128

Figura 82: Comparação entre os resultados médios das análises de APC TT (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	129
Figura 83: Comparação entre os resultados médios das análises da APC TT Lps (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	130
Figura 84: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF AD nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	131
Figura 85: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF AD Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	132
Figura 86: Comparação entre os resultados médios das análises de TNF TT nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	133
Figura 87: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF TT Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	134
Figura 88: Comparação entre os resultados médios das análises de NO AD nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	135
Figura 89: Comparação entre os resultados médios das análises do NO AD Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	136
Figura 90: Comparação entre os resultados médios das análises de NO TT nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	137
Figura 91: Comparação entre os resultados médios das análises de NO TT Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.....	138
Figura 92: Relação dos animais avaliados na Categoria 2: número absoluto e percentual.	139
Figura 93: Relação dos percentuais de resultados próximos a valores de t até 10% de erro dos parâmetros avaliados na Categoria 2.....	140
Figura 94: Relação dos animais avaliados na Categoria 3: número absoluto e percentual.	141
Figura 95: Relação dos percentuais de resultados próximos a valores de t até 10% de erro dos parâmetros avaliados na Categoria 3.....	142

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação da APC, através do teste t de Student (n=40, gl= 38 e 0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 1).....	58
Quadro 2: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do <i>TNF</i> , através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 14).....	60
Quadro 3: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do <i>NO</i> , através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 15).....	62
Quadro 4: Listagem dos sexos, classificação endoscópica e valores gerais da idade de todos os animais avaliados.....	143
Quadro 5: Listagem de todos os exames realizados referentes à citologia dos animais avaliados.....	144
Quadro 6: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises hematológicas dos animais avaliados.....	145
Quadro 7: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises da APC dos animais avaliados.....	145
Quadro 8: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises do <i>TNF</i> e <i>NO</i> dos animais avaliados.....	146

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	iii
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	1
2.1 Epidemiologia das afecções que comprometem a performance do cavalo.....	1
2.2 Morfologia do sistema respiratório.....	1
2.2.1 Anatomia.....	1
2.2.2 Histologia.....	2
2.3 Funcionamento básico da resposta imunológica no sistema respiratório.....	3
2.4 Fisiopatologia clínica das doenças inflamatórias respiratórias.....	4
2.5 Endoscopia respiratória ou broncoscopia.....	5
2.6 Lavado bronco alveolar (LBA)	5
2.6.1 Citologia do lavado bronco alveolar.....	6
2.6.2 Marcadores biológicos do processo inflamatório..	8
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	10
3.1 Animais.....	10
3.2 Exame físico.....	10
3.3 Exame broncoscópico.....	10
3.4 Análises laboratoriais (hematologia, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio plasmático).....	10
3.5 Lavado broncoalveolar.....	11
3.6 Citologia do Lavado Bronco-Alveolar (LBA).....	11
3.7 Viabilidade das células presentes no LBA.....	11
3.8 Contagem Total de Células do LBA.....	12
3.9 Atividade Pro Coagulante (APC).....	12
3.9.1 <i>Ex-vivo</i> células aderentes (APC <i>ex-vivo</i> AD).....	12
3.9.2 <i>Ex-vivo</i> células totais (APC <i>ex-vivo</i> TT).....	12
3.9.3 Em Cultivo (APC AD, APC AD Lps, APC TT, APC TT Lps).....	12
3.9.4 Controles.....	13
3.10 Avaliação laboratorial do Fator de Necrose Tumoral (<i>TNF</i>).....	13
3.11 Avaliação laboratorial do Óxido Nítrico.....	14
3.12 Avaliação dos resultados e análise estatística.....	14
3.12.1 Categoria de Análises 1.....	14
3.12.2 Categoria de Análises 2.....	14
3.12.3 Categoria de Análises 3.....	15
3.12.4 Categoria de Análises 4.....	15
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	16
5 CONCLUSÕES.....	37
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
7 APÊNDICES.....	48
7.1 Categoria de Análises 1.....	52

7.2 Categoria de Análises 2.....	59
7.3 Categoria de Análises 3.....	97
7.4 Categoria de Análises 4.....	135
7.5 Resultados Gerais.....	139

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas em diversas partes do mundo apontam o aparelho respiratório dos eqüinos como um dos principais sistemas acometidos por enfermidades, com significativa prevalência (JEFFCOT *et al.*, 1982; ROSSDALE *et al.*, 1985; BURREL *et al.*, 1996; BAILEY *et al.* 1999). Impactos financeiros nas negociações de animais, assim como baixo desempenho em provas esportivas observados em estudos como o de Preston *et al.* (2008), sinalizam para a importância de se manter a higidez desses animais, e acima de tudo, diagnosticar o problema de maneira precoce para que se possa conduzir o tratamento da melhor forma.

Diversas técnicas são utilizadas para diagnosticar e classificar os processos inflamatórios; de exames físicos a exames complementares e análises laboratoriais do lavado broncoalveolar (HOFFMAN, 1999; LESSA *et al.*, 2002).

Entretanto, existem animais fisicamente hígidos, mas que podem apresentar algum grau de processo inflamatório nas vias aéreas, cujo diagnóstico precoce só seria possível através de exames mais precisos. Além disso, seria necessário estudar a relação entre o grau de exposição dos cavalos a ambientes potencialmente nocivos, exames físicos, classificação broncoscópica e outras análises. Seria importante, uma vez que em boa parte dos animais, os mantenedores tendem a apresentar como a única queixa clínica a queda de performance, normalmente em animais submetidos a grande esforço (MARTIN *et al.*, 2000).

Sendo assim, seria possível classificar um nível mínimo inflamatório através de exames laboratoriais? Seria possível quantificar a inflamação de forma precoce, isto é, em animais aparentemente hígidos? Uma vez definida a inflamação assintomática das vias aéreas, através de qualquer método, um animal desta categoria iria diferir significativamente de outro completamente hígido? Quais parâmetros poderiam ser relevantes?

O objetivo primordial da presente pesquisa é o de avaliar se os parâmetros laboratoriais que compõem os exames: citológico, hematológico, a Atividade pro coagulante (APC), o Fator de Necrose Tumoral (*TNF*) e o Óxido Nítrico (*NO*), poderiam ser relacionados à classificação broncoscópica do nível de inflamação do aparelho respiratório de eqüinos fisicamente hígidos. Além disso, pretende verificar, de uma forma menos abrangente (em grupos já restritos pela classificação broncoscópica), se pode existir relação também com a idade dos animais.

O trabalho visa ainda, pesquisar níveis mínimos e máximos dos parâmetros avaliados nos animais testados, que possam indicar tendências de seu aumento ou diminuição, bem como um método derivativo para delineamento de experimentos com análise pontual dos dados, sugerindo ainda um número mínimo apropriado de amostras. Ele não procura uma definição inquestionável de um teste que possa ser utilizado para estabelecer protocolos diagnósticos.

Desta forma, a presente investigação levanta a hipótese de que existam exames que possam auxiliar no aprimoramento dos métodos diagnósticos de inflamações no aparelho respiratório de eqüinos. A eficácia pode ser sugerida através dos princípios do método científico, de acordo com os estudos dialéticos do “Diálogo Socrático” (MANNION, 2004), os de causa e efeito, através dos princípios lógicos de Descartes (SPROUL, 2002), bem como os epistemológicos, através da setorização do estudo da ciência como propunha Aristóteles (BITTAR, 2003).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia das afecções que comprometem o desempenho do cavalo

O melhor aproveitamento do potencial do cavalo em especial no desenvolvimento de atividades desportivas é matéria de estudo em todo mundo, principalmente no que diz respeito aos animais de alta performance (MARINS, 2006; ROSSDALE *et al.*, 1985).

A preocupação com o bem estar e a garantia da higidez física e mental do animal são pilares que permitem uma expectativa de maior desempenho (MARINS, 2006; BAILEY *et al.*, 1999).

Pesquisas nos EUA, Reino Unido e Japão mostraram que a prevalência e a incidência de enfermidades diminuem significativamente esta expectativa (JOHNSON *et al.*, 1994; JOHNSON *et al.*, 1994).

O estudo de Preston *et al.* (2008), demonstraram que afecções como a laminite, não só diminuem a performance de animais em provas, mas gera importantes impactos nas negociações financeiras dos animais acometidos.

As afecções respiratórias já eram apontadas por Jeffcot *et al.* (1982), como segundo grupo de enfermidades em prevalência nos cavalos de corrida no Reino Unido e na Alemanha, depois da laminite, assim como observado por Rossdale *et al.* (1985) e Burrell *et al.* (1996), que apontaram as doenças respiratórias como fato comum, salientando o aparecimento de secreção traqueal e associando-a ao comprometimento do trato respiratório inferior. Martin *et al.* (2000), demonstraram em um estudo retrospectivo com 348 cavalos, uma correlação entre baixa performance em corridas e treinos e anormalidades em vias respiratórias sem manifestação clínica.

Lessa *et al.* (2002) avaliaram 20 amostras de citologia bronco-alveolar de 17 eqüinos aparentemente saudáveis, com idade entre 12 e 23 anos, utilizados para policiamento na Cidade do Rio de Janeiro, e observaram que 12 amostras (60%) correspondiam a quadros inflamatórios.

2.2 Morfologia do sistema respiratório

2.2.1 Anatomia

O aparelho respiratório compreende os pulmões e um sistema de tubos que comunicam o parênquima pulmonar com o meio exterior. Distingui-se uma porção condutora; fossas nasais, nasofaringe, laringe, traquéia, brônquios e bronquíolos (este também chamado de porção de transição), e uma porção respiratória, representada pelas porções terminais da árvore brônquica e que contém os alvéolos, onde se dão as trocas gasosas (JUNQUEIRA, 1999).

A laringe, a traquéia e os pulmões têm uma origem comum no crescimento ventral do intestino primitivo, diretamente caudal à segunda das duas tumefações que formam a língua. A maior diferenciação da laringe inclui o aspecto de cartilagens e músculos separados por condensação e diferenciação do mesoderma dos arcos branquiais vizinhos. Após a separação do esôfago, a extremidade caudal do trato respiratório cresce para baixo no pescoço e vem situar-se no mesoderma mediano. O desenvolvimento histológico dos pulmões envolve três fases nomeadas de acordo com

as características microscópicas dominantes: a primeira fase (glandular), que estabelece o padrão brônquico, a segunda fase (canalicular) estabelece a porção respiratória do pulmão e a terceira fase e final (alveolar), referente ao desenvolvimento dos alvéolos (DYCE, 1987).

Diferente de outras espécies, a sustentação das narinas do equino é realizada pelas cartilagens alares. Em todas as espécies, exceto no equino, a pele ao redor e entre as narinas aparece notavelmente diferente daquela que cobre o restante do órgão. A concha nasal ventral estende-se caudalmente até o nível da coana. As funções da cavidade nasal são: a olfação, o preparo do ar inspirado para respiração e a filtração do mesmo. A laringe é um curto órgão tubular que liga a faringe à traquéia, possui três cartilagens unilaterais; cricóide, tireóide e epiglótica, e três cartilagens pares; aritenóide, corniculada e cuneiforme. A traquéia é um tubo flexível, membranoso e cartilaginoso, dividida em parte cervical e torácica. Na parte torácica ocorre a bifurcação que forma os brônquios principais direito e esquerdo. Os pulmões são os órgãos respiratórios dos eqüídeos que diferentemente de outras espécies domésticas, não são claramente subdivididos em lobos por profundas fissuras interlobares, entretanto o pulmão esquerdo pode ser considerado com dois lobos; um apical (cranial) e um diafragmático (caudal), e o pulmão direito constituído de três lobos; o apical, diafragmático e um acessório (intermediário). A raiz do pulmão está constituída pelas estruturas que penetram ou deixam o hilo do pulmão na face mediastinal, são estas: o brônquio, a artéria pulmonar, as veias pulmonares e os vasos linfáticos. Na parte distal da árvore bronquial os bronquíolos terminais podem conduzir a bronquíolos respiratórios, mal desenvolvidos, porém eles conduzem diretamente para os ductos alveolares. Os alvéolos são espaços aéreos muito pequenos com paredes finas, compostas de uma rede de uma só camada de capilares, revestidos por uma lâmina muito fina de eptélio alveolar (GETTY, 1981).

2.2.2 Histologia

O epitélio que reveste a maior parte das vias aéreas é pseudo-estratificado colunar ciliado, também chamado de eptélio respiratório que repousa sobre uma lâmina basal, a qual se segue uma lâmina própria fibrosa que contém glândulas do tipo misto. O eptélio respiratório típico consiste em seis tipos celulares: o tipo celular mais abundante é a célula colunar ciliada, depois células caliciformes; secretora de muco, células em escova (dois tipos), células basais, e por fim as células granulares. Nos brônquios assim como na traquéia, o eptélio de revestimento é do tipo respiratório, enquanto os ramos menores podem ser cilíndrico simples ciliado como também são revestidos os bronquíolos em suas porções iniciais, passando a cúbico simples na porção final onde as células caliciformes diminuem em número. Os bronquíolos respiratórios considerados terminais apresentam alvéolos em suas paredes. Os ductos alveolares iniciam a porção respiratória, formados pelas ramificações dos bronquíolos respiratórios, com a presença de inúmeros alvéolos e sacos alveolares em sua parede. O revestimento epitelial é cúbico simples, com células muito baixas. A parede interalveolar é formada por três tipos celulares principais: células endoteliais dos capilares, pneumócitos do tipo I e pneumócitos do tipo II. Os macrófagos alveolares também chamados células de poeira aparecem no interior dos alvéolos. As células ciliadas são responsáveis pelo transporte de muco para fora do pulmão com movimentos coordenados. O muco que banha o epitélio tem baixa viscosidade e confere certa proteção evitando dessecação e atrapalhando a entrada de partículas inaladas. O muco também contém imunoglobulinas que neutralizam bactérias e vírus. A pleura é a serosa que envolve o pulmão, sendo

formada por dois folhetos, o parietal e o visceral, ambos formados por mesotélio e uma única fina camada de tecido conjuntivo (JUNQUEIRA, 1999).

2.3 Funcionamento básico da resposta imunológica no sistema respiratório

Comparado ao intestino, o trato respiratório fica exposto a uma quantidade muito pequena de material estranho, geralmente na forma de partículas inaladas ou aerossóis. As partículas grandes são geralmente capturadas no trato respiratório superior, e somente os menores penetram realmente no pulmão. O trato respiratório contém uma quantidade considerável de tecido linfóide na forma de nódulos nas paredes dos brônquios, bem como de linfócitos distribuídos difusamente por todo pulmão, e paredes das vias aéreas. Os pulmões de cães, ruminantes, suínos e eqüinos diferem dos pulmões dos roedores ou dos gatos por conterem um grande número de macrófagos intravasculares (TIZARD, 1998).

O mecanismo de resposta celular inata predominante no pulmão é o macrófago alveolar; originado do monócito e ativado principalmente por TNF- α e IFN- γ pelas células Th1. Constituem uma população especializada de células fagocíticas encontradas nas vias aéreas inferiores e alvéolos. Partículas depositadas na superfície alveolar são limpas pelos macrófagos, que também estão presentes no sistema mucociliar e nos tecidos linfóides associados às vias respiratórias (JANKOVIC, ZHUGONG e GAUSE, 2001).

Os macrófagos alveolares correspondem a 90% das células efetoras no parênquima pulmonar. Originados da medula óssea, também se acredita que alguns macrófagos intersticiais preservam a capacidade de se dividir. O macrófago sobrevive semanas a meses no ambiente intrapulmonar (BUECHNER-MAXWELL, 1993).

O tecido linfóide no sistema respiratório pode ser dividido em cinco diferentes tipos: Linfócitos livres no lúmen, linfócitos intra-epiteliais, linfócitos isolados na lâmina própria, densos infiltrados formando tecido linfóide, e nódulos linfóides (MAIR, BATTEN e STOKES, 1987).

Os linfócitos e outros leucócitos estão presentes no lúmen de um pulmão normal, e podem tornar-se completamente numerosos em várias doenças. A composição dos leucócitos no pulmão tem sido estudada principalmente no LBA. O linfócito predominante na lâmina própria é o plasmócito que presumivelmente está produzindo um IgA dimerica, o qual é transportada através das células epiteliais ao lúmen (*ibid.*)

A transudação de proteínas incluindo IgG e IgM ocorre provavelmente durante infecções e também pode explicar a predominância desses isotipos no pulmão inferior (MAIR, STOKES e BOURNE, 1987).

A presença de anticorpos IgE no pulmão está associada com doenças alérgicas (KALINA, PETTIGREW e GERSHWIN, 2003).

Em geral a condição imunológica do pulmão tende a ser de natureza imunossupressiva, talvez um meio de evitar danos a integridade do tecido alveolar (CAULFIELD, FERNADEZ e SOUZA, 1999). Esse ambiente imunossupressivo é provavelmente mantido pela presença da interleucina 10 (IL-10), uma citocina antiinflamatória (FERNANDEZ, JOSE e AVDIUSHKO, 2004).

A introdução de agentes inofensivos no trato respiratório leva a um estado de tolerância por aerossol (HOLT, 1982).

Por outro lado, a introdução de agentes infecciosos resulta em um rápido movimento de leucócitos do tecido linfóide para o espaço luminal. O início de uma resposta inflamatória aguda constitui-se de neutrofilia e uma linfopenia é iniciada dentro de horas de uma infecção inicial. Uma atividade citotóxica efetora não específica

também foi detectada em tempos remotos. Um segundo influxo de linfócitos CD8+ tardio coincide com a indução da atividade citotóxica antígeno-específica das células T. Essas células tardias estão presumivelmente envolvidas na eliminação das células infectadas por vírus no pulmão. Enquanto o preciso mecanismo responsável por essa rápida resposta é desconhecido, isso envolve provavelmente o reconhecimento dos padrões moleculares associados à patógeno pelos receptores tipo *TOLL* nos macrófagos alveolares (DIAMOND, 2000).

Os sinais transmitidos através desses receptores podem aumentar a capacidade dos macrófagos em estimular uma resposta imune específica na presença do antígeno (FERNANDEZ, JOSE e AVDIUSHKO, 2004).

2.4 Fisiopatologia clínica das doenças inflamatórias respiratórias

A resposta inflamatória dá-se por um complexo de eventos direcionados a proteger o organismo contra injúrias e agentes infecciosos. As ações coordenadas das células do endotélio vascular, plaquetas, mediadores plasmáticos e leucócitos, combinados protegem o organismo contra injúria (JIMENEZ & FERNÁNDEZ, 2000).

A ativação da cascata de coagulação durante a resposta inflamatória é um componente essencial de resposta do hospedeiro a injúria. Por outro lado, ela amplifica a resposta inflamatória, diminui a depuração dos produtos tóxicos bacterianos, e em pacientes críticos, pode provocar a falência de órgãos e morte. Os quatro principais sistemas que estão quase sempre envolvidos são: o sistema complemento, o sistema de contato, a reação de fase aguda e a resposta inflamatória celular (*ibid*).

Enquanto uma resposta inflamatória inicial a um antígeno invasor é um importante e necessário componente de proteção, o processo inflamatório por si só, pode ser patológico, particularmente quando crônico. Uma doença amplamente reconhecida que é o resultado aparente dessa resposta inflamatória crônica é a Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC) (ROBINSON *et al*, 2006).

A DPOC, hoje conhecida como Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA), é similar a algumas formas de asma humana com característica de hipersensibilidade e episódios de obstrução das vias aéreas (COUETIL *et al.*, 2007).

A inflamação crônica na asma humana é orquestrada pelas citocinas IL-4, IL-5, e IL-13 derivada dos linfócitos T-helper tipo 2 (TH2) (DEL PRETE., 1992).

Ambos IL-4 and IL-13 favorecem a produção de IgE concernente aos alérgenos inalados, enquanto a IL-5 permite a diferenciação, ativação e a sobrevivência dos eosinófilos (ERB & LE GROS, 1996).

A indução inicial da IgE mediada pela degranulação dos mastócitos, regulação das moléculas de adesão, e a produção de citocinas quimiotáticas e inflamatórias leva a infiltração e ativação de leucócitos efetores (neutrófilos e eosinófilos) conduzindo a manifestações patológicas dentro do pulmão e vias aéreas (LUKACS, 1996; GALI, 1998). Acredita-se agora em um processo similar nos eqüinos com ORVA, onde ocorrem anticorpos IgE nas vias aéreas e elevados níveis de RNAm para citocinas TH2 em linfócitos no LBA (BEADLE, HOROHOV e GAUNT, 2002; LAVOIE *et al.* 2001.).

A Doença Inflamatória das Vias Aéreas (DIVA) é uma síndrome inflamatória não séptica das vias aéreas posteriores, particularmente de animais jovens (ROBINSON, 2001).

Também é considerada por Hoffman (1999), Lavoie (1997) e Viel (1997a, b), como um estágio inicial da Obstrução Recorrente das Vias Aéreas (ORVA).

Uma definição universal da DIVA aceita não existe. Referente a isso, o termo não implica em uma etiologia específica (infecciosa ou não infecciosa), o sítio da inflamação (vias aéreas posteriores) ou o tipo de células envolvidas no evento

inflamatório (neutrófilos, eosinófilos ou mastócitos). Pesquisas recentes demonstraram que a inflamação envolvendo todas essas alternativas ocorre em animais de corrida jovens, e é comum serem englobadas num único termo, de doença inflamatória das vias aéreas (HODGSON, 2002)

Com intuito de propor uma nova definição clínica para DIVA, em outubro de 2002 adotou-se um critério mínimo: poderia acometer animais de qualquer idade, ocorreria queda de performance, intolerância ao exercício, tosse com ou sem excesso de muco traqueal, inflamação asséptica detectada pelo exame citológico do LBA, disfunção pulmonar baseada na evidência de obstrução das vias aéreas posteriores, hipersensibilidade, ou ainda impedimento de troca gasosa em repouso ou durante exercício (COUËTIL, 2007).

Resumidamente, a presença de sintomatologia recorrente e obstrução das vias aéreas distinguem ORVA de DIVA, que é caracterizada pela inflamação das vias aéreas e acúmulo de muco na ausência de dispnéia e/ou sinais sistêmicos de doença (GERBER *et al.*, 2003).

A DIVA pode ser clinicamente silenciosa ou associada com moderados a severos sinais clínicos, incluindo tosse, descarga nasal, sons anormais pulmonares, febre depressão e anorexia, mas geralmente o comprometimento dos mecanismos ventilatórios que requerem do animal mais energia para respiração e culminam em restrições quanto ao desempenho atlético que nem sempre são percebidas (PIRRONE *et al.*, 2007).

2.5 Endoscopia respiratória ou broncoscopia

A endoscopia é uma importante ferramenta para o trabalho tanto de investigação clínica quanto científica das doenças do trato respiratório dos equinos (GERBER *et al.*, 2004).

Em um estudo de caso controle, Dixon, Railton e Mcgorum (1995), graduaram semi-quantitativamente o volume de secreções presente na traquéia torácica cranial, classificando como:

Grau 0 (ausência de secreções);

Grau 1 (pequenas gotas presentes);

Grau 2 (pequena “piscina” ou “poça”) até Grau 5 (significativa “piscina” ou “poça” de aproximadamente 20 mL de secreção respiratória).

Considerando Grau 0 e Grau 1 como normais.

Da mesma forma, Gerber *et al.* (2003, 2004) em estudos de escore endoscópico, correlacionando quantidade e qualidade das secreções respiratórias; muco, sua relação na caracterização da inflamação das vias aéreas de cavalos assintomáticos e prevalência, utilizaram-se de correspondente classificação:

Grau 0 (nenhum muco visível);

Grau1 (gotas pequenas singulares);

Grau 2 (gotas múltiplas, em parte confluentes);

Grau 3 (muco confluyente na região ventral);

Grau 4 (piscina ventral grande);

Grau 5 (quantias profundas de muco que ocupa mais que 25% de lúmen traqueal.

2.6 Lavado bronco alveolar (LBA)

O LBA é uma técnica de exploração bronco pulmonar que permite observar o aparelho respiratório superior e inferior, e notar eventuais anomalias, pouco traumático, promovendo reações adversas quase nulas (BENDALI-AHCENE, 1995.). Lessa *et al.*

(2005) descrevem em sua revisão o relato de discreta inflamação, leve hiperemia da mucosa e hemorragia pulmonar, tosse transitória, pirexia e neutrofilia pulmonar.

A técnica de LBA foi primeiramente adaptada por VIEL (1983), esse método permite obter amostras (células, secreções e moléculas) provenientes das porções mais distais do trato respiratório por meio da infusão de fluido isotônico e imediata aspiração do mesmo (FERNANDES, MORI e SANCHES, 2000).

Considera-se um método sensível para o diagnóstico de enfermidades inflamatórias não-infecciosas pulmonares, tais como: doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) ou obstrução recorrente das vias aéreas (ORVA), e doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) (HOFFMAN, 1999). Creditado a ele maior sensibilidade e especificidade para detecção de células inflamatórias, especialmente no que diz respeito aos neutrófilos e mastócitos (HOFFMAN & VIEL, 1997). Também é útil para diagnóstico de hemorragia pulmonar induzida por esforço (HPIE) (MCKANE, CANFIELD e ROSE, 1993). Embora bastante utilizada em outros países, ainda é pouco difundida em nosso meio. No Brasil, o LBA já foi empregado por Amaral *et al.* (1999); Mori (2000); Fernandes *et al.* (2000); Mori, Mori e Fernandes, 2001; Lessa *et al.* (2002); Lessa (2003).

2.6.1 Citologia do lavado bronco alveolar

No LBA de um cavalo normal os macrófagos devem ter aparência uniforme com mínima vacuolização citoplasmática (MOORE, 1996).

Amostras de LBA normal geralmente apresentam celularidade moderada e contém proporções aproximadamente iguais entre macrófagos alveolares e pequenos linfócitos. Pode existir um discreto “fundo” de muco. O número de células epiteliais e os tipos variam dependendo do ponto de aspiração. Ainda que muco e eosinófilos estejam ausentes, poucos neutrófilos podem estar presentes (FREEMAN & ROSZEL, 1997).

Fernades *et al.* (2000), também observaram esporadicamente, formas bi, tri e multinucleadas de macrófagos em cavalos clinicamente sadios.

Fogarty & Buckley (1991), observaram neutrofilia (média de 13%) e aumento no percentual médio de hemossideróforos (44%) de forma significativa no grupo com intolerância ao exercício. Neste grupo 26% dos animais apresentaram resposta de hipersensibilidade.

Vrins, Doucet e Nunez-Ochoa (1991), observaram um aumento na contagem celular total, um progressivo aumento no percentual de neutrófilos conforme o aumento da gravidade da enfermidade, e aumentos ocasionais no número de mastócitos em todos os 69 animais, clinicamente enfermos. Os macrófagos às vezes, apresentavam-se marcadamente vacuolados ou contendo eritrócitos ou leucócitos fagocitados, além disso, também foram observadas espirais de Curschman.

Mckane, Canfield e Rose (1993), apesar de terem considerado o grupo de animais estudados normais, observaram aproximadamente duas vezes mais neutrófilos assim como macrófagos maiores e mais vacuolados em animais que participaram de treinamento ou correram, que naqueles que trabalharam mais lentamente. Isto sugere que exercícios de alta intensidade possam estar associados com baixo grau de doença inflamatória pulmonar.

Moore *et al.* (1995), avaliando 32 equinos em treinamento, e com histórico de queda de performance, observaram contagem celular total aumentada, neutrofilia relativa (10,4%), linfocitose relativa (36,0%) e monocitose absoluta, sendo este quadro citológico de DIVA considerado como padrão inflamatório misto. Além disso, quatro animais apresentaram eosinofilia marcante (24,7%).

Em 19 animais com DIVA, a citologia broncoalveolar evidenciou valores percentuais de 15 a 59 para macrófagos, 34-68 para linfócitos, 1-15 para neutrófilos, 1-16 para mastócitos e 0-6 para eosinófilos. Uma percentagem excessiva de neutrófilos ou de mastócitos implica que os cavalos possam experimentar uma reação inicial da fase inflamatória (mediada por mastócitos) ou tardia (neutrófilos, eosinófilos) no momento do exame, como visto na asma humana (HOFFMAN, 1995).

Bain (1997); Moore (1996) em trabalhos de revisão sobre citologia broncoalveolar, sugeriram para doenças inflamatórias as seguintes categorias:

(1) inflamação mista com aumento na contagem total de leucócitos e uma moderada neutrofilia (15%);

(2) aumento de células metacromáticas (> 2% de mastócitos);

(3) inflamação com aumento no número de eosinófilos.

A análise citológica de LBAs de animais com inflamação de vias aéreas posteriores, pode evidenciar um aumento significativo na população de mastócitos com poucos eosinófilos, ou com um aumento significativo desta última população celular. Também podem ser observados quadros citológicos com contagem celular total marcadamente elevada, onde a maior proporção corresponde à população de polimorfonucleares. Não é incomum observar uma reação inflamatória com presença de neutrófilos em cavalos com hemorragia pulmonar crônica induzida pelo exercício - HPIE (VIEL, 1997a).

Os macrófagos alveolares podem ter citoplasma variando desde discretamente denso a discretamente espumoso, e isto é compatível com um estudo de ativação quiescente ou discreta destes macrófagos. O padrão citológico compatível com alergia respiratória é uma inflamação com infiltrado eosinofílico, acima de 5% conforme Hare (1994) e Viel (1997a), com evidências de irritação difusa de grandes e/ou pequenas vias aéreas, indicada por atipia variável de células epiteliais, ausência de debris necróticos, como os que ocorrem na migração larval parasitária através do pulmão, e aumento no muco. Ainda que a inflamação seja variável, geralmente existe pelo menos moderado número de neutrófilos. Ocasionalmente a inflamação com infiltrado neutrofílico é discreta ou ausente, aumento na contagem de linfócitos pode ser aparente. O número de macrófagos está aumentado e muitos são espumosos (FREEMAN & ROSZEL, 1997).

A variação nos tipos celulares observados em cavalos com diagnóstico clínico de DIVA parece um tanto técnica quando regional. As contagens mais altas de mastócitos são em animais jovens enquanto as contagens mais altas de neutrófilos são em animais mais velhos, acima de 10 anos (HOFFMAN, 1999).

Em animais com DIVA, Couetil *et al.* (2001), consideraram como padrão citológico inflamatório misto, um aumento significativo na contagem absoluta de linfócitos e um aumento não significativo no percentual de neutrófilos.

Holcombe *et al.* (2001), observaram alta percentagem de neutrófilos e baixa de linfócitos em cavalos árabes jovens após a estabulação, caracterizando DIVA.

Ferro *et al.* (2002), na caracterização de padrões citopatológicos para 53 cavalos com DIVA, descreveram eosinofilia de 6,8% em 11,3% dos animais, neutrofilia de 7,2% em 18,9% dos animais, quadros com número de mastócitos de 6,1% em 15,1% dos animais e inflamação mista em 54,7% dos animais.

Um aumento de origem não traumática na população de células epiteliais do LBA é comumente observado em animais com infecções virais. O LBA de cavalos com ORVA ou cavalos jovens com DIVA em estado agudo, pode também demonstrar células epiteliais com perda de cílios e dano citoplasmático, entretanto, a separação da placa ciliar inteira é raramente evidente nestes casos (HEWSON, 2002; VIEL, 1997b).

O perfil citológico mais encontrado em equinos com DIVA é caracterizado pelo aumento de células nucleadas, com neutrofilia, linfocitose e monocitose moderadas. Outras duas apresentações encontradas em animais jovens são caracterizadas por aumento de mastócitos (2%), e eosinófilos (0,1%). Citologias do LBA indicativas de DIVA, têm sido associadas à baixa performance e intolerância ao exercício tanto em cavalos de corrida como não corredores. Em comparação, o fluido do LBA apresenta moderada a severa neutrofilia (20%) e diminuição da contagem de linfócitos e macrófagos na ORVA. Uma maneira prática de discriminar ORVA de DIVA em cavalos não corredores e adultos é desafiando-os com feno. Animais com DIVA exibem uma piora da tosse e da neutrofilia pulmonar, mas não desenvolvem esforços respiratórios como fazem os cavalos afetados com ORVA. Esse protocolo não é recomendado para diagnóstico clínico, apenas é útil na caracterização em objetos de pesquisa. A HPIE é causa comum de baixa performance em cavalos de corrida. O diagnóstico é feito pelo achado de sangue na traqueoscopia ou pela detecção de conteúdo de hemossiderina em macrófagos alveolares. A hemorragia ocorre quase que exclusivamente nas áreas caudo-dorsais do pulmão e está associado com bronquiolite macrofágica e fibrose. Tem sido sugerida que a inflamação das vias aéreas inferiores predispõem a HPIE, mas diversos estudos não têm encontrado nenhuma correlação entre a contagem de hemossideróforos e neutrófilos no LBA de cavalos com DIVA. (COUETIL, 2007).

2.6.2 Marcadores biológicos do processo inflamatório

O perfil dos mediadores inflamatórios nas secreções, como imunoglobulinas, eicosanóides, atividade procoagulante, estão bem caracterizados na ORVA (MOORE *et al.*, 1997). A maior parte das características mais precoces de uma injúria pulmonar é um aumento da permeabilidade através das barreiras pulmonares endoteliais e epiteliais. (FLORI & PITET, 1999).

Acredita-se que a vasodilatação e o aumento de permeabilidade vascular que ocorre na fase imediata do processo inflamatório são mediados pela histamina e serotonina. A ativação do sistema de coagulação pode ser desencadeada pelo fator de Hageman ativado, o qual agiria em conjunto com a tromboplastina: o fator tecidual, que por sua vez converteria protrombina em fibrina. A tromboplastina também é ativada pela injúria tecidual (MONTENEGRO & FRANCO, 1995).

O fibrinogênio, uma complexa glicoproteína, que funciona como importante cofator na mediação da agregação plaquetária, nas respostas *in vitro* e *in vivo*, e as plaquetas contêm uma grande quantidade de fibrinogênio. Sua síntese e “turn over” podem ser expressivamente acelerados durante a resposta de fase aguda induzida por lesão tecidual, inflamação, estresse e elevação do ACTH (DOODD, 1997).

Winder *et al.* (1990), estudaram os derivados solúveis de fibrinogênio em secreções respiratórias de equinos, levantando a hipótese de tal marcador ser utilizado como indicador de inflamação pulmonar, assim como atividade procoagulante atribuída a atividade macrofágica e a capacidade desses macrófagos alveolares de se ligarem a fibrina/fibrinogênio, capacidade estimulada pela expressão da atividade procoagulante, levando a coagulação e conseqüentemente ao acúmulo de fibrina/fibrinogênio nos alvéolos.

Grunig & Hulliger (1990), atribuíram a produção de atividade procoagulante (APC) a varias células presentes em lesões inflamatórias, incluindo as plaquetas, fibroblastos, células endoteliais, monócitos e macrófagos, predominantemente associados à imunidade mediada por células. Entretanto monócitos submetidos a estímulos de maturação até macrófagos *in vitro*, sob estritas condições livres de endotoxinas não demonstraram APC, e ainda estudos anteriores citados pelo autor

caracterizaram atividade procoagulante em pulmões de bovinos, ovinos, humanos e coelhos, todos normais.

A APC estava presente no LBA de 66% dos eqüinos com DIVA, mas não foi detectado nos animais controles (MOORE, 1997).

O número percentual de animais com ORVA que expressaram APC foi de 59%, aumentando a atividade de acordo com a severidade da doença, e ainda foi correlacionado positivamente ao aumento da contagem de linfócitos no LBA. (GRUNIG *et al.*, 1991)

O Fator tecidual ou tissular, também chamado tromboplastina é uma glicoproteína que por uma variedade de estímulos inflamatórios, é expressa na superfície de células endoteliais, monócitos e macrófagos, com fortes propriedades quimiotáticas. Em modelos experimentais de *sepsis*, a atividade procoagulante dependente do fator tissular foi correlacionada com o nível de fator de necrose tumoral alfa (BOKAREWA, 2002). Os macrófagos são estimulados por bactérias a aumentar a expressão assim como por lipopolissacarídeos (LPS), imunocomplexos e lipoproteínas (GRUNIG, 1991; ROSENTHAL, 1989; COLE, SWEET e LEVY, 1986)

O fator ativador de plaquetas (FAP) é um fosfolípido promove ativação e agregação de plaquetas, aumento da permeabilidade vascular, influxo de polimorfonucleares, ativa fagócitos e estimula a produção de interleucina-1 (IL-1) (MONTENEGRO & FRANCO, 1995). Estudos prévios demonstraram a capacidade do FAP de orientar positivamente os macrófagos para indução da atividade procoagulante induzida por LPS (KUCEY, CHEUNG e ROTSTEIN, 1992).

Salzer & McCall (1990), apontaram o FAP como fator estimulador responsável por aumentar a produção de tromboxanos na injúria pulmonar de coelhos, e DUNKEL (2007), atribuiu o aumento da ativação plaquetária e o seu papel relevante no processo inflamatório em pôneis com ORVA.

Ressalta-se dentre diversas citocinas, a interleucina-1 (IL-1) e o Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) (MONTENEGRO & FRANCO, 1995).

A IL-1 é produzida por diversas células, diferente do TNF- α que é principalmente produzido por macrófagos ativados, mas ambas participam ativamente do processo inflamatório como mediadores, e especialmente o TNF- α como recrutador de células fagocíticas (ABBAS, 2000; e TIZARD, 1998).

Parbhakar *et al.* (2005), em estudo com eqüinos, atribuíram a inibição parcial da inflamação pulmonar induzida por LPS à depleção de macrófagos pulmonares intravasculares, os quais também já foram identificados em bovinos, ovinos, suínos e gatos. TNF- α e IL-1 β secretados pelos macrófagos são considerados críticos para cascata inflamatória induzida por endotoxina.

Becker *et al.* (1999), encontraram elevados níveis de RNAm de IL-6 e TNF- α no LBA de trabalhadores expostos a poeira de grãos, indicando uma resposta inflamatória compartimentalizada a poeira inalada, com envolvimento primordial de macrófagos, neutrófilos e células epiteliais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Foram utilizados no presente estudo 20 equinos, 12 machos e 8 fêmeas, entre 5 e 22 anos de idade (Quadro 4), do Regimento Escola de Cavalaria Andrade Neves (REsC,ME, RJ), Exército Brasileiro.

Todos os animais foram submetidos às mesmas condições de estabulação, alimentação, manejo sanitário; vermifugados e vacinados contra influenza eqüina. Nenhuma terapêutica farmacológica foi realizada no grupo nos dois meses que antecederam o experimento.

3.2 Exame físico

Foram registrados os dados de identificação, o peso, o estado geral, a atitude e o comportamento, o aspecto do pelo, da pele, das mucosas aparentes, linfonodos, os parâmetros vitais e as informações colhidas à inspeção, palpação, percussão e ausculta do aparelho respiratório.

Foram considerados negativos (normais) ao exame físico, os animais cujos achados estavam dentro dos limites fisiológicos.

Foram considerados positivos (inflamados) os que apresentaram uma ou mais, das seguintes manifestações clínicas: intolerância ao exercício, rinorréia, tosse, dispnéia, dilatação de narinas, hipersonoridade com aumento caudo-ventral de mais de 4 cm à percussão dos campos pulmonares e auscultação pulmonar com ruídos respiratórios aumentados, crepitações ou roncos, isolados ou combinados.

3.3 Exame broncoscópico

Os exames foram executados de maneira pontual, com fibroscópio marca OLYMPUS® modelo GIF-PQ 20 (9mm de diâmetro externo, 2,8 mm de diâmetro no canal de trabalho e 103 cm de comprimento). O aparelho respiratório foi examinado desde os meatos nasais (bilateralmente) até a traquéia.

Foram considerados negativos os animais que apresentaram a traquéia em condições de normalidade (mucosa brilhante, íntegra e de coloração pálida, sem a presença de qualquer tipo de exsudato).G0-G1

Foram considerados positivos (inflamados), os animais que, obrigatoriamente, apresentaram exsudato na traquéia com ou sem hiperemia e/ou facilidade na provocação de tosse pela presença do endoscópio nesta região. G2-G4

3.4 Análises laboratoriais (hematologia, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio)

As amostras de sangue foram obtidas por venopunção jugular num volume aproximado de três mL e acondicionadas em tubo de ensaio contendo EDTA (VACUNTAINER, B-D®). O hemograma e a determinação de fibrinogênio e proteínas plasmáticas totais foram executados conforme as metodologias descritas por Colles (1984), tomando por base os valores de referência de Tyler *et al.*, (1987).

Os resultados do hemograma foram expressos em células por μL , os de proteínas totais em grama por decilitro, e fibinogênio em miligramas (mg) por decilitro.

3.5 Lavado broncoalveolar

Os animais foram contidos com cachimbo e sedados com Romifidina (SEDIVET®) na dosagem de 0,04 mg/kg, IV. Executou-se a higienização das narinas com água destilada e sabão neutro. Uma sonda BIVONA® (Equine Broncho-alveolar LAVAGE Catheter) previamente esterilizada em autoclave foi inserida até a faringe através do meato nasal inferior. Instilou-se na glote e traquéia uma pequena quantidade da solução de lidocaína a 0,5% sem vaso constritor aquecida a 37°C. Esperou-se de 1 a 2 minutos para diminuir o reflexo de tosse.

Com a cabeça do equino posicionada em extensão da articulação atlanto-occipital, o mais horizontal possível, inseriu-se a sonda na traquéia (Figura 1). Uma vez neste local, instilou-se mais 20-30 ml da solução de lidocaína. A instilação de lidocaína prosseguiu conforme o avanço da sonda e o desencadeamento da tosse, não ultrapassando um volume total de 60 ml. A sonda foi conduzida lentamente até encontrar-se resistência. Neste ponto o balão foi inflado com até 10 ml de ar e fixou-se a extremidade posterior da sonda à narina através de equipos plásticos que fixam a sonda ao cabresto ou buçal.

Um frasco de 250 ml de solução salina aquecida a 37°C foi acoplado a um equipo, o qual estava conectado à sonda através de uma torneira descartável de três vias® (Mark Med). Através de insuflação do frasco de solução salina com pêra de borracha, infundiu-se todo o volume, sob pressão (Figura 2). Em seguida o registro da torneira foi reposicionado abrindo para a outra saída onde estava conectada uma seringa de 60 ml para aspiração do fluído infundido. Quando o volume recuperado não era suficiente (menos de 90 ml), fazia-se nova infusão de 250 ml.

O fluído aspirado foi acondicionado em frasco estéril, graduado, de vidro com capacidade para 250 ml, como pode ser visto na Figura 3 (SCHOTT Duran®). Adicionaram-se 2 ml de uma suspensão de antibióticos contendo 40 mg de Gentamicina. O frasco foi mantido em gelo até a hora do processamento laboratorial.

A técnica descrita acima foi definida por Lessa *et al.* (2002) e Lessa (2003).

3.6 Citologia do Lavado Bronco-Alveolar (LBA)

Alíquotas de 200 µl obtidas do lavado bronco-alveolar (LBA) em fluxo laminar, foram submetidas a citocentrifugação (CITOSPIN, INCIBRÁS®) à 28 g durante 6 minutos. Este procedimento foi realizado num prazo máximo de 4 horas após a coleta. As lâminas foram confeccionadas em duplicata, fixadas ao ar e coradas pelo método May-Grunwald-Giemsa. A leitura foi realizada em microscopia óptica de imersão (Olympus BX 40®) com aumento de 1000x. Foram contadas um mínimo de 600 células e analisadas segundo os tipos celulares predominantes; neutrófilos, linfócitos, macrófagos, esinófilos, mastócitos, células epiteliais (Figuras 4 a 12).

3.7 Viabilidade das células presentes no LBA

Alíquotas de 100µL LBA foram misturadas a 2 µL de brometo de etídio e 2 µL de laranja de acridinium, e desta solução realizada a contagem de células em câmara de Neubauer improved em microscopia fluorescente (microscópio OLYMPUS BX 40®) com aumento de 400x em campo escuro, expressando o resultado em células por µL. As células que manifestavam cor verde fluorescente foram consideradas viáveis, enquanto aquelas que expressavam traços ou na totalidade, a cor laranja fluorescente caracterizavam comprometimento morfológico, e, portanto consideradas não viáveis.

3.8 Contagem Total de Células do LBA

Uma alíquota de 50 mL de lavado homogeneizado de cada animal foi centrifugada a 450 g durante 5 minutos a 4 °C (centrífuga refrigerada IEC Centra MP 4R®). O sobrenadante foi desprezado e as células do pelet ressuspensas em 01 ml de PBS. Desta suspensão celular realizou-se uma diluição 1:50 com diluente de Turck da qual preencheu-se a câmara de Neubauer para contagem celular total em microscopia óptica (microscópio OLYMPUS BX 40®) com aumento de 400x. O resultado foi expresso em células por microlitro(μ L).

3.9 Atividade Pro Coagulante (APC)

3.9.1 *Ex-vivo* células aderentes (APC *ex-vivo* AD)

Um volume ajustado a partir da contagem total de células do pelet ressuspensão do LBA correspondente a 10^6 células, foi adicionado junto a 10 μ L de PBS estéril em uma placa de Petri estéril de plástico, e mantido em estufa a 37° C durante 60 minutos com o objetivo de promover aderência de células na placa. Após os 60 minutos, foi desprezado o sobrenadante da placa, e com um bastão despreendeu-se as células aderidas juntamente com 5 μ L de PBS. Esse material foi submetido à centrifugação 450 g durante 5 minutos a 4 °C (centrífuga refrigerada IEC Centra MP 4R®), desprezou-se o sobrenadante, e então feita a contagem de células aderentes provenientes deste pelet ressuspensão em PBS. Após a contagem, foi feito o ajuste para a obtenção de um volume correspondente a 10^5 células, mantido sempre sob refrigeração.

O volume referente a 10^5 células foi transferido para tubo siliconizado sem anticoagulante BD®, acrescido de 100 μ L de plasma citratado proveniente de um pool de cinco animais controle, e mantido em banho maria a 37° C durante 2 minutos. Em seguida foi acrescido ao tubo 100 μ L de Cloreto de Cálcio ao mesmo tempo em que disparava-se um cronômetro. Observava-se o material até a formação do coágulo, quando então se parava o cronômetro. O tempo referente era anotado em segundos

3.9.2 *Ex-vivo* células totais (APC *ex-vivo* TT)

Um volume ajustado a partir da contagem total de células do pelet ressuspensão do LBA correspondente a 10^5 células, foi adicionado a um tubo siliconizado sem anticoagulante BD®, acrescido de 100 μ L de plasma citratado proveniente de um pool de cinco animais controle, e mantido em banho maria a 37° C durante 2 minutos. Em seguida foi acrescido ao tubo 100 μ L de Cloreto de Cálcio ao mesmo tempo em que disparava-se um cronômetro. Em seguida observava-se o material até a formação do coágulo, quando então se parava o cronômetro. O tempo referente era anotado em segundos.

3.9.3 Em Cultivo (APC AD, APC AD Lps, APC TT, APC TT Lps)

Um volume ajustado a partir da contagem total de células do pelet ressuspensão do LBA correspondente a 2×10^6 células foi colocado em placa para cultivo celular de 24 poços (COSTAR® 3424), contendo 1000 μ l de RPMI 1640 (GIBCO BRL®) em cada poço, enriquecido com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB, Fetal Clone I, Hyclone Lab. Inc., Logan, Utah, USA) inativado pelo calor. Para cada animal eram plaqueadas o referido número de células em oito poços. A placa era colocada em estufa a 37°C em uma atmosfera de 7% CO₂.

Após 01 hora, a placa retornava para o fluxo laminar, onde eram retirados os sobrenadantes de quatro poços, em seguida acrescentado no cultivo 4 μ l de LPS organizando a placa em ensaios da seguinte forma:

Todo ensaio foi feito em duplicata, sendo um ensaio para células totais, outro para células aderentes, e repetindo os mesmos ensaios acrescidos de LPS, ocupando um total de oito poços para cada animal, de forma estéril.

A placa retornava para estufa. Após 24h de cultivo, já em fluxo laminar, todos os sobrenadantes eram retirados e transferido uma alíquota de 500 µl de cada poço para “*ependorf*” estéril, identificado e congelado a - 4° C.

Todos os poços eram lavados com PBS, e com auxílio de um bastão eram desprendidas as células e transferidas para tubos “*falcon*” referentes a cada poço e sua duplicata. Esses foram centrifugados a 450 g durante 5 minutos a 4 °C (centrífuga refrigerada IEC Centra MP 4R®). O sobrenadante foi desprezado e as células do “pelet” ressuspensas em 1 ml de PBS. Desta suspensão celular realizou-se uma diluição 1:50 com diluente de Turck da qual preencheu-se a câmara de Neubauer para contagem celular total em microscopia óptica (microscópio OLYMPUS BX 40®) com aumento de 400x. O resultado foi expresso em células por µL.

Um volume ajustado a partir da contagem total células do cultivo do pelet ressuspensão correspondente a 10^5 células, foi adicionado a um tubo siliconizado sem anticoagulante BD®, acrescido de 100µL de plasma citratado proveniente de um pool de cinco animais controle, e mantido em banho maria a 37° C durante 2 minutos. Em seguida foi acrescido ao tubo 100µL de Cloreto de Cálcio ao mesmo tempo em que disparava-se um cronômetro. Em seguida observava-se o material até a formação do coágulo, quando então se parava o cronômetro. O tempo referente era anotado em segundos.

3.9.4 Controles

O pool de controle era proveniente de 5 animais sem quaisquer alteração clínica ou laboratorial no que diz respeito ao hemograma, fibrinogênio e proteínas plasmáticas totais, assim como eram mantidos em boas condições de estabulação, alimentação, manejo sanitário. Os referidos animais não passaram por qualquer manejo terapêutico medicamentoso no 60 dias que antecederam a coleta.

Para cada dia de teste de atividade procoagulante, eram feitos em triplicatas os mesmos procedimentos com o controle, isto é, 100µL de plasma citratado era colocado em tubo siliconizado, e mantido em banho maria a 37° C durante 2 minutos. Em seguida era acrescido ao tubo 100µL de Cloreto de Cálcio ao mesmo tempo em que disparava-se um cronômetro. Em seguida observava-se o material até a formação do coágulo, quando então se parava o cronômetro. O tempo referente era anotado em segundos.

3.10 Avaliação laboratorial do Fator de Necrose Tumoral (TNF)

Determinação da produção de TNF- α

Para a produção de TNF- α , células do lavado broncoalveolar totais foram cultivadas em meio RPMI 1640 contendo 5% de soro fetal bovino (Sigma) ou na presença de 5 µg de LPS, usado como controle positivo. Após 24 h, os sobrenadantes foram removidos, centrifugados em centrífuga refrigerada (centrífuga refrigerada IEC Centra MP 4R®) a 1000 g, colocados em “*ependorfs*” e estocados a -80 °C até a realização do bioensaio. Células fibroblásticas tumorais de camundongos da linhagem L929 foram utilizadas para medir os níveis de TNF- α nos sobrenadantes das culturas. Células L929 em meio RPMI-1640 foram colocadas em microplacas de cultura (TRP) de 96 orifícios (5 x 104 células/por orifício) e incubadas “*overnight*” a 37°C em estufa com 5% de CO₂. Os sobrenadantes da cultura (100 µl), em triplicata, foram incubados com 1.0 µg de

actinomicina D mL⁻¹ (Sigma) (100 µl). No dia seguinte, a viabilidade das células L929 foi avaliada adicionando 20 µl da solução de 3-(4,5 dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide (MTT) contendo 5 mg por ml. e incubado por mais 3 horas nas mesmas condições acima. Após a incubação, o sobrenadante das culturas foram cuidadosamente removidos e os cristais púrpura de formozam formados por ação das enzimas mitocondriais das células viáveis foram solubilizados com adição 200 µl de solução de isopropanol acidificado. Após a solubilização as placas foram levadas para leitura da absorbância na leitora de micro placa para ELISA (Anthos 2010, USA) com comprimento de ondas de 570 nm.

A concentração (pg/ml) de TNF- α foi estimada a partir da diluição que produziu a Densidade Óptica média na curva padrão de TNF- α recombinante. Obtendo-se, assim, os valores de TNF- α (pg/ml) no sobrenadante da cultura.

3.11 Avaliação laboratorial do óxido Nítrico

Determinação da produção de óxido nítrico

As concentrações de óxido nítrico foram indiretamente avaliadas pela determinação do acúmulo de nitrito [NO₂⁻] nos sobrenadantes das culturas utilizando-se o método de Griess .Misturaram-se volumes iguais do sobrenadante (50µl) da cultura celular e o reagente de Griess (0.5% sulfanilamida, 0.005% de dihydrocloreto de naphthylenodiamina e 2.5% de H₃PO₄) e a absorbância lida a 570 nm em espectrofotômetro (Anthos 2010, USA). Os resultados expressos em µmoles foram calculados pela comparação com a curva padrão realizada com nitrato de sódio (Merck, EUA) nas concentrações de 100 a 0.31 µM.

3.12 Avaliação dos resultados e análise estatística

Os resultados gerais dos parâmetros avaliados foram separados em 4 Categorias de Análises e submetidos inicialmente ao cálculo das médias e desvios padrões, de acordo com os grupos que compunham cada categoria. Cada momento de comparação entre médias foi submetido ao teste t de Student, com nível de probabilidade de erro que variava de acordo com a categoria e os parâmetros em questão.

3.12.1 Categoria de Análises 1

Foi avaliada a eficácia dos métodos para mensuração dos parâmetros propostos, quando existia mais de uma técnica disponível.

Os parâmetros avaliados foram a Atividade pro coagulante (APC), o Fator de Necrose Tumoral (*TNF*) e o Óxido Nítrico (*NO*), com nível de probabilidade de erro de 0,1% (Figuras 13 a 15 e Quadros 1 a 3).

3.12.2 Categoria de Análises 2

As amostras dos animais foram divididas em 2 grupos de acordo com as Classificações Broncoscópicas G0/G1 (Grupo 1) e G2/G3 (Grupo 2).

Os parâmetros avaliados foram:

a) Citologia: idade (anos), viabilidade (%), volume recuperado (%), concentração de células (células x 1000 / mL), e os percentuais de neutrófilos, linfócitos, macrófagos, macrófagos espumosos, macrófagos em sincícios ou células gigantes, macrófagos com hemossiderina ou hemossiderófagos, células epiteliais, eosinófilos e mastócitos;

b) Análises hematológicas: leucometria global (células x 1000 / mL), volume globular (%), proteínas plasmáticas totais (g/dL), fibrinogênio (mg/dL) e os percentuais de basófilos, eosinófilos, neutrófilos bastões, neutrófilos segmentados, linfócitos e monócitos, além da relação neutrófilos/linfócitos (N/L);

c) Análise da APC: *ex-vivo* AD, *ex-vivo* TT, AD, AD Lps, TT e TT Lps;

d) *TNF*: AD, AD Lps, TT, TT Lps;

e) *NO*: AD, AD Lps, TT, TT Lps.

O nível de probabilidade de erro para as comparações entre médias foi de 5% (Figuras 16 a 53).

3.12.3 Categoria de Análises 3

As amostras foram divididas em dois grupos extremos, de acordo com a Classificação Broncoscópica da Categoria 2, combinada com a idade dos animais. Fizeram parte desta Categoria, os animais da Classificação G0/G1 com menos de 10 anos ($G0/G1 < 10$) e os animais G2/G3 com mais de 10 anos ($G2/G3 > 10$). As amostras dos animais G0/G1 com mais de 10 anos, bem como daqueles G2/G3 com menos de 10 anos, não fizeram parte das comparações entre médias.

Foram avaliados os mesmos parâmetros da Categoria de Análises 2.

A diferença de significância entre as médias de idade foi avaliada ao nível de probabilidade de erro de 1%. Para a citologia, a APC e o *NO* (quando aplicável), a diferença entre as médias, foi avaliada ao nível de 10% de probabilidade de erro. As análises hematológicas e o *TNF* foram submetidos à significância de 5% de probabilidade de erro (Figuras 54 a 91).

3.12.4 Categoria de Análises 4

Foram avaliadas as relações entre os percentuais de animais de cada grupo e as relações entre as diferenças de resultados nos testes que apresentaram valores de *t* próximos a até 10 % de probabilidade de erro nas Categorias de Análises 2 e 3 (Figuras 92 a 95).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados gerais, com o número total de animais, sexos, idades, classificação broncoscópica e testes aplicados estão listados nos Quadros 4 a 8. Por razões diversas, não puderam ser utilizadas todas as amostras para todos os testes. Sendo assim, apresenta-se em cada quadro de comparação de médias, o número de animais a ser avaliado em cada grupo, para cada análise.

Na Categoria de Análises 1, foi avaliada a eficácia dos métodos para mensuração dos parâmetros propostos, quando existia mais de uma técnica disponível.

Os parâmetros avaliados foram a Atividade pro coagulante (APC), o Fator de Necrose Tumoral (*TNF*) e o Óxido Nítrico (*NO*), com nível de probabilidade de erro de 0,1% (Figuras 13 a 15 e Quadros 1 a 3).

Dentro da Categoria de Análises 1 pôde-se verificar que as técnicas para avaliação da APC demonstraram diferenças ao nível de 0,1% de probabilidade pelo teste t. Essas diferenças não foram significativas entre as técnicas de avaliação da APC *ex-vivo* AD e TT. Entretanto, ambas apresentaram diferenças significativas entre as técnicas de avaliação da APC AD, AD Lps, TT e TT Lps. Estas quatro últimas técnicas também não demonstraram diferenças significativas entre si (Figura 13, Quadro 1). Como os resultados das análises de APC para as amostras de lavado broncoalveolar dos eqüinos avaliados demonstraram maior eficácia dentro dos testes *ex-vivo* TT (Figuras 93 e 95), sugere-se que somente testes *ex-vivo* sejam utilizados.

Com relação ao *TNF*, verificou-se diferenças significativas ao nível de 0,1% de probabilidade pelo teste t, entre as técnicas AD e as demais. Entretanto, não foram observadas diferenças significativas entre as técnicas AD Lps, TT e TT Lps (Figura 14, Quadro 2). Pelos resultados das análises de *TNF* para as amostras de lavado broncoalveolar (Figuras 85 e 95), sugere-se que ambos os testes que utilizaram AD Lps e TT Lps, possam ser utilizados em avaliações futuras.

Em relação às técnicas de avaliação do *NO*, não foram observadas diferenças significativas entre nenhuma delas (Figura 15, Quadro 3), além do fato que as análises realizadas no lavado, não auxiliaram na sugestão de nenhuma técnica específica a ser utilizada para esse procedimento e tampouco se alguma poderia ser sugerida, devido às diferenças não significativas (Figuras 50, 51, 52, 53, 88, 89, 90 e 91).

Deve ser comentado que, de acordo com PARBHAKAR *et al.* (2005), em estudo com eqüinos, a avaliação dos testes *in vitro* com LPS é válida, uma vez que pode levar à inibição parcial da inflamação pulmonar induzida por LPS, decorrente da depleção de macrófagos pulmonares intravasculares, como ocorre em outras espécies.

De acordo com a validação da Categoria de Análises 2, que avaliou os grupos G0/G1 e G2/G3, verificou-se que não houve diferença entre as médias de idade, ao nível de 5% probabilidade de erro (Figura 16). Isto é apropriado à separação destes grupos dentro de um aspecto de abrangência mais amplo.

Na Categoria 2, também não foram observadas diferenças significativas, ao nível de 5% de probabilidade de erro, entre as médias dos parâmetros da Citologia: viabilidade (Figura 17), volume recuperado (Figura 18), total de células por microlitro

(Figura 19) e entre os percentuais de neutrófilos (Figura 20), linfócitos (Figura 21), macrófagos (Figura 22), macrófagos espumosos (Figura 23), macrófagos com inclusão de hemossiderina / hemossiderófagos (Figura 24), macrófagos em sincícios / células gigantes (Figura 25), células epiteliais (Figura 26), eosinófilos (Figura 27) e mastócitos (Figura 28).

Em relação às análises hematológicas, também não foram observadas diferenças entre os parâmetros: leucometria global (Figura 29), volume globular (Figura 30), proteínas totais plasmáticas (Figura 31), fibrinogênio (Figura 32) e entre os percentuais de basófilos (Figura 33), eosinófilos (Figura 34), neutrófilos bastões (Figura 35), neutrófilos segmentados (Figura 36), linfócitos (Figura 37), relação neutrófilos / linfócitos (Figura 38) e monócitos (Figura 39).

Ainda na Categoria 2, não foram observadas diferenças, ao nível de 5% de probabilidade de erro, entre os grupos com relação à APC em nenhuma das técnicas utilizadas (Figuras 40, 41, 42, 43, 44 e 45). O mesmo ocorreu com o *TNF* (Figuras 46, 47, 48 e 49) e o *NO* (Figuras 50, 51, 52 e 53). Deve-se comentar que em relação ao *TNF* foram utilizados como método de comparação, apenas os valores acima de 0,25 e para o *NO*, apenas os valores acima de 0,3. Deve-se ressaltar ainda que para o *NO*, em determinados casos, não houve como realizar as avaliações pois o número de amostras era igual a 0 (zero) e portanto, impossível de aplicar o teste t. Tratava-se de uma situação diferente da média ser zero, pois como a amostra era zero, a média era impossível de ser calculada (Figura 53).

De acordo com a validação da Categoria de Análises 3, que avaliou os grupos G0/G1 com animais abaixo de 10 anos ($G0/G1 < 10$) e G2/G3 com animais acima de 10 anos ($G2/G3 > 10$), verificou-se que houve diferença entre as médias de idade, ao nível de 1% probabilidade de erro (Figura 54). Isto é apropriado à separação destes grupos dentro de um aspecto de abrangência mais restrito de acordo com a idade.

A ocorrência de DIVA está particularmente envolvida com animais de corrida jovens, de acordo com HODGSON (2002). HOLCOMBE *et al.* (2001), observaram alta percentagem de neutrófilos e baixa de linfócitos em cavalos árabes jovens após a estabulação, caracterizando DIVA. De acordo com COUETIL (2007), alterações citológicas são, de fato, mais comumente encontradas em animais jovens. Entretanto, de acordo com a nova definição clínica para DIVA, ela poderia acometer animais de qualquer idade (com queda de performance, intolerância ao exercício, tosse com ou sem excesso de muco traqueal, inflamação asséptica detectada pelo exame citológico do lavado broncoalveolar, disfunção pulmonar baseada na evidência de obstrução das vias aéreas posteriores, hipersensibilidade, ou ainda impedimento de troca gasosa em repouso ou durante exercício (COUËTIL, 2007). De acordo ainda com HOFFMAN (1999), podem ser encontradas contagens mais altas de mastócitos em animais jovens, enquanto as contagens mais altas de neutrófilos ocorrem em animais mais velhos, acima de 10 anos. Isto está de acordo com a separação utilizada para a Categoria de Análises 3, do presente experimento.

Dentro da Categoria de Análises 3, não se pôde verificar nem ao nível de 10% de probabilidade de erro, um intervalo de confiança considerado muito baixo (BATSCHELET, 1978), diferenças entre as médias dos seguintes parâmetros da Citologia: viabilidade (Figura 55), volume recuperado (Figura 56), células por microlitro (Figura 57) e do percentual de neutrófilos (Figura 58), linfócitos (Figura 59), macrófagos (Figura 60), macrófagos com hemossiderina / hemossiderófagos (Figura 62), macrófagos em sincícios / células gigantes (Figura 63), células epiteliais (Figura 64) e mastócitos (Figura 66).

Entretanto, foram observados valores (a 10% de erro), significativamente mais baixos de macrófagos espumosos (Figura 61) e mais altos de eosinófilos (Figura 65), entre os animais mais jovens e com classificação broncoscópica menos grave ($G0/G1 < 10$) e os animais mais velhos e com classificação broncoscópica mais grave ($G2/G3 > 10$). Isto é sugestivo de que um processo inflamatório antigo estaria presente, porém tendendo à intensidades mais brandas (BEVILACQUA, *et al.*, 1989; HENRI, 1995). A diminuição de macrófagos espumosos / vacuolados ou mesmo superativados (característicos de uma inflamação crônica intensa), associada ao aumento de eosinófilos (que são células com alta capacidade de liberação de histaminase e de se infiltrar em focos inflamatórios agudos, onde há grande liberação de histamina), indicaria uma tendência natural de resposta orgânica (SWENSON, 1988; KLEIN, 1991; COOPER, 2001; HILL, WYSE e ANDERSON, 2004) e acomodação a um processo de injúria persistente no aparelho respiratório (HENRI, 1995; RANDALL, BURGGREN E FRENCH, 2000; HILL, WYSE e ANDERSON, 2004).

De fato, de acordo com JIMENEZ & FERNÁNDEZ (2000), os eventos relacionados com o desenvolvimento de reações inflamatórias agudas no sistema respiratório de equinos, tendem a ser deletérios devido à amplificação das respostas. Sendo assim, o processo inflamatório por si só, pode ser patológico, particularmente quando crônico (ROBINSON *et al.*, 2006). Uma percentagem excessiva de neutrófilos ou de mastócitos implica que os cavalos possam experimentar uma reação inicial da fase inflamatória (mediada por mastócitos) ou tardia (neutrófilos, eosinófilos) no momento do exame, como visto na asma humana (HOFFMAN, 1995). Os macrófagos alveolares podem ter citoplasma variando desde discretamente denso a discretamente espumoso, e isto é compatível com um estudo de ativação quiescente ou discreta destes macrófagos (HARE, 1994; VIEL, 1997a). Em casos com evidências de irritação difusa de grandes e/ou pequenas vias aéreas, ocasionalmente o número de macrófagos está aumentado e muitos são espumosos (FREEMAN & ROSZEL, 1997). Os achados do presente trabalho estão de acordo com o perfil citológico mais encontrado em equinos com DIVA, que é caracterizado pelo aumento de células nucleadas, com neutrofilia, linfocitose e monocitose moderadas. Outras duas apresentações encontradas em animais jovens são caracterizadas por aumento de mastócitos e eosinófilos. Em comparação, o fluido do lavado bronco alveolar apresenta moderada a severa neutrofilia e diminuição da contagem de linfócitos e macrófagos na ORVA. O diagnóstico de hemorragia pulmonar é feito pelo achado de sangue na traqueoscopia ou pela detecção de conteúdo de hemossiderina em macrófagos alveolares. A hemorragia está associada com bronquiolite macrofágica e fibrose. Entretanto, diversos estudos não têm encontrado nenhuma correlação entre a contagem de hemossideróforos e neutrófilos no LBA de cavalos com DIVA (COUETIL, 2007).

Na Categoria de Análises 3, as médias dos parâmetros dentro das análises hematológicas foram comparadas ao nível de 5% de probabilidade de erro. Os testes que não apresentaram diferenças significativas foram a leucometria global (Figura 67), volume globular (Figura 68), fibrinogênio (Figura 70) e os percentuais de basófilos (Figura 71), eosinófilos (Figura 72), neutrófilos bastões (Figura 73), neutrófilos segmentados (Figura 74), linfócitos (Figura 75), relação neutrófilos / linfócitos (Figura 76) e monócitos (77).

As proteínas totais plasmáticas (Figura 69) foram significativamente mais altas nos animais mais velhos com classificação broncoscópica mais alta, possivelmente sugerindo uma maior atividade de secreção de proteínas (STRYER, 1996; COOPER, 2001), ou de descamação das mucosas em decorrência da agressão tecidual contínua

(BEVILACQUA, *et al.*, 1989; HENRI, 1995; RANDALL, BURGGREN E FRENCH, 2000; RADOSTITS, MAYHEW E HOUSTON, 2002).

De acordo com MAIR, STOKES e BOURNE (1987), a transudação de proteínas incluindo IgG e IgM e ocorre provavelmente durante infecções e também pode explicar a predominância desses isotipos no pulmão inferior. A maior parte das características mais precoces de uma injúria pulmonar é um aumento da permeabilidade através das barreiras pulmonares endoteliais e epiteliais (FLORI & PITET, 1999). WINDER *et al.* (1990), estudaram os derivados solúveis de fibrinogênio em secreções respiratórias de eqüinos, levantando a hipótese de tal marcador ser utilizado como indicador de inflamação pulmonar, assim como a atividade procoagulante atribuída a atividade macrofágica e a capacidade desses macrófagos alveolares de se ligarem a fibrina/fibrinogênio, capacidade estimulada pela expressão da atividade procoagulante, levando a coagulação e conseqüentemente ao acúmulo de fibrina/fibrinogênio nos alvéolos.

Deve-se comentar que, aparentemente, apesar da lesão tecidual existir, ela não é intensa o bastante para provocar (nos animais avaliados), um estímulo à mobilização de reservas medulares, ou à produção de eosinófilos, uma vez que o aumento tecidual não foi acompanhado de um aumento em circulação (KLEIN, 1991; HENRI, 1995).

Ainda na Categoria de Análises 3, as médias das comparações entre as médias dos grupos em relação à APC, foram avaliadas dentro de um nível de probabilidade de erro de 10% de probabilidade. Nenhum parâmetro avaliado, apresentou diferença significativa: APC *ex-vivo* AD (Figura 78), APC *ex-vivo* TT (Figura 79), APC AD (Figura 80), APC AD Lps (Figura 81), APC TT (Figura 82) e APC TT Lps (Figura 83).

O *TNF* foi avaliado ao nível de 5% de probabilidade de erro, e indicou os seguintes resultados: *TNF* AD (Figura 84), *TNF* TT (Figura 86) e *TNF* TT Lps (Figura 87), não apresentaram diferenças significativas. O *TNF* AD Lps foi significativo dentro do limite de 5 % de probabilidade (Figura 85), sugerindo que a aderência e a incubação com Lps, componham uma técnica adequada para a análise do *TNF* (BRACHT & ISHII-IWAMOTO, 2003), em amostras de lavado broncoalveolar de eqüinos e que seu aumento no segundo grupo estaria relacionado a um maior consumo metabólico pelo desgaste crônico, decorrente de possíveis injúrias causadoras de processos inflamatórios (KLEIN, 1991; HENRI, 1995; STRYER, 1996; RANDALL, BURGGREN E FRENCH, 2000; RADOSTITS, MAYHEW E HOUSTON, 2002; HILL, WYSE e ANDERSON, 2004). PARBHAKAR *et al.* (2005), consideram o *TNF- α* e a *IL-1 β* secretados pelos macrófagos, como críticos para cascata inflamatória induzida por endotoxina.

Por fim, ainda na Categoria de Análises 3 os resultados do *NO*, foram avaliados ao nível de 10% de probabilidade e não apresentaram diferenças significativas entre as técnicas *NO* AD Lps (Figura 89). Para as técnicas *NO* AD (Figura 88), *NO* TT (Figura 90) e *NO* TT Lps (Figura 91), os testes não puderam ser aplicados, pois todos os graus de liberdade eram iguais a zero.

A Categoria de Análises 4, permitiu inicialmente a visualização dos percentuais de animais comparados nos grupos G0/G1 e G2/G3, isto é, da Categoria de análises 2 (Figura 92). A seguir, possibilitou a avaliação da relação entre os percentuais de testes que estiveram dentro da faixa, ou próximos a 10% de probabilidade de erro (Figura 93). Esses parâmetros foram considerados como possíveis de se tornarem úteis em experimentos futuros, pois poderiam se tornar significativos se o número de amostras aumentasse, mesmo que os animais não fossem divididos em grupos mais restritos. Eram eles: o volume recuperado, o número de células por microlitro e os percentuais de macrófagos espumosos e macrófagos em sincícios / gigantes, que tenderiam a estar mais altos nos animais com classificação broncoscópica mais baixa. Os que aumentariam em

relação à classificação G2/G3 seriam os percentuais de eosinófilos e mastócitos e a APC *ex-vivo* TT.

Dentro ainda da Categoria de Análises 4 pôde-se verificar os percentuais de animais comparados nos grupos G0/G1<10 e G2/G3>10, isto é, na Categoria de Análises 3, bem como o percentual de animais que foram eliminados desta análise, por não se enquadrarem dentro de nenhum dos dois grupos (Figura 94). Em seguida, como na Figura 93, verificou-se a relação entre os percentuais de testes que estiveram dentro da faixa ou próximos a 10% de probabilidade de erro (Figura 95). Da mesma forma que acima, esses parâmetros foram considerados como possíveis de serem utilizados em experimentos futuros, pois poderiam se tornar significativos, caso o número de amostras aumentasse dentro de grupos mais restritos. De fato, a tendência observada no presente trabalho é a de que além de aumentar a eficácia dos testes e do número de animais, a avaliação cuidadosa dentro de grupos mais restritos, tende a ser apropriada e a aumentar o número de parâmetros válidos para os exames. Isto pôde ser evidenciado porque da Categoria de Análises 2 para a Categoria de Análises 3, o número de parâmetros de interesse aumentou de 7 para 12. Foram eles: o volume recuperado, os percentuais de linfócitos, macrófagos espumosos, macrófagos em sincícios / células gigantes, eosinófilos, mastócitos, leucometria global, proteínas plasmáticas totais, APC *ex-vivo* TT, e *TNF AD Lps* e *TT Lps*.

De acordo com o desenvolvimento do presente trabalho, reafirma-se que seu objetivo era pesquisar níveis mínimos e máximos dos parâmetros avaliados, que pudessem indicar tendências de aumento ou diminuição desses parâmetros e definir um modelo experimental para avaliação laboratorial de inflamações no aparelho respiratório de eqüinos. De fato, não se procurou uma definição inquestionável de um teste que pudesse ser utilizado para estabelecer protocolos diagnósticos. Sendo assim seu objetivo foi cumprido.

Propõe-se ainda, que a hipótese levantada na introdução tenha sido inicialmente comprovada (conforme ainda será discutido), uma vez que existem exames que podem auxiliar no aprimoramento dos métodos diagnósticos de inflamações no aparelho respiratório de eqüinos.

É relevante comentar que nos casos em que o nível de 10% probabilidade de erro foi utilizado, se ele tivesse sido desprezado, a observação de tendências que são compatíveis com os processos fisiopatológicos (e conseqüentemente com a literatura), poderia ter passado despercebida. O motivo de se ter modificado o nível de probabilidade de erro, não somente dentro do experimento, mas entre categorias e entre grupos de parâmetros dentro delas, se deu ao fato de que os parâmetros comparados que não apresentaram diferenças ao nível de 10%, apresentaram valores de t extremamente sutis. Sendo assim, também não apresentaram essas diferenças aos níveis de 5, 1 e 0,1%. De forma inversa, aqueles que apresentaram diferenças dentro de níveis de erro menores, obviamente apresentaram dentro dos níveis menos exigentes.

Deve-se levar em consideração que dentro da avaliação estatística, a diferença entre médias pela análise de variância através de testes como o de Fischer, Tuckey ou Duncan, mostraria variações dos grupos em blocos ou em observações seqüenciais (SAMPAIO, 1998; ARANGO, 2005). Este não é o caso do presente trabalho, em que as análises precisaram ser pontuais.

Além disso, se as diferenças estatísticas já foram sutis com o teste t, que é menos exigente, elas seriam ainda mais com os demais testes (que são mais exigentes), e poderiam atrapalhar na especulação de tendências, que é um dos principais objetivos desta pesquisa.

Essas tendências podem ser úteis para ajudar a definir o número de amostras em experimentos futuros, através da análise da tabela de significância e correção dos graus de liberdade. Dentre os parâmetros avaliados que apresentaram resultados de t próximos a 10% de probabilidade de erro (t tabelado=1,8 a 10 gl), observou-se o valor mínimo de t calculado igual=1,21 aos 10 graus de liberdade para a Leucometria Global na Categoria 3 (Figuras 67 e 95). Para um erro menor que 5% de probabilidade (precisão mínima arbitrariamente escolhida), o valor de t tabelado, aos 10 gl, seria de 2,2. Como o valor mínimo calculado era 1,82 vezes mais baixo que o tabelado, procurou-se na tabela de t o menor valor a 5% de probabilidade de erro e obteve-se o resultado de 1,98. O t tabelado, nestas condições, indicava 120 gl (SAMPAIO, 1998; ARANGO, 2005). Sendo assim, o número de animais pode ser calculado através da fórmula:

$$N=gl + 2.$$

O que gera o valor de 122 para o número total de animais, ou seja, sugere-se que cada grupo tenha pelo menos 60 animais em trabalhos futuros para este tipo de pesquisa. Isto está de acordo com o número de animais positivos, que compunham o grupo Teste da pesquisa de VRINS, DOUCET e NUNEZ-OCHOA (1991), que foi de 69 animais.

A análise da distribuição de freqüências pelo teste de Qui-quadrado também não é apropriada ao caso, devido ao número muito grande de parâmetros avaliados, mas pequeno de animais (*ibid*). Na verdade, ele seria útil com o ajuste proposto para o número de amostras.

A divisão da pesquisa em categorias de análises está de acordo com Aristóteles (BITTAR, 2003), que foi o grande responsável pelo desenvolvimento do método científico moderno, através de uma avaliação epistemológica, isto é, do estudo da setorização científica. No presente trabalho, esta setorização, facilitou o estabelecimento de um método experimental específico para esse tipo de pesquisa (além do ajuste da amostragem), uma vez que a proposta metodológica é baseada na identificação de causa e efeito, como descrevia Descartes (SPROUL, 2002). A setorização (epistemológica), através de categorias, facilitou, portanto, a construção de um método cinético.

A análise pontual inicial, que apenas indicaria se a diferença seria significativa ou não, pôde assim ser transformada em outra, que estaria indicando as tendências.

Sugere-se que o caráter de avaliação do momento da análise, possa ser utilizado através das categorias para compor um modelo derivativo do estudo de processos pontuais, gerando um “afunilamento” de informações.

Desta forma, o método proposto, poderia ser capaz de indicar:

- a) Se a maioria dos testes é válida pelo aspecto do próprio teste (ex. em relação ao total de formas de avaliação da APC, se a maioria é sensível o bastante para gerar resultados confiáveis em amostras conhecidas como padrões);
- b) Se a avaliação da diferença entre grupos mais abrangentes é válida;
- c) Se a avaliação da diferença entre grupos mais restritos é válida;
- d) Se a maior parte dos testes propostos é válida pelo aspecto da identificação do processo inflamatório;
- e) Se a correlação com a classificação broncoscópica para separação dos grupos é válida;
- f) Se existem parâmetros laboratoriais válidos para correlação com a classificação broncoscópica;
- g) Se existem aspectos inquestionáveis sobre quais testes são válidos no presente trabalho;

h) Se é válido o questionamento sobre a possibilidade de determinados parâmetros laboratoriais terem sido influenciados pela técnica de colheita / processamento e a conseqüente indicação da necessidade de refinamento de todas as técnicas.

Assim, dentro de um contexto dialético, baseado no “Diálogo Socrático” (MANNION, 2004), no qual o debate lógico da oposição de pontos de vista permite o desenvolvimento de formas de análise científica que vão se desenvolvendo de acordo com o aparecimento de novas perguntas, propõe-se também que a pesquisa passe a se conduzir, como ocorreu com o presente trabalho.

A Distribuição de índices matemáticos simples, como 0 para os pontos inválidos e 1 para os válidos, permite o entendimento cinético de que a seleção dos testes mais sensíveis e da amostragem apropriada, leva à escolha de que os animais a serem testados façam parte de um grupo mais restrito com relação às suas características genéticas e ambientais.

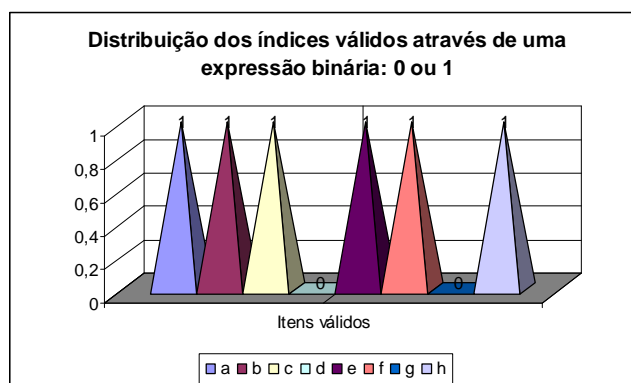
Baseado no raciocínio que Descartes propôs (SPROUL, 2002), a idéia anterior (causa), é provada (efeito) da seguinte forma:

- a) A maior parte dos testes é válida – valor 1;
- b) A avaliação da diferença entre grupos mais abrangentes é válida – valor 1;
- c) A avaliação da diferença entre grupos mais restritos é válida – valor 1;
- d) A maior parte dos testes não é válida pelo aspecto da identificação do processo inflamatório – valor 0;
- e) A correlação com a classificação broncoscópica para separação dos grupos é válida – valor 1;
- f) Existem parâmetros laboratoriais válidos para correlação com a classificação broncoscópica – valor 1.
- g) Não existem aspectos inquestionáveis sobre quais testes são válidos no presente trabalho – valor 0.
- h) É válido o questionamento sobre a possibilidade de determinados parâmetros laboratoriais terem sido influenciados pela técnica de colheita / processamento e a conseqüente indicação da necessidade de refinamento de todas as técnicas – valor 1.

Levando-se em consideração que o Σ dos valores mínimos dos índices atribuídos acima é igual a 0 e o máximo é igual a 8, e observando-se que, dos valores obtidos para o presente trabalho:

$$\Sigma = a)1 + b)1 + c)1 + d)0 + e)1 + f)1 + g)0 + h)1 = 6.$$

Que podem ser melhor visualizados através do gráfico:



Ele mostra 6 pirâmides de pontos válidos e permite verificar que os resultados observados (possíveis pela forma de avaliação, que valorizou a análise dos dados), são relevantes para auxílio no diagnóstico da inflamação do aparelho respiratório de eqüinos, por apresentar um resultado de 75% de pontos válidos para o Σ dos índices sugeridos.

A hipótese levantada na introdução está, portanto, comprovada novamente de acordo com os estudos dialéticos, de causa e efeito e epistemológicos (SPROUL, 2002; BITTAR, 2003; MANNION, 2004).

5 CONCLUSÕES

A avaliação dos resultados de acordo com as Categorias de Análises, é válida e permite a separação de grupos de estudo dentro de um aspecto de abrangência mais amplo ou mais restrito.

Com relação às análises de APC para amostras de lavado broncoalveolar de eqüinos, conclui-se que testes *ex-vivo* sejam apropriados.

Com relação ao *TNF*, sugere-se que os testes que utilizam AD Lps e TT Lps sejam utilizados em avaliações futuras.

Em relação ao *NO*, não puderam ser realizadas conclusões.

Os seguintes parâmetros poderiam ser utilizados para pesquisas futuras e apoio diagnóstico em amostras maiores de grupos mais abrangentes: volume recuperado, número de células por microlitro, percentuais de macrófagos espumosos e macrófagos em sincícios / gigantes, eosinófilos e mastócitos e a APC *ex-vivo* TT.

Os seguintes parâmetros poderiam ser utilizados para pesquisas futuras e apoio diagnóstico em amostras maiores de grupos mais restritos: o volume recuperado, os percentuais de linfócitos, macrófagos espumosos, macrófagos em sincícios / células gigantes, eosinófilos, mastócitos, leucometria global, proteínas plasmáticas totais, APC *ex-vivo* TT, *TNF* AD Lps e TT Lps.

Além de aumentar a eficácia dos testes e do número de animais, a avaliação cuidadosa dentro de grupos mais restritos, é apropriada e tende a aumentar o número de parâmetros válidos para os exames.

A observação de tendências que são compatíveis com os processos fisiopatológicos é possível de ser realizada através de análises estatísticas com níveis de probabilidade de erro de até 10%.

O aumento do número de animais a serem testados, para o valor total de cerca de 120, ou 2 grupos de cerca de 60 indivíduos é apropriado para experimentos relacionados ao lavado broncoalveolar de eqüinos.

É válida a comprovação da hipótese pela análise das variações dos parâmetros laboratoriais dentro das categorias e outra pela validação de pontos dentro da abordagem combinada da dialética Socrática, causa e efeito e epistemologia.

A presente pesquisa é válida para o auxílio diagnóstico de inflamações no aparelho respiratório de eqüinos.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; POBER, J.S. Cytokines. In.: **Cellular And Molecular Immunology**. 4 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000. Cap.11, p. 238, 2000.

AMARAL, P. C.; GRAÇA, F. A. S.; VIANNA, L. F. C. G.; BORGES, J. R. J.; FERREIRA, A. M.; PIRES, N. R.; VOSS, C. Doença pulmonar obstrutiva crônica em eqüinos da Polícia militar do Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 6, n. 2, p. 77-83, 1999.

ARANGO, H. G; **Bioestatística teorica e computacional**. 2^aed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

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

BAIN, F. T. Cytology of the respiratory tract. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 13, n. 3, p. 477-485, 1997.

BATSCHULET, E. **Introdução à Matemática para Biocientistas**. Rio de Janeiro: Editora Interciência LTDA. 1978. 596p.

BEADLE, R.E.; HOROHOV, D.W.; GAUNT, S.D. Interleukin-4 and interferon-gamma gene expression in summer pasture-associated obstructive pulmonary disease affected horses. **Equine Vet J**. v. 34, n 4, p. 389-394. 2002.

BECKER, S.; CLAPP, W.A.; QUAY, J.; FREES, K.L.; KOREN, H.S. Compartmentalization of the inflammatory response to inhaled grain dust. **American Respiratory Critical Care Medicine**. Vol.160, p. 1309-1318. 1999.

BENDALI-AHCENE, S.; MONIER, J.C.; FONTAINE, M; CADORE, J.L. Analyse cytologique et cytofluorimétrique du lavage bronchoalvéolaire(LBA) es chevaux souffrant de bronchopneumopathies chroniques obstructives (BCPO). **Revue médecine Vétérinaire**, v.146, n.5, p.349-356, 1995.

BEVILACQUA, F.; BENSOUSSAN, E.; JANSEN, J.M; CASTRO, F. S. **Fisiopatologia clínica**. Rio de Janeiro: 4^a ed. Atheneu. 1989.

BITTAR, E. C. B. **Curso de Filosofia Aristotélica: Leitura e Interpretação do Pensamento Aristotélico**. São Paulo: Manole. 2003. 1436p.

BOKAREWA, M.I.; MORRISSEY, J.H.; TARKOWSKI, A. Tissue factor as a proinflammatory agent. **Arthritis Research**, v. 4, p.190-195, 2002.

BRACHT, A.; ISHII-IWAMOTO, E. L. **Métodos de Laboratório em Bioquímica**. São Paulo: Manole, 439p., p.139-173.2003.

BUECHNER-MAXWELL, V. Normal Respiratory Epithelial Structure and Function. **The Compendium Equine**.. v15, n 4, p.618-624, 1993.

BURRELL, M. H.; WOOD, J. L. N.; WHITWELL, K. E.; CHANTER, N.; MACKINTOSH, M. E.; MUMFORD, J. A. Respiratory disease in thoroughbred horses in training: the relationships between disease and viruses, bacteria and environment. **The Veterinary Record**, v. 139, n. 13, p. 308-313. 1996.

CAULFIELD, J.J.; FERNANDEZ, M.H.; SOUSA, A.R. Regulation of major histocompatibility complex class II antigens on human alveolar macrophages by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the presence of glucocorticoids. **Immunology**. v.98, p.104-110.1999.

COLE, E.H.; SWEET,J.; LEVY, GA. Expression of macrophage procoagulant activity in murine systemic lupus erythematosus. **J. Clin. Invest**. v. 78, p. 887-893. outubro. 1986.

COOPER, G. M. **A Célula: uma abordagem molecular**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2001. 712p.

COUËTIL, L. L.; ROSENTHAL, F. S.; DENICOLA, D. B.; CHILCOAT, C. D. Clinical signs, evaluation of bronchoalveolar lavage fluid, and assessment of pulmonary function in horses with inflammatory respiratory disease. **American Journal of Veterinary Research**,v. 62, n. 4, p. 538-546, 2001.

COUËTIL, L.L.; HOFFMAN, A.M.; HODGSON, J.; BUECHNER-MAXWELL, V.; VIEL, L.; WOOD, J.L.N.; LAVOIE, J.P. Inflammatory airway disease of horses. **Journal. Veterinary of Internal Medicine**. v. 21, p. 356-361. 2007.

DEL PRETE, G. Human Th1 and Th2 lymphocytes: Their role in the pathophysiology of atopy. **Allergy** ; v 47: p.450-455, 1992.

DIAMOND, G.; LEGARDA, D.; RYAN, L.K. The innate immune response of the respiratory epithelium. **Immunology Review**. v. 173, p. 27-38. 2000.

DIXON, P.M.; RAILTON, D.I.; MCGORUM, B.C. Equine pulmonary disease: a case control study of 300 referred cases. part 1: Examination techniques, diagnostic criteria and diagnoses. **Equine Veterinary Journal**. v. 27, p. 416-421. 1995.

DODDS, W.J. Hemostasis , In : KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical Biochemistry of domestic animals**. 5 ed. San Diego, Academic Press.1997.

DUNKEL, K. J.B.; RICKARDS†, C. P.; CUNNINGHAM, F.M. Platelet activation in ponies with airway inflammation. **Equine veterinary Journal**.v. 39, n.6, p. 557-561. 2007.

DYCE, K.M.; SACK, W.O.; WENSING, C.J.G. Aparelho respiratório. In.: **Tratado de Anatomia Veterinária**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. Cap. 4, p. 97-109, 1987.

ERB, K.J; LE GROS ,G. The role of Th2 type CD4+ T cells and Th2 type CD8+ T cells in asthma. **Immunology Cell Biology**; v.74, p.206-208, 1996.

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

FERNANDEZ, S.; JOSE, P.; AVDIUSHKO, M.G. Inhibition of IL-10 receptor function in alveolar macrophages by Toll-like receptor agonists. **Journal of Immunology** v. 172, p. 2613-2620. 2004.

FERRO, E.; FERRUCCI, F.; ZUCCA, E.; DI FABIO, V.; CASTOLDI, S. Arterial blood gas analysis in 53 racehorses with diagnosis of small airway inflammatory disease (SAID).**Journal of Equine Veterinary Science**, v. 22, n. 4, p. 165-168, 2002.

FLORI, H.R.; PITTET, J.F. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. **New Horiz**. v. 7, p. 287-311. 1999.

FOGARTY, U.; BUCKLEY,T. Bronchoalveolar lavage findings in horses with exercise intolerance. **Equine Veterinary Journal**, v. 23, n. 6, p. 434-437, 1991.

FREEMAN, K. P.; ROSZEL, J. F. Equine cytology patterns in respiratory conditions of noninfectious or unknown origin. **The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 19, n. 6, p. 755-763, 1997.

GERBER, V.; ROBINSON, N.E.; LUETHI, S.; MARTI, E.; WAMPFLER, B.; STRAUB, R. Airway inflammation and mucus in two age groups of asymptomatic well-performing sport horses. **Equine Veterinary Journal**. v. 35, n. 4, p. 491-495. 2003.

GERBER, V.; STRAUB, R., MARTI, E.; HAUPTMAN, J.; HERHOLZ, C.; KING, M.; IMHOF, A.; TAHON, L.; ROBINSON, E. Endoscopic scoring of mucus quantity and quality: observer and horse variance and relationship to inflammation, mucus viscoelasticity. **Equine Veterinary Journal**. v.36, n.7, p. 576-582.2004.

GETTY, R. Sistema respiratório. In.: **Anatomia dos Animais Domésticos**. 5ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. Cap. 30, p. 859-878.

GRÜNIG, G.; HULLIGER, C. Separation of equine bronchopulmonary lavage cells by density gradient centrifugation and expression of procoagulant activity in unpurified cells and cell subpopulations. **Research in Veterinary Science**, v.49, p.39-45, 1990.

GRÜNIG, G.; HULLIGER, C.; WINDER, C.; HERMANN, M.; JUNGI, T.W.; VON FELLEBERG, R. Spontaneous and lipopolysaccharide-induced expression of procoagulant activity by equine lung macrophages in comparison with blood monocytes and blood neutrophils. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.29, p.295-312. 1991.

HARE, J. E.; VIEL, L.; O.BYRNE, P. M.; CONLON, P. D. Effect of sodium cromoglycate on light racehorses with elevated metachromatic cell numbers on bronchoalveolar lavage and reduced exercise tolerance. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 17,n. 3, p. 237-244, 1994.

HENRI, J.B. **Diagnósticos clínicos e tratamentos - por métodos laboratoriais**. 19^a edição. São Paulo: Manole, 1995. 1677p.

HEWSON, J.; VIEL, L. Sampling and cytology of the respiratory tract. In: LEKEUX, P.(Ed.) Equine respiratory disease. Ithaca: **International Veterinary Information Service**, 2002. Disponível em www.ivis.org/special_books/Lekeux/viel/chapter_frm.asp?LA=1. 11/09/03.

HILL, R. W.; WYSE, G. A.; ANDERSON, M. **Animal physiology**. Massachusetts: 1^a ed. Sinauer Associates. 2004. 770p.

HODGSON, J.,L.; . HODGSON, D. R. Inflammatory Airway Disease. In: **Equine Respiratory Diseases**, Lekeux P. Ed. International Veterinary Information Service, Ithaca NY. 2002. www.ivis.org.Last Updated: 16-Aug-2002.

HOFFMAN, A. M. Small airway inflammatory disease in equids. In: **ACVIM FORUM**, 13.,1995, Florida. Proceedings. Florida: ACVIM, 1995. p. 754-757.

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.

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.

HOLCOMBE, S. J.; JACKSON, C.; GERBER, V.; JEFcoat, A.; BERNEY, C.;EBERHARDT, S.; ROBINSON, N. E. Stomping is associated with airway inflammation in young Arabian horses. **Equine Veterinary Journal**, v. 33, n. 3, p. 244-249, 2001.

HOLT, P.G.; LEIVERS, S. Tolerance induction via antigen inhalation: isotype specificity, stability, and involvement of suppressor T cells. **International Archives of Allergy Applied of Immunology**. v. 67, p. 155-160. 1982.

JANKOVIC, D; LIU, ZHUGONG; GAUSE, W.C.; Th 1- and Th2- cell commitment during infectious disease: asymmetry in divergent pathways. **Trends in immunology**, v22,n 8, p 450-456, 2001.

JEFFCOTT, L.B., ROSSDALE, P.D., FREESTONE, J., FRANK, C.J. AND TOWERS-CLARK, P.F. An assessment of wastage in Thoroughbred racing from conception to 4 years of age. **Equine Veterinary Journal**. v 14, p 185-198. 1982.

JIMÉNEZ, C.; FERNÁNDEZ, F. Inflammation, kinins, and Complement system interaction with hemostasis. In: FELDMAN, B.F.; ZINKL, J.G.; JAIN, N.C. **Schalm's Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. Cap. 79, p.549-551.

JOHNSON, B.; ARDANS, A.; STOVER, S.M.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; READ, D.H.; BARR, B.C.; MOORE,J.; WOODS, L.; STOLTZ, J.; BLNCHARD, P. California racehorse postmortem program:a 4- year over view. **Proceedings of the 40th Annual convetion of the American Association of equine Practice.**, p167-169. 1994.

JOHNSON, B.; STOVER, S.M.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; READ, D.H.; BARR, B.C.; ANDERSON, M.; MOORE, J.; WOODS, L.; STOLTZ, J.; BLNCHARD, P. Causes of death in racehorses over a 2 years period. **Equine Veterinary Journal** V26, p327-330, 1994.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Aparelho respiratório. In: **Histologia Básica**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. Cap. 17, p. 288 -302.

KALINA, W.V; PETTIGREW, H.D.; GERSHWIN, L.J. IgE ELISA using antisera derived from epsilon chain antigenic peptides detects allergen-specific IgE in allergic horses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v. 92, p. 137-147. 2003.

KLEIN, J. **Immunology**. Blackwell scientific publications.1991.

KUCEY, D.S.;CHEUNG, P.Y.C.; ROTSTEIN, O.D. Platelet-activating Factor Modulates Endotoxin-induced macrophage Procoagulant activity by a protein Kinase C-Dependent Mechanism. **Infection and Immunity**.v.60, n.3, p.944-950.1992.

LAVOIE, J. P. Chronic obstructive pulmonary disease. In: ROBINSON, N. E. (Ed.). **Current therapy in equine medicine 4**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997. p. 431-435.

LAVOIE JP, MAGHNI K, DESNOYERS M, TAHA, R.; MARTIN, J.G.; HAMID, Q.A. Neutrophilic airway inflammation in horses with heaves is characterized by a Th2-type cytokine profile. **American Journal of Respiratory Critical Care Medicine**; v.164, n.15,p.1410-1413.2001.

LESSA, D. A. B. **Doença inflamatória das vias aéreas (DIVA) em equinos 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.; MORI, E.; VIANA, E.B.; SANTOS, O.J.; MOREIRA, J.F.E.; FERNANDES, W.R. Lavado broncoalveolar em equinos: revisão de literatura. Parte 1: Técnicas de colheita. **Arquivos de Ciências Veterinárias e zootecnia. UNIPAR**, v8, n.2,; p.213-217, 2005.

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

LUKACS, N.W.; Cytokines in allergic eosinophilic airway inflammation. **Biology Signals** ; v. 5, p.209-214.1996.

MANNION, J. **O livro completo da filosofia: Entenda os conceitos básicos dos grandes pensadores-de Sócrates a Sartre.**São Paulo.Madras.2004.

MAIR, T.; BATTEN, E.; STOKES, C. The histological features of the immune system of the equine respiratory tract. **Journal of Comparative Pathology.** v. 97, p.575-586.1987.

MAIR, T.S.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. Cellular content of secretions obtained by lavage from different levels of the equine respiratory tract. **Equine Veterinary Journal.** v.19, p. 458-462. 1987.

MARINS, A. Crônicas:Aproveitamento.Rio Grande do Sul 2006. Disponível em www.cavaloscioulos.com.br/cronicas.php?idc=128.12/06/2006.

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

MCKANE, S. A.; CANFIELD, P. J.; ROSE, R. J. Equine bronchoalveolar lavage cytology:survey of thoroughbred racehorses in training. **Australian Veterinary Journal,** v. 70, n. 11,p. 401-404, 1993.

MONTENEGRO, M.R.; FRANCO, M. Conceitos gerais, inflamação aguda e inflamação crônica. In.: **Patologia dos Processos Gerais.** 3ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995. Cap.6 e 7, p. 99-122.

MORI, E. **Avaliação da função dos macrófagos alveolares após infecção experimental em cavalos (Equus caballus - Linnaeus, 1758) por herpesvírus Equino Tipo 1 (HVE-1).** 2000.98 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária eZootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.

MORI, E.; MORI, C. M. C.; FERNANDES, W. R. Avaliação da função de macrófagos alveolares em cavalos clinicamente sadios. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia,** v. 53, n. 2, p. 72-178, 2001.

MOORE, B. R. Lower respiratory tract disease. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice,** v. 12, n. 3, p. 457-472, 1996.

MOORE, B. R.; KRAKOWKA, S.; MOVEY, D. S.; CUMMINS, J.M.; ROBERTSON, J.T. Inflammatory markers in bronchoalveolar lavage fluid of standardbred racehorses with inflammatory airway disease: response to interferon-alpha. **Equine Veterinary Journal**. v. 29, n. 2, p. 142-147. 1997.

MOORE, B. R.; KRAKOWKA, S.; ROBERTSON, J. T.; CUMMINS, J. M. Cytologic evaluation of bronchoalveolar lavage fluid obtained from Standardbred racehorses with inflammatory airway disease. **American Journal of Veterinary Research**, v. 56, n. 5, p. 562-567, 1995.

PARBHAKAR, O.P.;DUKE, T.; TOWNSEND, H.G.G.; SINGH, B.Depletion of pulmonary intravascular macrophages partially inhibits lipopolysaccharide-induced lung inflammation in horses. **Veterinary Research**. V.36,p.557-569.2005.

PIRRONE, F.; ALBERTINI, M.; CLEMENT, M.G.; LAFORTUNA, C.L. Respiratory mechanics in standardbred horses with sub-clinical inflammatory airway disease and poor athletic performance. **The Veterinary Journal**. v. 173, p. 144-150. 2007.

PRESTON, S.A; TROY, N; TRUMBLE, D;. ZIMMEL, D.N.; CHMIELEWSKI, T.L.; BROWN, M.P.; HERNANDEZ, J.A. Lameness, athletic performance, and financial returns in yearling Thoroughbreds bought for the purpose of resale for profit. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 232, n. 1, p. 85-90. Jan. 2008.

RADOSTITS, O.M.; MAYHEW, I.G.J.; HOUSTON, D.M. **Exame Clínico e Diagnóstico em Veterinária**. Rio de Janeiro: 1ª ed. Guanabara Koogan. 2002.

RANDALL, D. ; BURGGREN, W. ; FRENCH, K. **Eckert: Fisiologia Animal: Mecanismos e Adaptações**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.729p.

ROBINSON, N.E International Workshop on Equine Chronic Airway Disease. Michigan State University 16-18 June 2000. **Equine Veterinary Journal**, v.33, n1, p.5-19.2001.

ROBINSON, N.E.; KARMAUS, W.; HOLCOMBE, S.J.; CARR, E.A.; DERKSEN, F.J. Airway inflammation in Michigan pleasure horses: prevalence and risk factors. **Equine Veterinary Journal**. v. 38, n. 4, p. 293-299. 2006.

ROSENTHAL, G.A.; LEVY, G; ROTSTEIN, O.D. Induction of macrophage procoagulant activity by *Bacteroides fragilis*. **Infection and Immunity**. p. 338-343. fev. 1989.

ROSSDALE, P.D.; HOPES, R.; WINGFIELD DIGBY, N.J.; OFFORD, K. Epidemiological study of wastage among racehorses 1982 and 1983. **The Veterinary Record**. v. 116, p. 66-69. 1985.

SALZER, W.L.; McCALL, C.E. Primed Stimulation of isolated perfused rabbit lung by endotoxin and platelet activating factor induces enhanced production of thromboxane and lung injury. **Journal of Clinical investigation**. V.85.p.1135-1139.1990.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Minas Gerais. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia. 1998.

SPROUL, R.C. **Filosofia para iniciantes**. 1a ed. São Paulo. Edições Vida Nova. 2002.

STRYER, L. **Bioquímica**. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996. 1000p.

SWENSON, M. **Dukes: Fisiologia dos Animais Domésticos**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara. 1988. 799p.

TIZARD, I.A. **Imunologia Veterinária: uma introdução**. 5 ed. São Paulo: Roca, 1998.

VIEL, L. **Structural-functional correlations of the lung in horses with small airway disease**. Tese de doutorado, Guelph. Ontario, Canada, Universidade de Gueph, 1983.

VIEL, L. Lower airway inflammation in young performance horses. In: ROBINSON, N. E.(Ed.). **Current therapy in equine medicine 4**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1997a. p. 426-428.

VIEL, L. Small airway disease as a vanguard for chronic obstructive pulmonary disease. **The Veterinary Clinics of North America Equine Practice**, v. 13, n. 3, p. 549-560, 1997b.

VRINS, A.; DOUCET, M.; NUNEZ-OCHOA, L. A retrospective study of bronchoalveolar lavage cytology in horses with clinical findings of small airway disease. **Journal of Veterinary Medicine**. A, v. 38, n. 6, p. 472-479, 1991.

WINDER, N.C.; GRUNIG, G.; HERMANN, M.; VON FELLEBERG, R. Fibrin/fibrinogen in lungs and respiratory secretions of horse with chronic pulmonary disease. **American Journal of Veterinary Research**. V.51, n. 6, p.945-949. 1990.

7. APÊNDICES

7 Apêndices



Figura 1: Técnica de lavado broncoalveolar em eqüino – introdução da sonda na narina do animal.



Figura 2: Técnica de lavado broncoalveolar em eqüino – depois de introduzida, a sonda foi fixada na cabeça do eqüino e de pois de inflado o *cuffi*, a solução era infundida ativamente a partir do bombeamento com uma pêra de borracha acoplada a um frasco de soro.



Figura 3: Técnica de lavado broncoalveolar em eqüino – depois de aspirado o conteúdo infundido, ainda com o *cuff* inflado, uma chave de três vias era rotacionada, permitindo a colheita do lavado em um frasco.

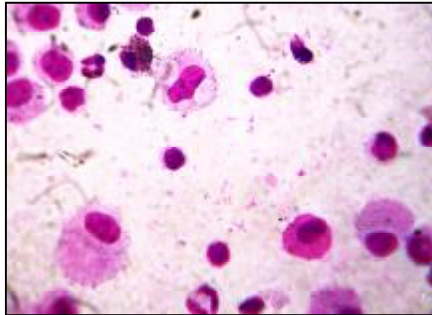


Figura 4: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): neutrófilo, linfócito, macrófago, eosinófilo e mastócito.

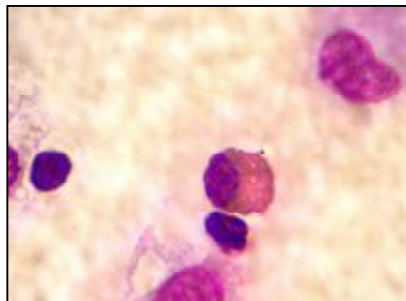


Figura 5: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): linfócito, macrófago, eosinófilo.

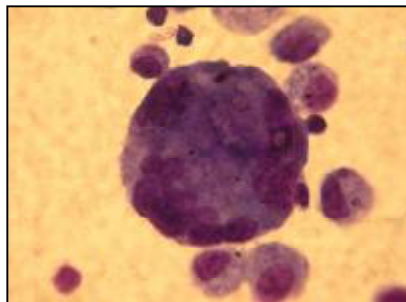


Figura 6: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): macrófagos esparços e um grande sincício de macrófagos.

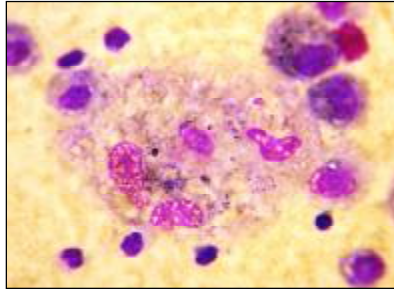


Figura 7: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): grande sincício de macrófagos espumosos ao centro.

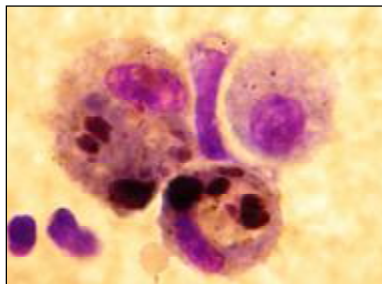


Figura 8: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): macrófagos com depósitos de hemossiderina / hemossideróforos.

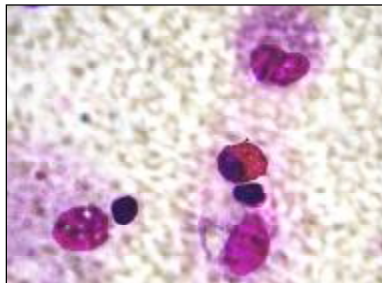


Figura 9: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): linfócitos, macrófagos em ativação a espumosos e eosinófilo.

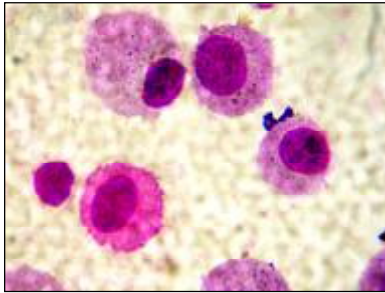


Figura 10: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): mastócitos.

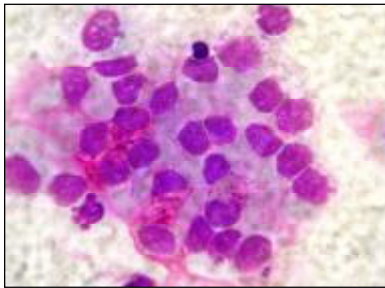


Figura 11: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): aglomerado de células epiteliais.

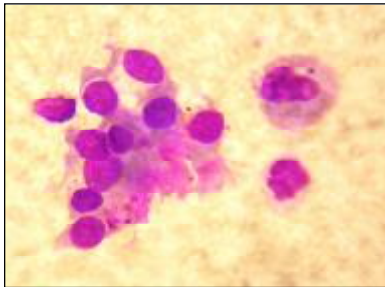


Figura 12: Lâmina de lavado broncoalveolar (aumento de 1000 x, coloração May-Grünwald-Giemsa): aglomerado de células epiteliais.

7.1 Categoria de Análises 1

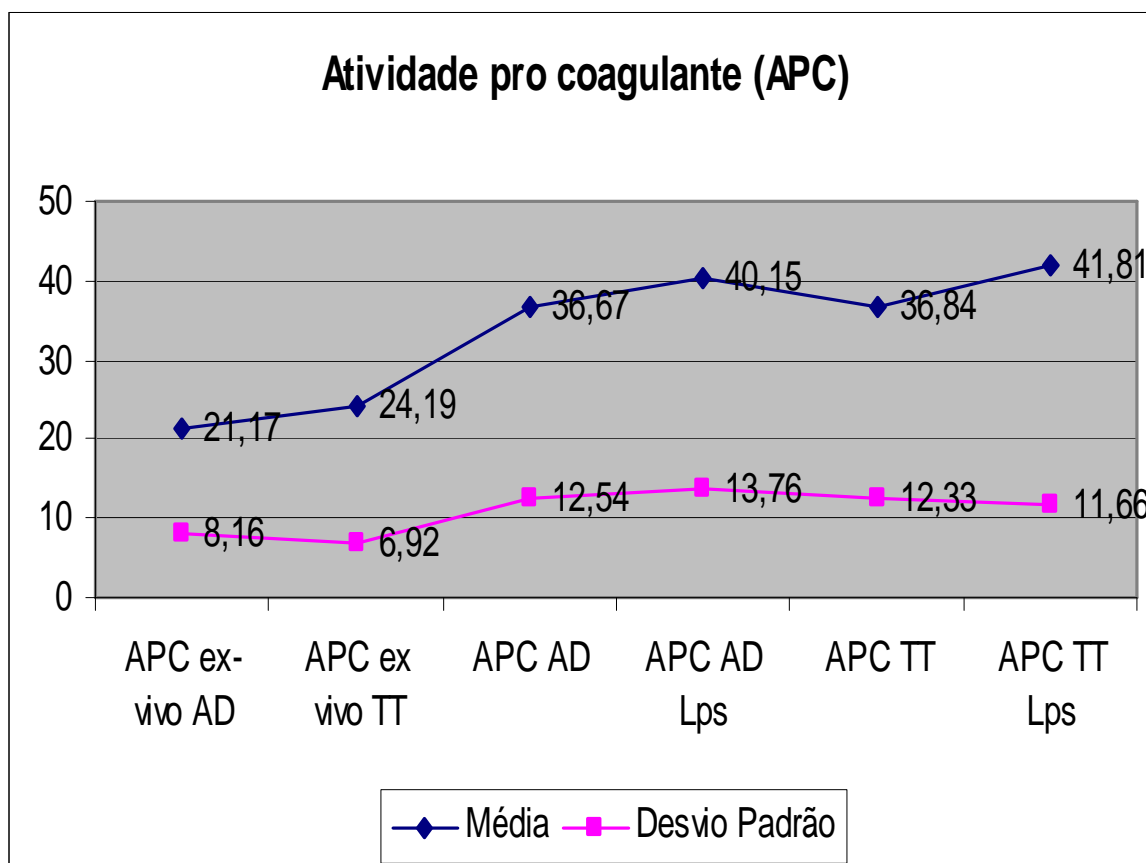


Figura 13: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação da APC, através do teste t de Student ($n=40$, $gl= 38$ e $0,1\%$ de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro 1).

Quadro 1: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação da APC, através do teste t de Student (n=40, gl= 38 e 0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 1).

APC ex-vivo AD					
M					21,17
DP					8,16
M	APC ex vivo TT	APC AD	APC AD Lps	APC TT	APC TT Lps
M	24,19	36,67	40,15	36,84	41,81
DP	6,92	12,54	13,76	12,33	11,66
T	1,26	4,63	5,31	4,74	6,49
P	>0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

APC ex vivo TT					
M					24,19
DP					6,92
M	APC AD	APC AD Lps	APC TT	APC TT Lps	
M	36,67	40,15	36,84	41,81	
DP	12,54	13,76	12,33	11,66	
T	3,92	4,63	4,00	5,81	
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	

APC AD					
M					36,67
DP					12,54
M	APC AD Lps	APC TT	APC TT Lps		
M	40,15	36,84	41,81		
DP	13,76	12,33	11,66		
T	0,84	0,04	1,34		
P	>0,001	>0,001	>0,001		

APC AD Lps					
M					40,15
DP					13,76
M	APC TT	APC TT Lps			
M	36,84	41,81			
DP	12,33	11,66			
T	0,80	0,41			
P	>0,001	>0,001			

APC TT					
M					36,84
DP					12,33
M	APC TT Lps				
M	41,81				
DP	11,66				
T	1,31				
P	>0,001				

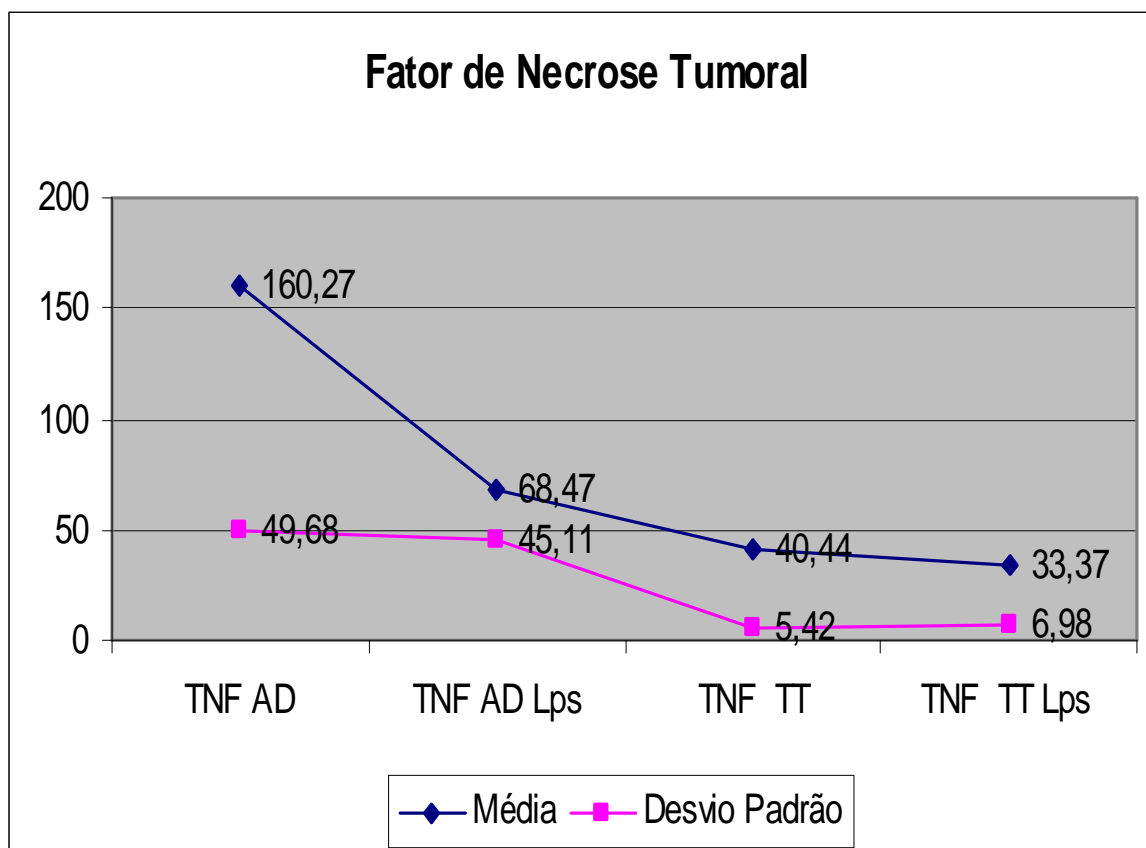


Figura 14: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do *TNF*, através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro2).

Quadro 2: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do *TNF*, através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 14).

<i>TNF AD (n=13)</i>			
M	160,27		
DP	49,68		
	<i>TNF AD Lps (n=13,gl=26)</i>	<i>TNF TT (n=9,gl=20)</i>	<i>TNF TT Lps (n=15,gl=26)</i>
M	68,47	55,83	46,88
DP	45,11	40,44	33,37
T	4,93	5,42	6,98
P	<0,001	<0,001	<0,001
<i>TNF AD Lps (n=13)</i>			
M	68,47		
DP	45,11		
	<i>TNF TT (n=9,gl=20)</i>	<i>TNF TT Lps (n=15,gl=26)</i>	
M	55,83	46,88	
DP	40,44	33,37	
T	0,69	1,42	
P	>0,001	>0,001	
<i>TNF TT (n=9)</i>			
M	55,83		
DP	40,44		
	<i>TNF TT Lps (n=15,gl=22)</i>		
M	46,88		
DP	33,37		
T	0,56		
P	>0,001		

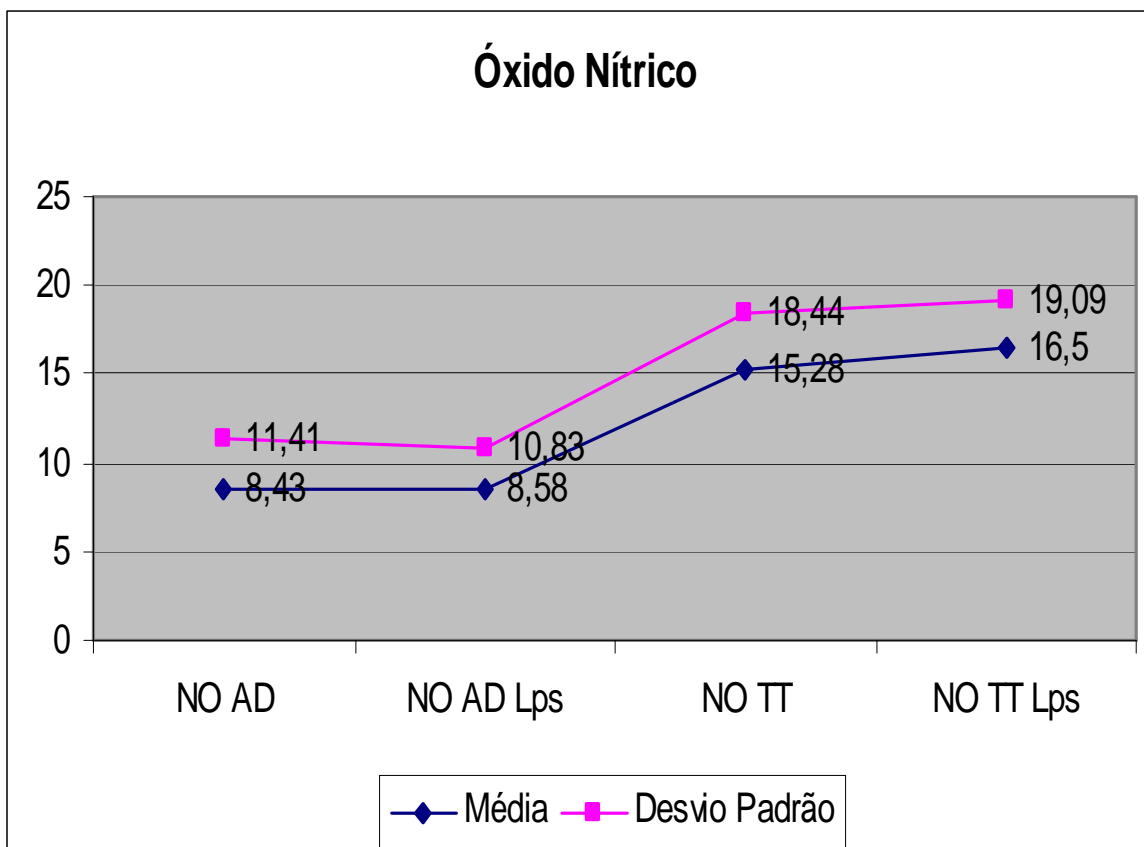


Figura 15: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do *NO*, através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), na Categoria de Análises 1 (ver quadro 3).

Quadro 3: Comparação entre os resultados médios das técnicas de avaliação do *NO*, através do teste t de Student (0,1% de probabilidade de erro, para cada comparação pareada de médias), pela Categoria de Análises 1 (ver figura 15).

NO AD (n=4)			
M	8,43		
DP	11,41		
	NO AD Lps (n=5, gl=7)	NO TT (n=4, gl=6)	NO TT Lps (n=2, gl=4)
M	8,58	15,28	16,50
DP	10,83	18,44	19,09
t	0,02	0,63	0,55
P	>0,001	>0,001	>0,001
NO AD Lps (n=5)			
M	8,58		
DP	10,83		
	NO TT (n=4, gl=7)	NO TT Lps (n=2, gl=7)	
M	15,28	16,50	
DP	18,44	19,09	
t	0,64	0,55	
P	>0,001	>0,001	
NO TT (n=4)			
M	15,28		
DP	18,44		
	NO TT Lps (n=2, gl=4)		
M	16,50		
DP	19,09		
t	0,07		
P	>0,001		

7.2 Categoria de Análises 2

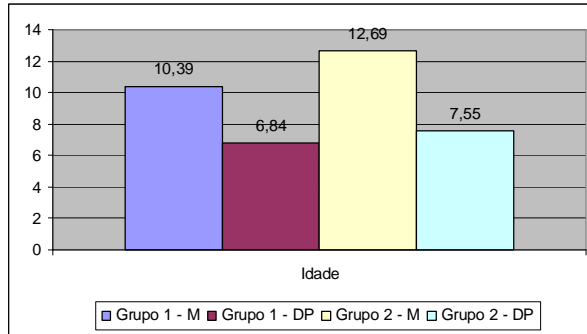


Figura 16: Comparação entre os resultados médios de idade (anos) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	92,05
DP	5,46
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	92,00
DP	7,87
t	0,93
P	>0,05

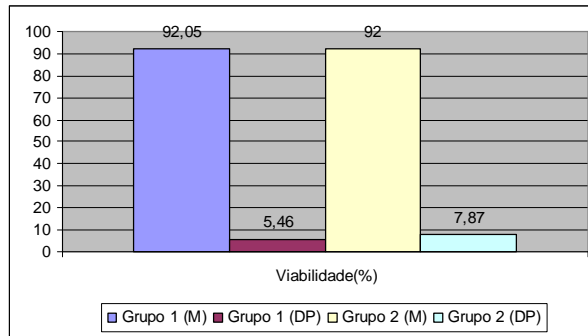


Figura 17: Comparação entre os resultados médios da citologia (Viabilidade em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	92,05
DP	5,46
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	92,00
DP	7,87
t	0,02
P	>0,05

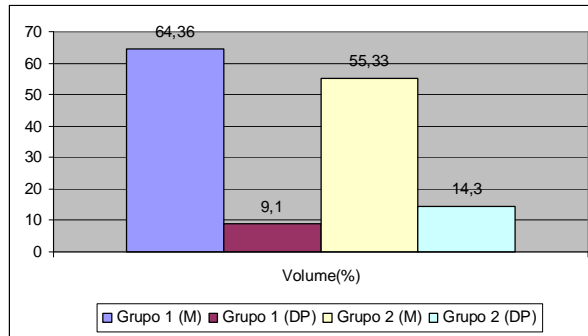


Figura 18: Comparação entre os resultados médios da citologia (Volume em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	64,36
DP	9,10
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	55,33
DP	14,30
t	1,64
P	>0,05

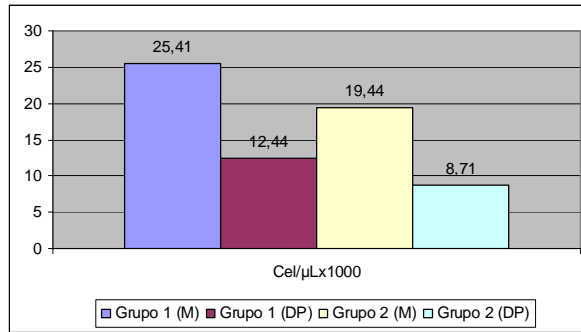


Figura 19: Comparação entre os resultados médios da citologia (células x 1000/ μ L) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	25,41
DP	12,44
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	19,44
DP	8,71
t	1,26
P	>0,05

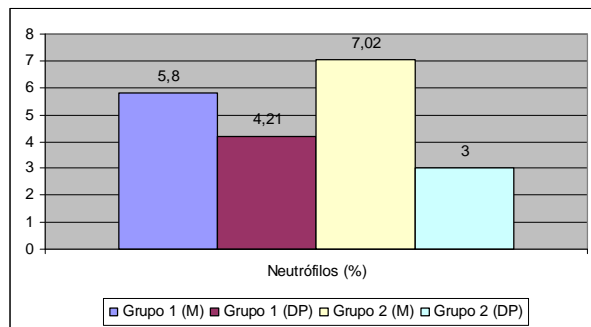


Figura 20: Comparação entre os resultados médios da citologia (neutrófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	5,80
DP	4,21
G2/G3 (n18=, gl=37)	
M	7,02
DP	3,00
t	1,05
P	>0,05

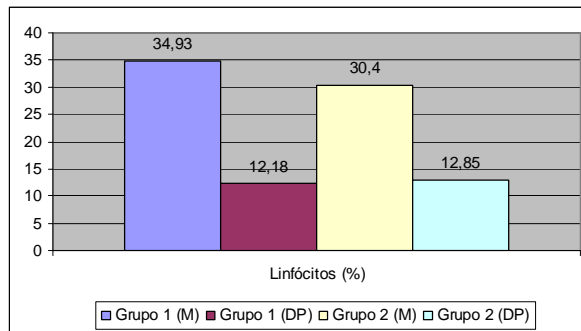


Figura 21: Comparação entre os resultados médios da citologia (linfócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	34,93
DP	12,18
G2/G3 (n18=, gl=37)	
M	30,40
DP	12,85
t	1,12
P	>0,05

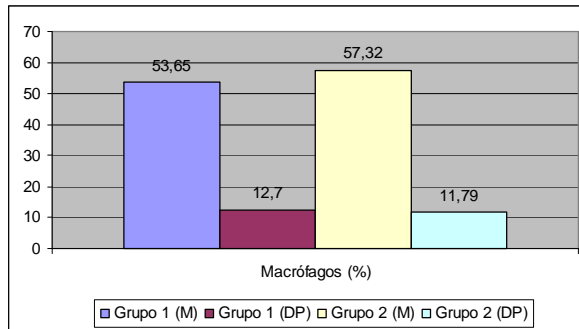


Figura 22: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	53,65
DP	12,70
G2/G3 (n18=, gl=37)	
M	57,32
DP	11,79
t	0,94
P	>0,05

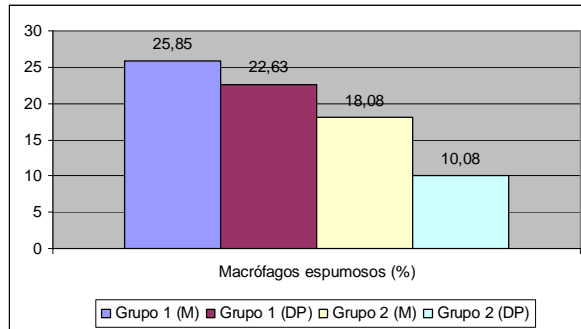


Figura 23: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos espumosos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	25,85
DP	22,63
G2/G3 (n18=, gl=37)	
M	18,08
DP	10,08
t	1,42
P	>0,05

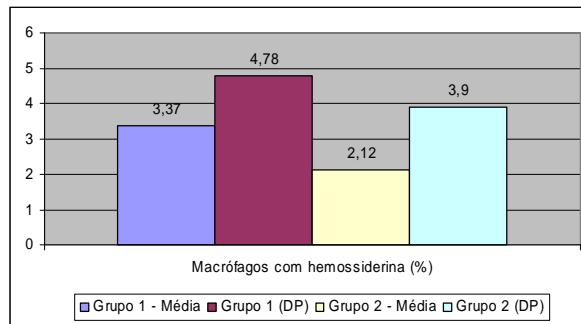


Figura 24: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos com hemossiderina em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	3,37
DP	4,78
G2/G3 (n18=, gl=37)	
M	2,12
DP	3,90
t	0,90
P	>0,05

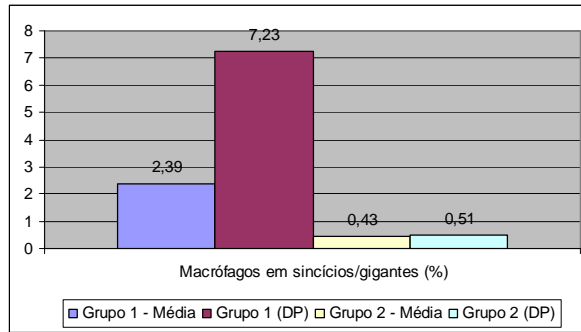


Figura 25: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em sincícios/gigantes em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	2,39
DP	7,23
G2/G3 (n=18, gl=37)	
M	0,43
DP	0,51
t	1,24
P	>0,05

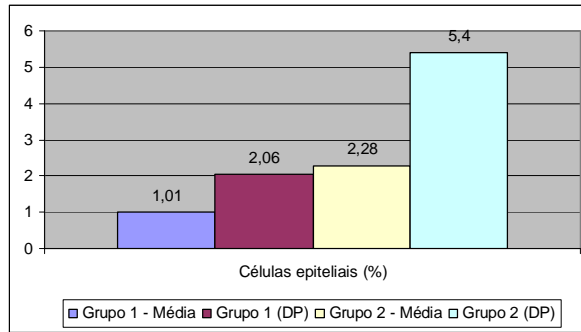


Figura 26: Comparação entre os resultados médios da citologia (células epiteliais em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	1,01
DP	2,06
G2/G3 (n=18, gl=37)	
M	2,28
DP	5,40
t	0,94
P	>0,05

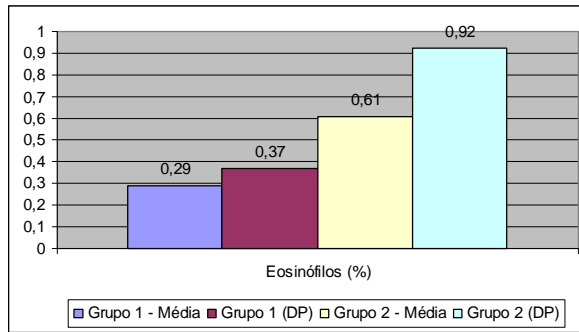


Figura 27: Comparação entre os resultados médios da citologia (eosinófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	0,29
DP	0,37
G2/G3 (n=18, gl=37)	
M	0,61
DP	0,92
t	1,38
P	>0,05

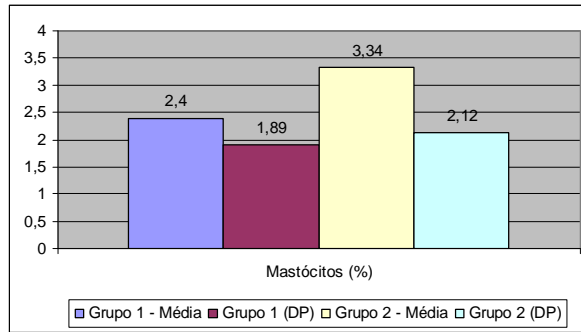


Figura 28: Comparação entre os resultados médios da citologia (mastócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=21)	
M	2,40
DP	1,89
G2/G3 (n=18, gl=37)	
M	3,34
DP	2,12
t	1,45
P	>0,05

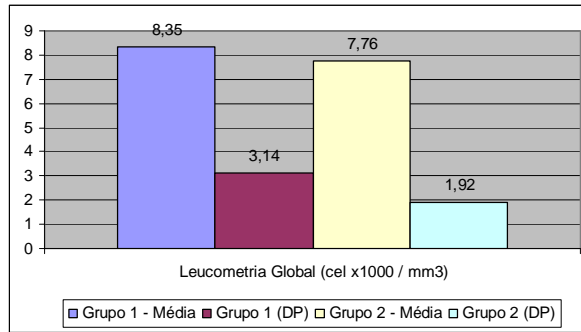


Figura 29: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Leucometria Global em células / mm³) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	8,35
DP	3,14
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	7,76
DP	1,92
t	0,52
P	>0,05

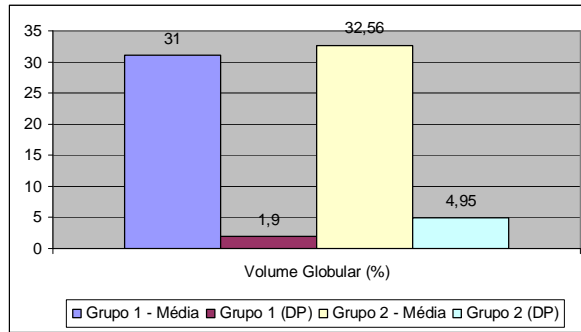


Figura 30: Comparação entre os resultados médios da citologia (volume globular em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	31,00
DP	1,90
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	32,56
DP	4,95
t	0,89
P	>0,05

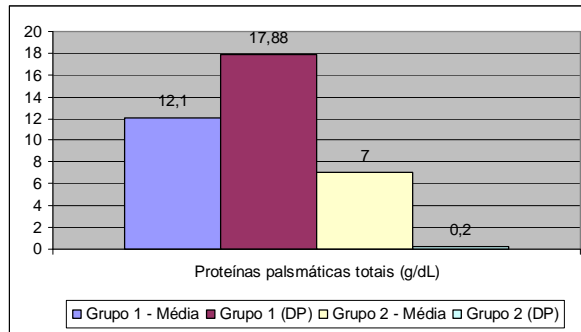


Figura 31: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Proteínas plasmáticas totais em g / dL) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	12,10
DP	17,88
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	7,00
DP	0,20
t	0,95
P	>0,05

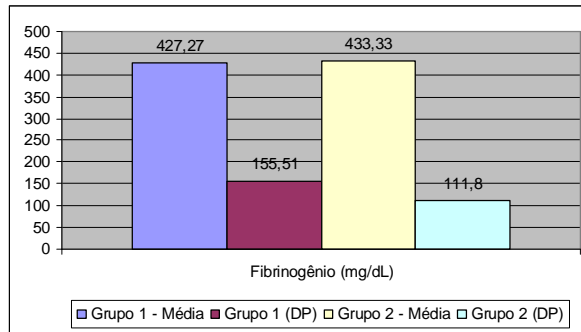


Figura 32: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Fibrinogênio em mg / dL) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	427,27
DP	155,51
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	433,33
DP	111,80
t	0,10
P	>0,05

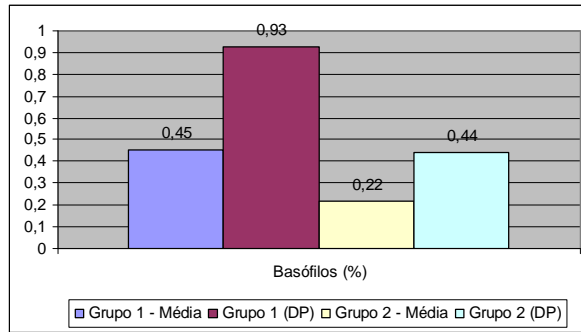


Figura 33: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (basófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	0,45
DP	0,93
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	0,22
DP	0,44
t	0,73
P	>0,05

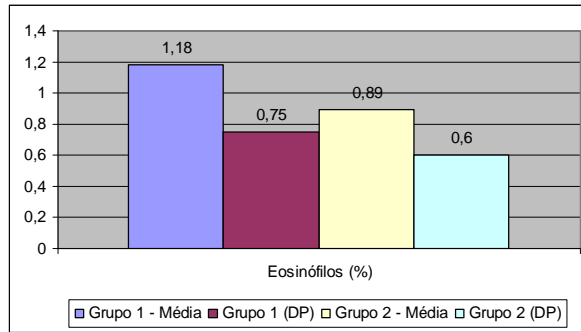


Figura 34: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (eosinófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	1,18
DP	0,75
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	0,89
DP	0,60
t	0,96
P	>0,05

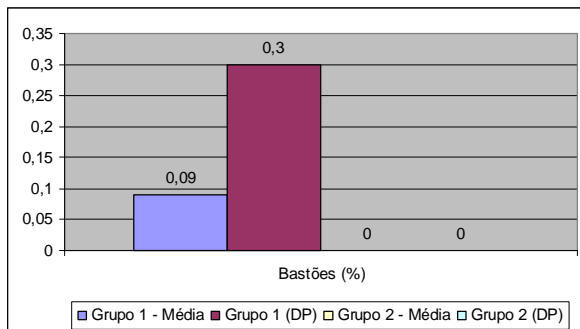


Figura 35: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (bastões em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	0,09
DP	0,30
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	0,00
DP	0,00
t	0,99
P	>0,05

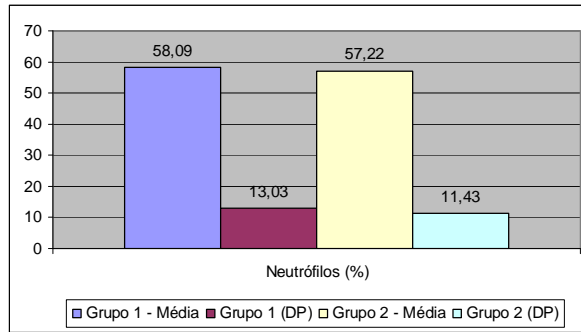


Figura 36: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (neutrófilos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	58,09
DP	13,03
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	57,22
DP	11,43
t	0,16
P	>0,05

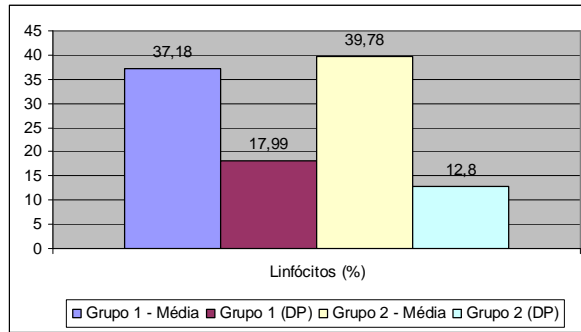


Figura 37: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (linfócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	37,18
DP	17,99
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	39,78
DP	12,80
t	0,38
P	>0,05

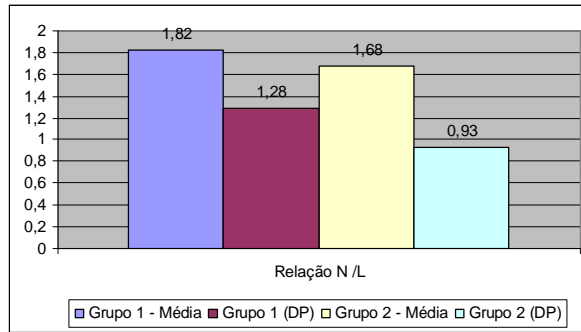


Figura 38: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (relação N / L) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	1,82
DP	1,28
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	1,68
DP	0,93
t	0,28
P	>0,05

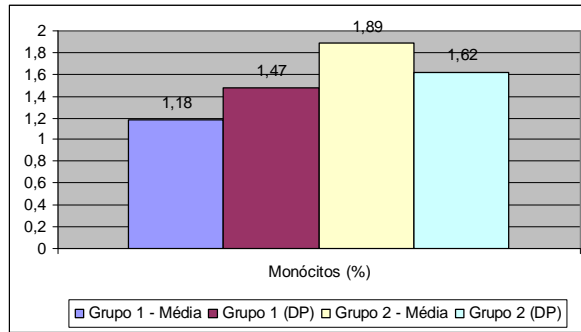


Figura 39: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (monócitos em %) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	1,18
DP	1,47
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	1,89
DP	1,62
t	1,02
P	>0,05

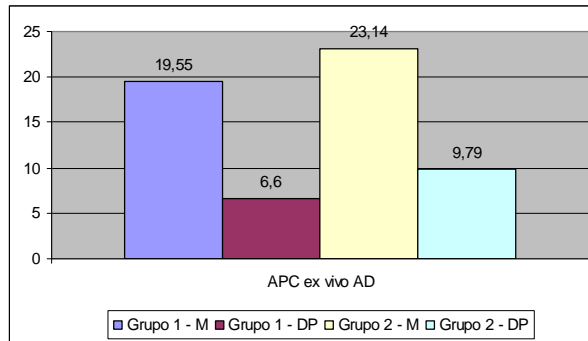


Figura 40: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC ex vivo em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	19,55
DP	6,60
G2/G3 (n=9, gl=18)	
M	23,14
DP	9,79
t	0,94
P	>0,05

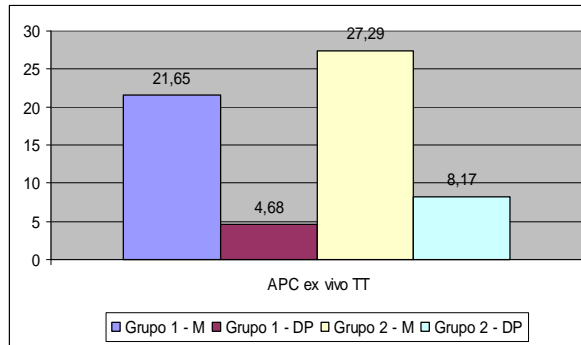


Figura 41: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC ex vivo TT em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	21,65
DP	4,68
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	27,29
DP	8,17
t	1,87
P	>0,05

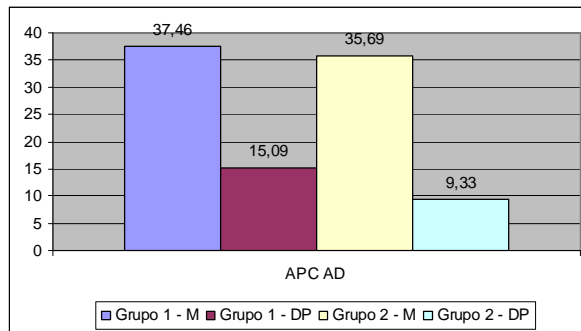


Figura 42: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC AD em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	37,46
DP	15,09
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	35,69
DP	9,33
t	0,38
P	>0,05

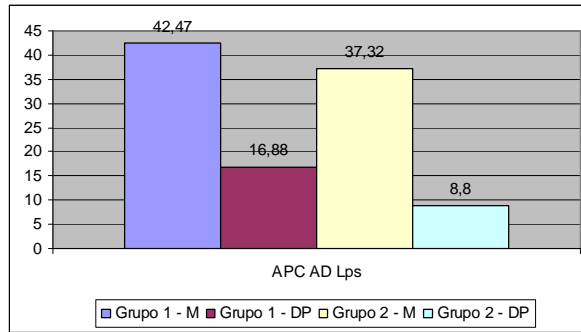


Figura 43: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC AD Lps), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	42,47
DP	16,88
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	37,32
DP	8,80
t	0,88
P	>0,05

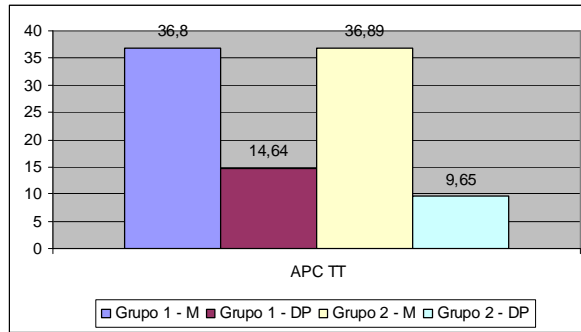


Figura 44: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC TT em UT), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	36,80
DP	14,64
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	36,89
DP	9,65
t	0,02
P	>0,05

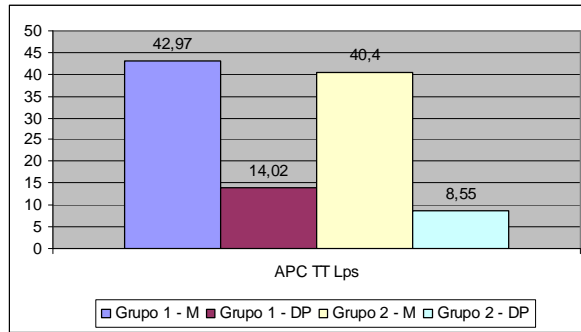


Figura 45: Comparação entre os resultados médios das análises da Atividade pro coagulante (APC TT Lps), nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=11)	
M	42,97
DP	14,02
G2/G3 (n9=, gl=18)	
M	40,40
DP	8,55
t	0,50
P	>0,05

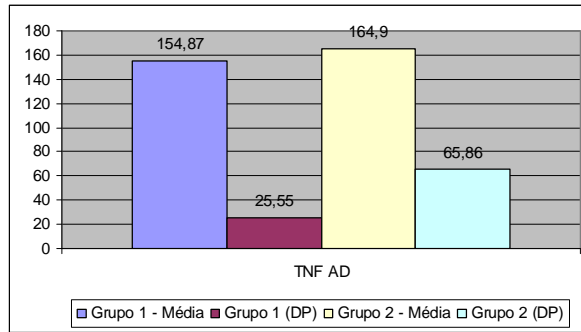


Figura 46: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (*TNF AD*) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=6)	
M	154,87
DP	25,55
G2/G3 (n7=, gl=11)	
M	164,90
DP	65,86
t	0,37
P	>0,05

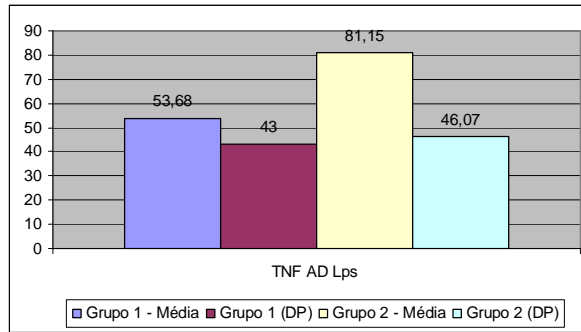


Figura 47: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (*TNF AD Lps*) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=6)	
M	53,68
DP	43,00
G2/G3 (n=7, gl=11)	
M	81,15
DP	46,07
t	1,11
P	>0,05

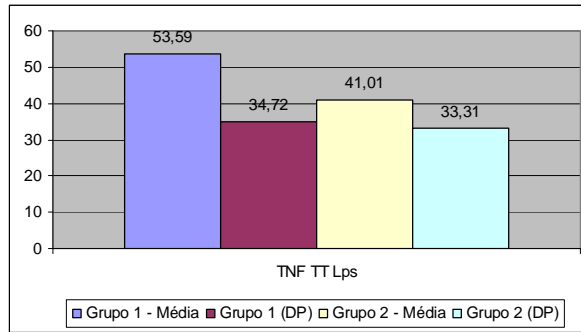


Figura 49: Comparação entre os resultados médios das análises do Fator de Necrose Tumoral (*TNF TT Lps*) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=7)	
M	53,59
DP	34,72
G2/G3 (n=8, gl=13)	
M	41,01
DP	33,31
t	0,71
P	>0,05

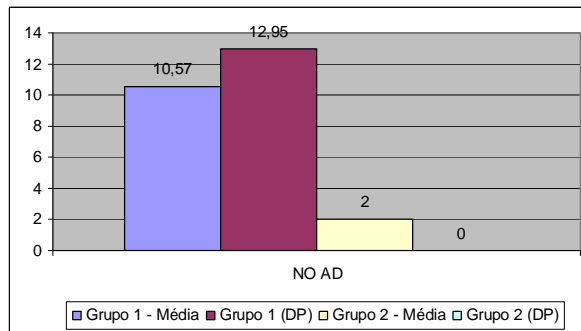


Figura 50: Comparação entre os resultados médios das análises do Óxido Nítrico (NO AD) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=3)	
M	10,57
DP	12,95
G2/G3 (n=1, gl=2)	
M	2,00
DP	0,00
t	1,15
P	>0,05

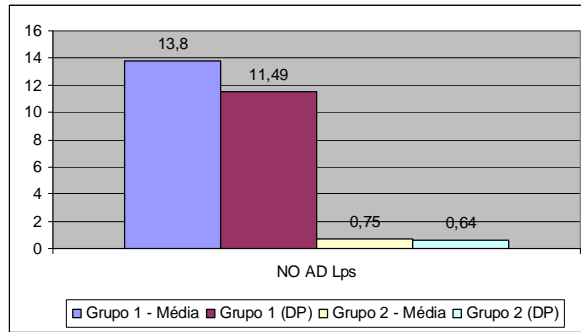


Figura 51: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (NO AD Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=3)	
M	13,80
DP	11,49
G2/G3 (n=2, gl=3)	
M	0,75
DP	0,64
t	1,96
P	>0,05

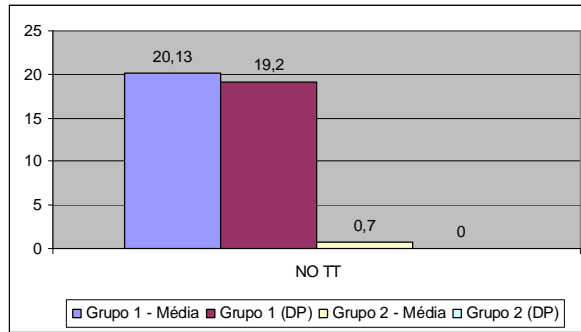


Figura 52: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (NO TT) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=3)	
M	20,13
DP	19,20
G2/G3 (n=1, gl=2)	
M	0,70
DP	0,00
t	1,75
P	>0,05

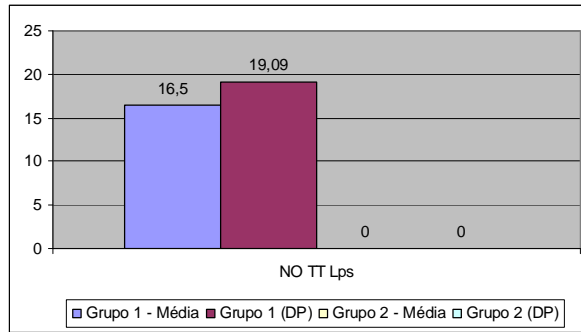


Figura 53: Comparação entre os resultados médios análises do Óxido Nítrico (NO TT Lps) nos Grupos 1 e 2, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), na Categoria de Análises II.

G0/G1 (n=2)	
M	16,50
DP	19,09
G2/G3 (n=0, g=0)	
M	-----
DP	-----
t	-----
P	-----

7.3 Categoria de Análises 3

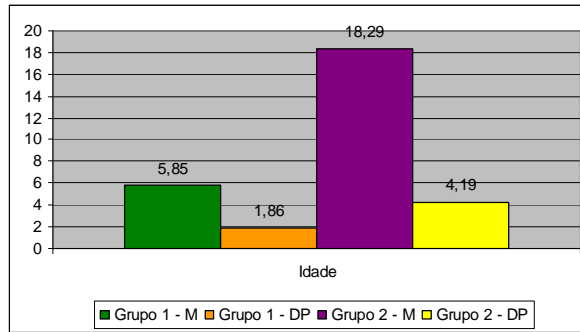


Figura 54: Comparação entre os resultados médios de idade (anos) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (1% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	5,85
DP	1,86
G2/G3>10 (n=7, gl=18)	
M	18,29
DP	4,19
t=7,47	
P<0,01	

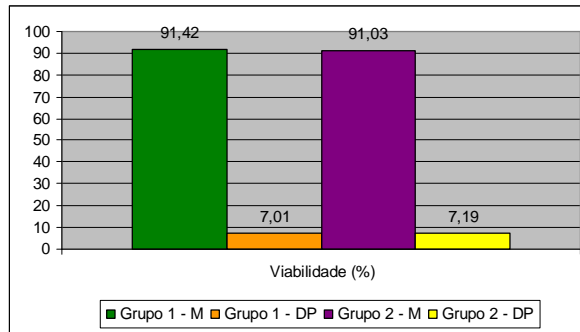


Figura 55: Comparação entre os resultados médios da citologia (viabilidade em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	91,42
DP	7,01
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	91,03
DP	7,19
t=0,10	
P>0,1	

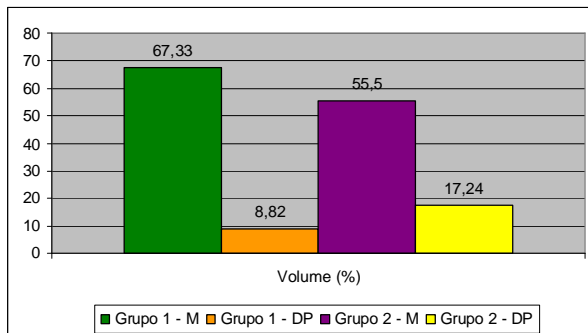


Figura 56: Comparação entre os resultados médios da citologia (volume em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	67,33
DP	8,82
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	55,50
DP	17,24
t=1,50	
P>0,1	

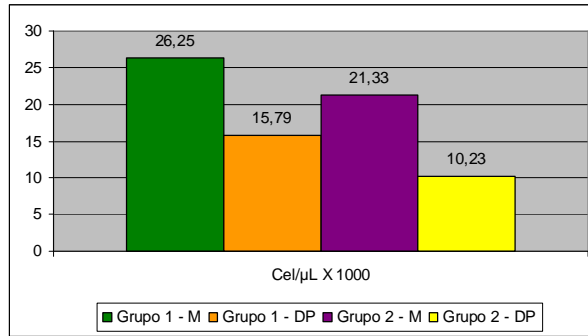


Figura 57: Comparação entre os resultados médios da citologia (células x 1000/μL) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	26,25
DP	15,79
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	21,33
DP	10,23
t=0,64	
P>0,1	

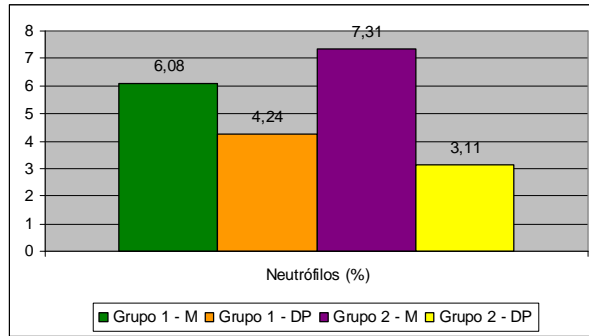


Figura 58: Comparação entre os resultados médios da citologia (neutrófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	6,08
DP	4,24
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	7,31
DP	3,11
t=0,74	
P>0,1	

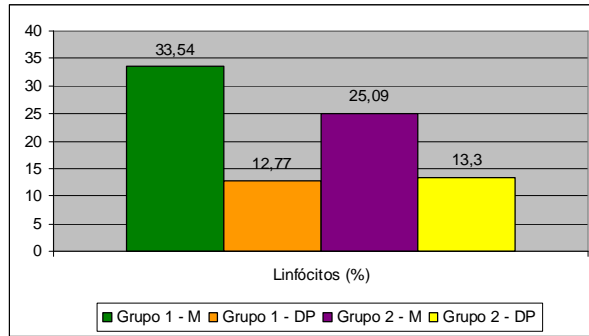


Figura 59: Comparação entre os resultados médios da citologia (linfócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	33,54
DP	12,77
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	25,09
DP	13,30
t=1,37	
P>0,1	

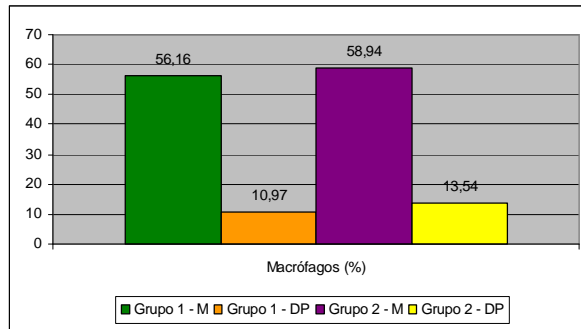


Figura 60: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	56,16
DP	10,97
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	58,94
DP	13,54
t=0,47	
P>0,1	

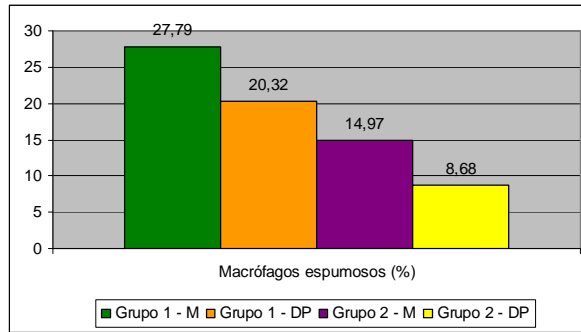


Figura 61: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos espumosos) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	27,79
DP	20,32
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	14,97
DP	8,68
t=1,97	
P<0,1	

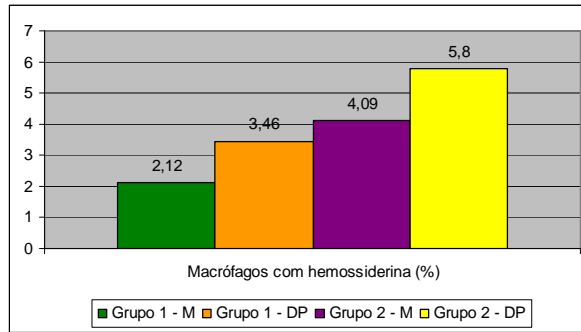


Figura 62: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos com hemosiderina em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	2,12
DP	3,46
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	4,09
DP	5,80
t=0,82	
P>0,1	

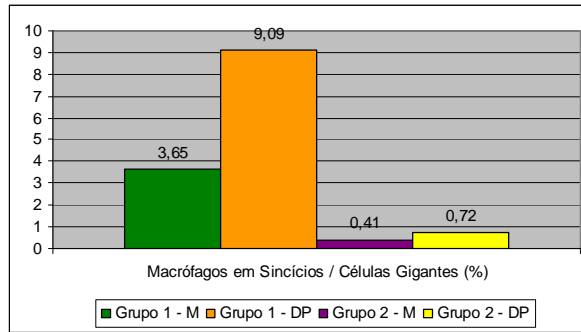


Figura 63: Comparação entre os resultados médios da citologia (macrófagos gigantes em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	3,65
DP	9,09
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	0,41
DP	0,72
t=1,28	
P>0,1	

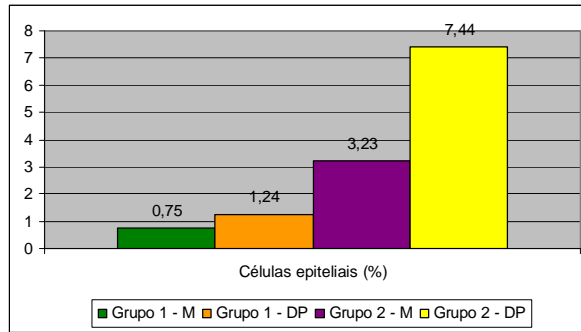


Figura 64: Comparação entre os resultados médios da citologia (células epiteliais em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	0,75
DP	1,24
G2/G3>10 (n=7, gl=18)	
M	3,23
DP	7,44
t=0,88	
P>0,1	

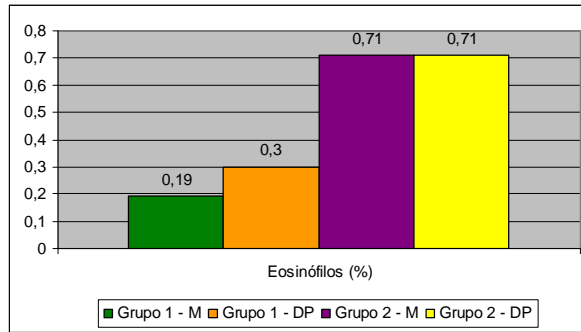


Figura 65: Comparação entre os resultados médios da citologia (eosinófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	0,19
DP	0,30
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	0,71
DP	0,71
t=1,85	
P<0,1	

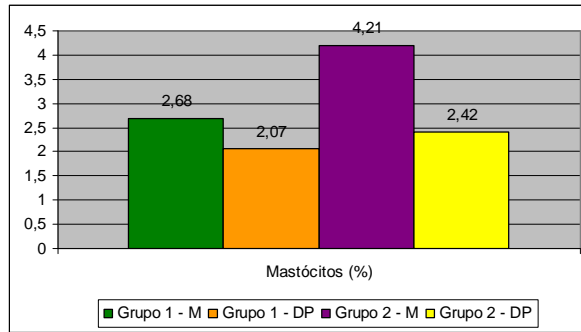


Figura 66: Comparação entre os resultados médios da citologia (mastócitios em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=13)	
M	2,68
DP	2,07
G2/G3>10 (n=7, g=18)	
M	4,21
DP	2,42
t=1,42	
P>0,1	

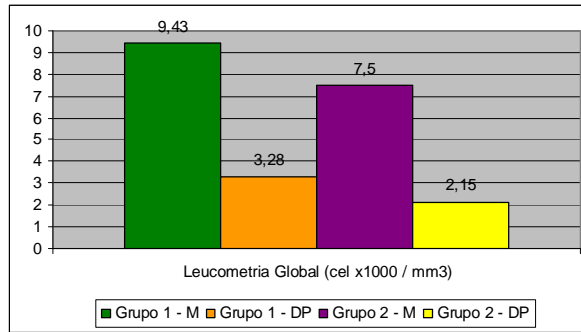


Figura 67: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (LG em cel x 1000 / mm³) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	9,43
DP	3,28
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	7,50
DP	2,15
t=1,21	
P>0,05	

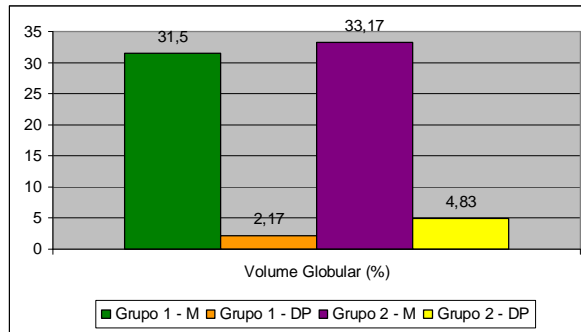


Figura 68: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (volume globular em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	31,50
DP	2,17
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	33,17
DP	4,19
t=0,77	
P>0,05	

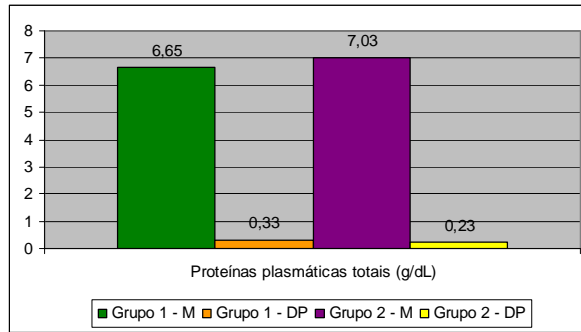


Figura 69: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (proteínas plasmáticas totais em g/dL) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	6,65
DP	0,33
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	7,03
DP	0,23
t=2,31	
P<0,05	

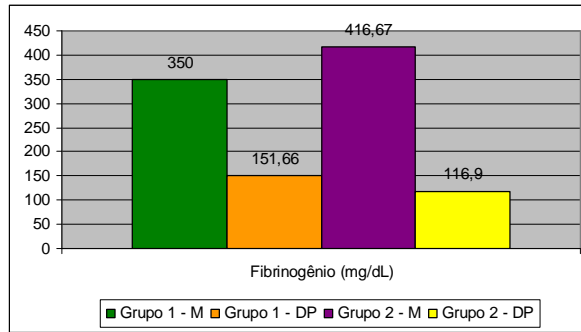


Figura 70: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (fibrinogênio em mg/dL) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	350,00
DP	151,66
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	416,67
DP	116,90
t=0,85	
P>0,05	

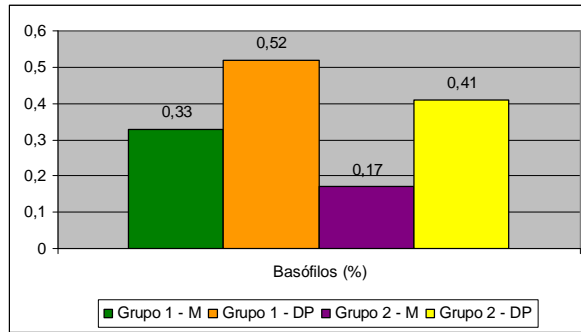


Figura 71: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (basófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	0,33
DP	0,52
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	0,17
DP	0,41
t=0,59	
P>0,05	

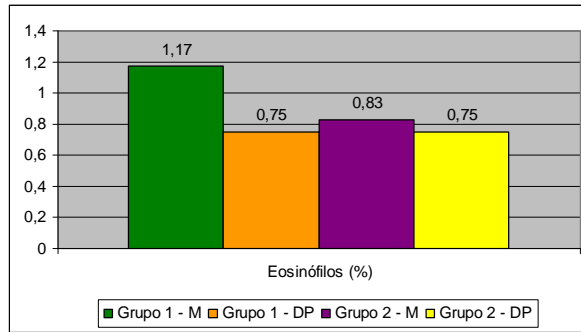


Figura 72: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (eosinófilos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	1,17
DP	0,75
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	0,83
DP	0,75
t=0,79	
P>0,05	

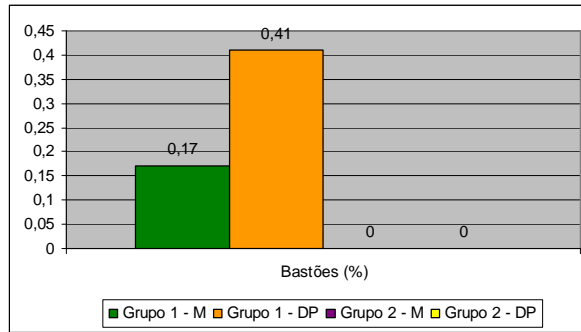


Figura 73: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (bastões em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	0,17
DP	0,41
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	0,00
DP	0,00
t=1,02	
P>0,05	

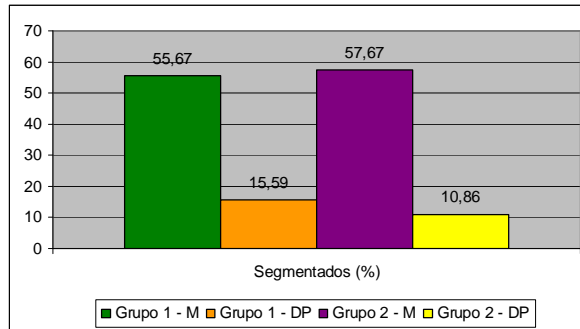


Figura 74: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (segmentados em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	55,67
DP	15,59
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	57,67
DP	10,86
t=0,26	
P>0,05	

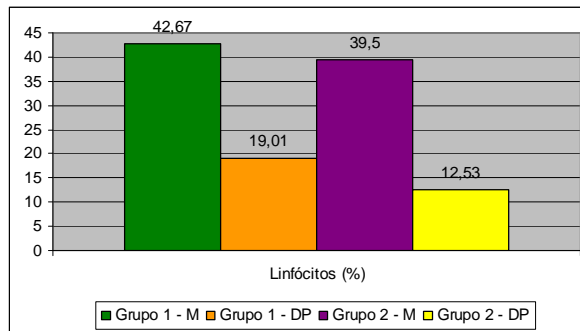


Figura 75: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (linfócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	42,67
DP	19,01
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	39,50
DP	12,53
t=0,34	
P>0,05	

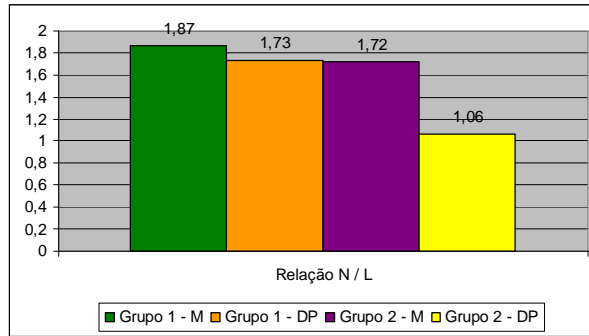


Figura 76: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (Relação N / L) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	1,87
DP	1,73
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	1,72
DP	1,06
t=0,18	
P>0,05	

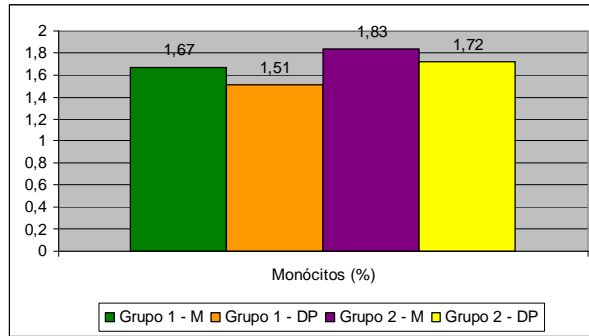


Figura 77: Comparação entre os resultados médios das análises hematológicas (monócitos em %) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	1,67
DP	1,51
G2/G3>10 (n=6, gl=10)	
M	1,83
DP	1,72
t=0,17	
P>0,05	

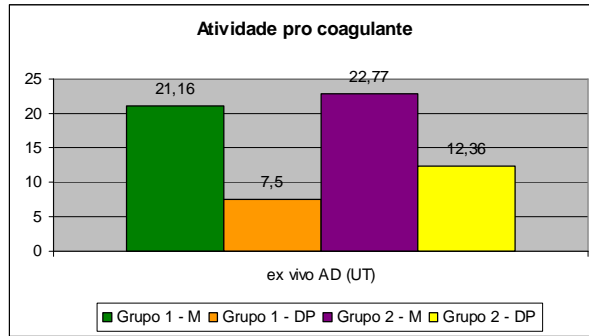


Figura 78: Comparação entre os resultados médios das análises de APC ex vivo AD (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	21,16
DP	7,50
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	22,77
DP	12,36
t=0,27	
P>0,1	

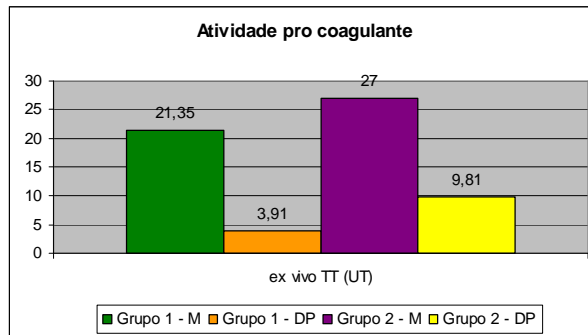


Figura 79: Comparação entre os resultados médios das análises de APC ex vivo TT (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	21,35
DP	3,91
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	27,00
DP	9,81
t=1,31	
P>0,1	

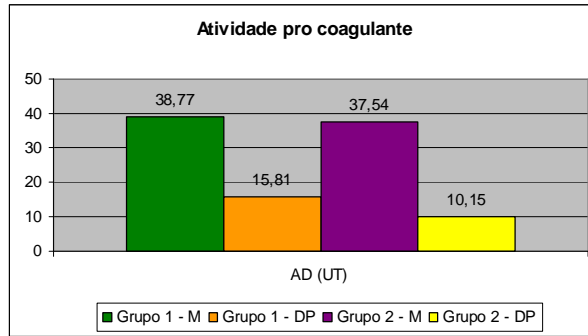


Figura 80: Comparação entre os resultados médios das análises do APC AD (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	38,77
DP	15,81
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	37,54
DP	10,15
t=0,16	
P>0,1	

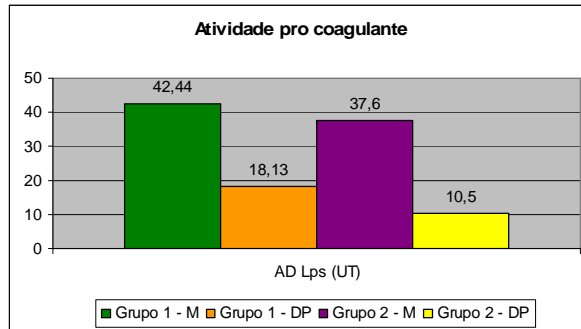


Figura 81: Comparação entre os resultados médios das análises de APC AD Lps (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	42,44
DP	18,13
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	37,60
DP	10,50
t=0,57	
P>0,1	

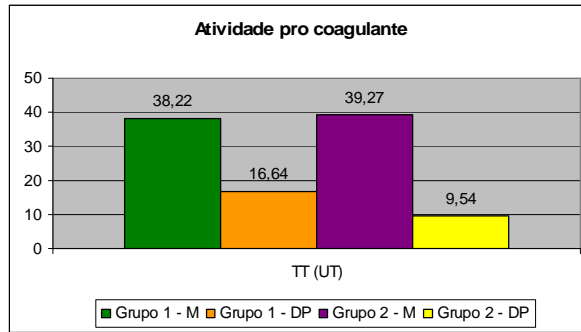


Figura 82: Comparação entre os resultados médios das análises de APC TT (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	38,22
DP	16,64
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	39,27
DP	9,54
t=0,13	
P>0,1	

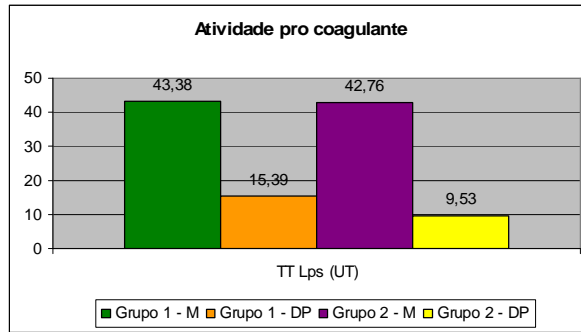


Figura 83: Comparação entre os resultados médios das análises da APC TT Lps (UT) nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=6)	
M	43,38
DP	15,39
G2/G3>10 (n=6, g=10)	
M	42,76
DP	9,53
t=0,08	
P>0,1	

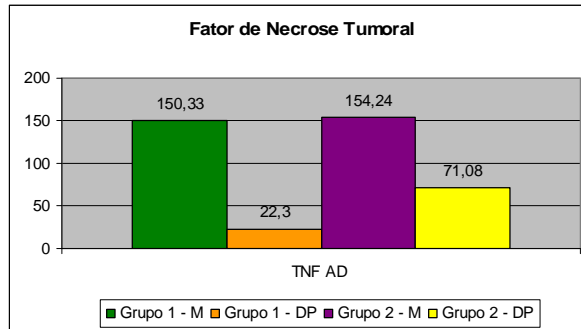


Figura 84: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF AD nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=3)	
M	150,33
DP	22,30
G2/G3>10 (n=5, g=6)	
M	154,24
DP	71,08
t=0,11	
P>0,05	

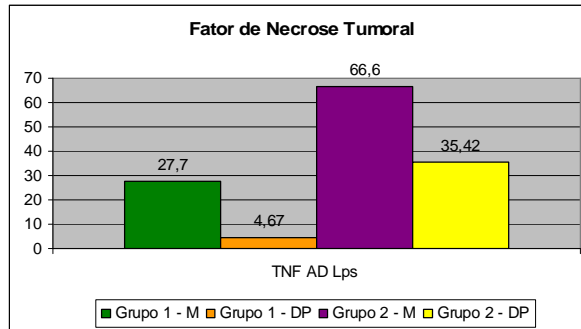


Figura 85: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF AD Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=2)	
M	27,70
DP	4,67
G2/G3>10 (n=5, gl=5)	
M	66,60
DP	35,42
t=2,71	
P<0,05	

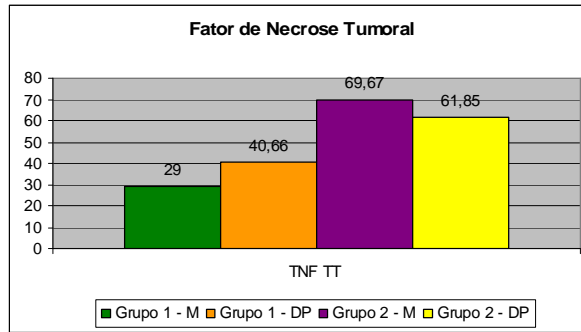


Figura 86: Comparação entre os resultados médios das análises de TNF TT nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=2)	
M	29,00
DP	40,66
G2/G3>10 (n=3, gl=3)	
M	69,67
DP	61,85
t=0,89	
P>0,05	

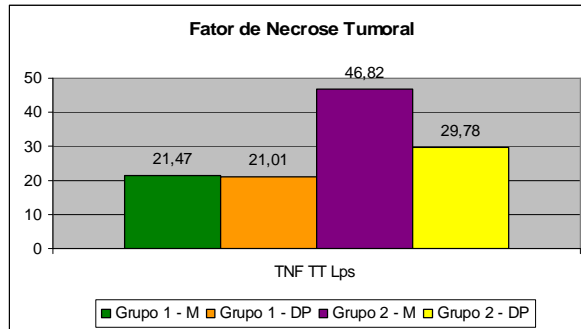


Figura 87: Comparação entre os resultados médios das análises do TNF TT Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (5% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=3)	
M	21,47
DP	21,01
G2/G3>10 (n=5, g=6)	
M	46,82
DP	29,78
t=1,41	
P>0,05	

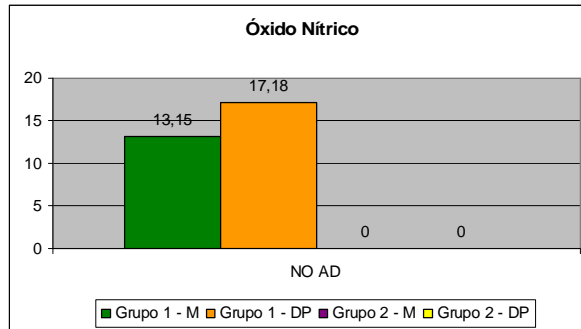


Figura 88: Comparação entre os resultados médios das análises de NO AD nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=2)	
M	13,15
DP	17,18
G2/G3>10 (n=0, gl=0)	
M	---
DP	---
t= não aplicável	
P=	

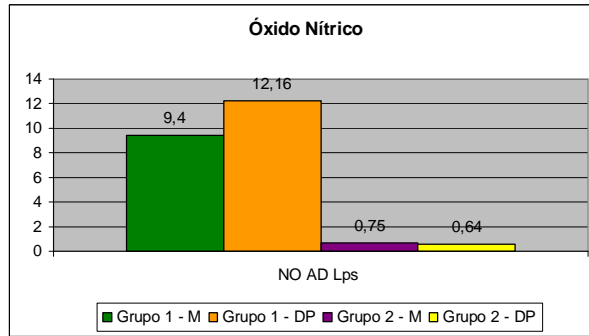


Figura 89: Comparação entre os resultados médios das análises do NO AD Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=2)	
M	9,40
DP	12,16
G2/G3>10 (n=2, g=2)	
M	0,75
DP	0,64
t=1,00	
P>0,1	

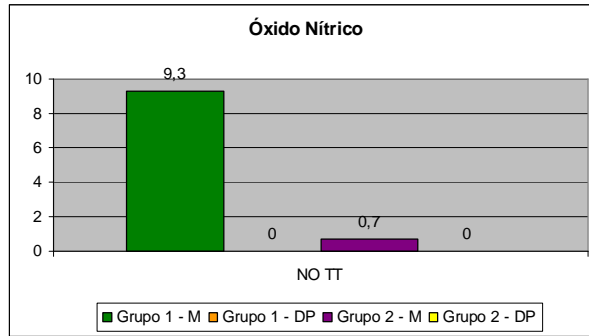


Figura 90: Comparação entre os resultados médios das análises de NO TT nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=1)	
M	9,30
DP	0,00
G2/G3>10 (n=1, gl=0)	
M	0,70
DP	0,00
t= não aplicável	
P=---	

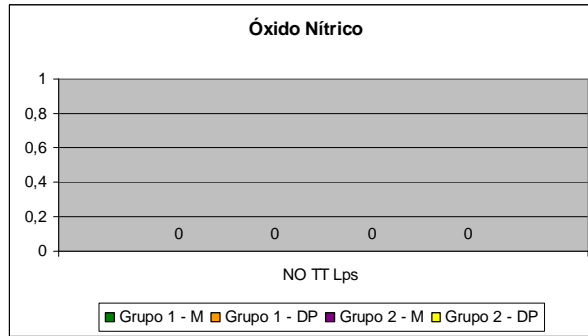


Figura 91: Comparação entre os resultados médios das análises de NO TT Lps nos subgrupos G0/G1<10 X G2/G3>10, através do teste t de Student (10% de probabilidade de erro), pela Categoria de Análises 3.

G0/G1<10 (n=0)	
M	0,00
DP	0,00
G2/G3>10 (n=0, gl=0)	
M	0,00
DP	0,00
t= não aplicável	
P ----	

7.4 Categoria de Análises 4

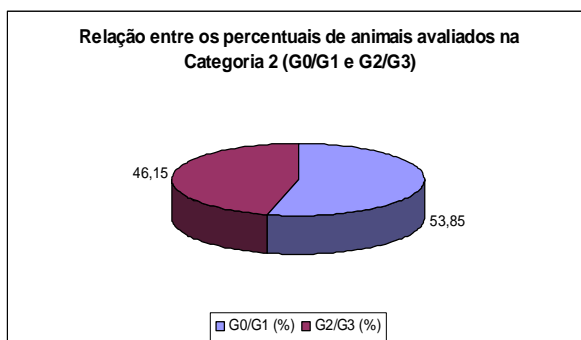


Figura 92: Relação dos animais avaliados na Categoria 2: número absoluto e percentual.

Classificação broncoscópica	Número de animais	Percentual de animais
G0/G1	N = 21	53,85
G2/G3	N = 18	46,15

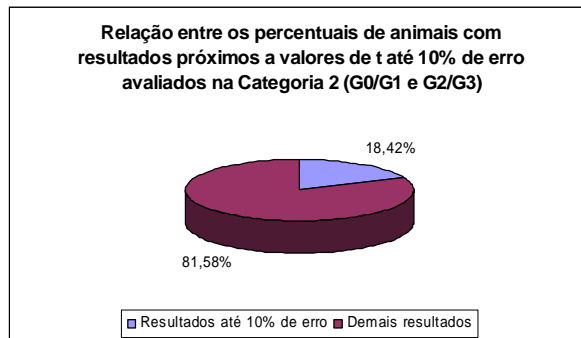


Figura 93: Relação dos percentuais de resultados próximos a valores de t até 10% de erro dos parâmetros avaliados na Categoria 2.

Número de ordem	1	2	3	4	5	6	7
Grupo em que a média foi mais alta	G0/G1	G0/G1	G0/G1	G0/G1	G2/G3	G2/G3	G2/G3
Grupo de análises	Citologia						APC
Parâmetros	Volume (%)	Cell/µL X 1000	M2E (%)	M2G (%)	Eos (%)	Mas (%)	Ex vivo TT
Valor de t	1,64	1,26	1,42	1,24	1,38	1,45	1,87
Número de parâmetros com erro de até 10%	7		Percentuais equivalentes		18,42		
Número de parâmetros com mais de 10% de erro	31		Percentuais equivalentes		81,58		

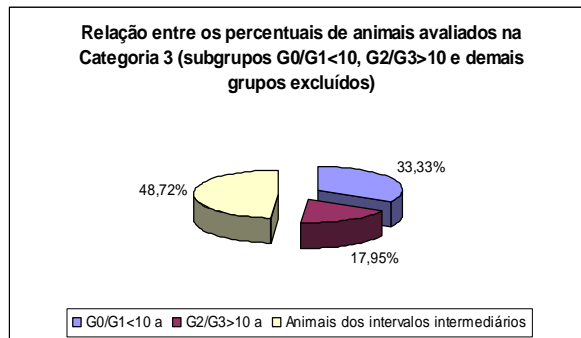


Figura 94: Relação dos animais avaliados na Categoria 3: número absoluto e percentual.

Classificação do subgrupo	Número de animais	Percentual de animais
G0/G1<10	13	33,33
G2/G3>10	7	17,95
Intermediários	19	48,72

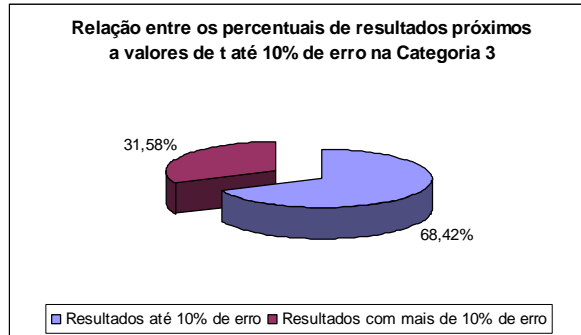


Figura 95: Relação dos percentuais de resultados próximos a valores de t até 10% de erro dos parâmetros avaliados na Categoria 3.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Parâmetros											
Idade	Citologia						Hematologia		APC	TNF	
	VL (%)	LÇ (%)	MCE (%)	MCG (%)	Eos (%)	Mas (%)	LG (c/mm ³)	PPT (g/dL)	ex vivo TT (UT)	AD Lps	TT Lps
Valores de t											
7,47	1,50	1,37	1,97	1,28	1,85	1,42	1,21	2,31	1,31	2,71	1,41
Número de parâmetros com erro de até 10%						12	Percentuais equivalentes				31,58
Número de parâmetros com mais de 10% de erro						38					68,42

7.5 Resultados Gerais

Quadro 4: Listagem dos sexos, classificação broncoscópica e valores gerais da idade de todos os animais avaliados.

	SEXO	ENDOSCOPIA	IDADE
1	F	G0	22
2	F	G1	8
3	F	G1	12
4	F	G1	21
5	F	G1	20
6	F	G1	5
7	M	G1	8
8	M	G1	8
9	M	G1	7
10	M	G1	7
11	M	G1	19
12	M	G1	-
13	M	G1	-
14	F	G0	21
15	M	G1	3
16	M	G1	5
17	M	G1	4
18	F	G1	4
19	M	G1	5
20	F	G1	-
21	F	G1	8
22	F	G3	20
23	M	G2	19
24	M	G2	7
25	M	G2	22
26	M	G2	22
27	M	G2	10
28	M	G3	5
29	M	G3	16
30	M	G3	6
31	M	G2	21
32	M	G3	-
33	F	G2	4
34	M	G3	19
35	F	G3	-
36	M	G2	4
37	M	G2	5
38	F	G3	4
39	F	G3	19

Quadro 5: Listagem de todos os exames realizados referentes à citologia dos animais avaliados.

	Viabilidade (%)	Volume (%)	Cel/ μ L X 1000	NØ (%)	LØ (%)	MØ (%)	MØE (%)	MØH (%)	MØG (%)	Ept (%)	Eos (%)	Mas (%)
1	92,80	75,00	27,50	4,30	30,60	55,60	18,50	0,00	8,30	3,00	1,00	3,60
2	96,10	67,00	55,00	3,30	63,70	27,70	14,50	10,80	0,30	0,00	0,00	5,00
3	92,60	63,00	35,00	6,70	32,30	58,70	73,80	0,60	0,30	0,00	0,00	2,00
4	94,40	25,00	7,00	3,30	11,00	62,00	5,40	1,00	0,00	20,00	1,00	2,70
5	100,00	50,00	17,50	4,70	45,30	43,00	0,80	0,00	0,70	0,30	3,30	2,70
6	87,30	52,00	30,00	3,00	43,00	50,70	36,00	8,60	1,70	0,00	0,00	1,70
7	92,30	74,00	11,00	3,30	22,00	74,00	0,00	1,40	0,00	0,00	0,30	0,30
8	92,30	51,00	16,50	5,30	37,80	54,50	6,70	18,00	0,30	0,00	0,30	1,70
9	80,00	73,00	17,50	8,30	33,30	56,00	0,60	0,00	1,30	0,00	0,30	0,70
10	96,50	74,00	15,00	3,60	34,30	53,00	33,30	7,00	0,70	0,30	0,30	1,70
11	95,80	72,00	31,50	11,00	37,60	46,70	13,60	10,70	0,30	0,00	0,30	4,00
12	100,00	71,00	27,00	11,60	47,70	34,00	10,70	2,00	0,30	0,00	0,70	6,00
13	100,00	50,00	12,00	10,00	21,70	64,60	28,90	0,50	0,70	2,00	0,00	1,00
14	95,10	62,00	29,50	14,70	42,00	39,60	54,60	10,00	0,00	0,00	0,30	1,00
15	100,00	63,00	16,50	8,00	28,70	59,30	67,00	0,60	33,0	2,30	0,00	1,30
16	85,00	50,00	30,00	6,70	24,60	66,00	25,30	14,10	0,00	0,30	0,00	2,30
17	87,50	54,00	26,00	7,20	24,70	66,20	8,20	1,00	0,40	0,00	0,00	2,50
18	90,30	56,00	21,50	4,60	20,80	65,60	7,00	0,00	0,00	0,00	0,00	8,90
19	80,70	59,00	11,00	8,00	12,30	72,00	14,80	0,50	0,30	2,30	2,00	3,00
20	81,80	65,00	17,50	6,60	22,00	56,30	16,00	0,00	0,00	13,30	0,30	1,30
21	-	-	-	11,00	21,20	63,00	23,80	0,80	0,60	0,00	1,80	2,00
22	-	-	-	3,20	36,60	55,40	1,20	0,00	0,40	0,00	0,40	0,80
23	-	-	-	5,20	69,40	17,40	23,00	1,00	0,80	0,20	0,20	0,20
24	-	-	-	3,40	45,60	38,00	13,18	0,20	0,40	1,60	0,00	5,00
25	-	-	-	5,70	54,70	47,70	33,00	0,00	0,66	0,00	0,00	3,33
26	-	-	-	11,60	30,60	60,00	21,60	3,00	0,80	0,20	0,20	3,40
27	-	-	-	3,70	29,70	73,00	17,80	3,00	0,00	0,00	0,00	6,70
28	-	-	-	3,40	41,20	52,60	8,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,80
29	-	-	-	7,66	38,66	50,60	19,70	0,00	0,00	0,00	0,33	2,66
30	-	-	-	2,60	37,20	51,20	0,00	4,00	0,40	2,40	1,40	4,80
31	-	-	-	17,80	29,00	52,40	24,00	1,60	0,60	0,20	0,00	0,00
32	-	-	-	6,66	28,00	62,30	32,00	0,70	0,00	0,00	0,00	3,00
33	-	-	-	6,33	25,66	64,00	31,70	0,30	0,66	0,00	0,33	3,00
34	-	-	-	3,33	29,00	65,33	6,00	1,00	0,33	1,00	0,00	1,00
35	-	-	-	0,70	20,00	59,00	57,00	0,24	0,00	3,20	0,50	5,20
36	-	-	-	7,00	21,00	70,30	37,90	1,00	0,00	0,00	0,00	1,66
37	-	-	-	0,00	38,00	48,30	13,80	1,70	0,00	8,66	0,66	4,33
38	-	-	-	8,30	28,30	56,00	41,00	2,30	0,66	0,00	0,00	6,66
39	-	-	-	6,00	21,60	66,30	28,00	0,33	2,00	0,00	1,00	2,60

Quadro 6: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises hematológicas dos animais avaliados.

	LG (cel x1000 / mm ³)	VG (%)	PPT (g/dL)	Fib (mg/dL)	Bas (%)	Eos (%)	Bast (%)	Neut (%)	Linf (%)	N:L	Mon (%)
1	7,60	31,00	6,50	300,00	0,00	0,00	0,00	39,00	60,00	0,65	1,00
2	14,40	33,00	6,40	400,00	0,00	1,00	1,00	79,00	15,00	5,20	4,00
3	11,60	28,00	6,40	400,00	0,00	2,00	0,00	68,00	30,00	2,30	0,00
4	6,30	33,00	6,60	300,00	0,00	0,00	0,00	44,00	55,00	0,80	1,00
5	8,00	25,00	6,80	600,00	0,00	1,00	0,00	39,00	59,00	0,70	1,00
6	9,80	29,00	6,80	400,00	0,00	1,00	0,00	50,00	48,00	1,00	1,00
7	7,00	31,00	7,00	200,00	1,00	2,00	0,00	40,00	66,00	0,60	1,00
8	6,50	32,00	7,00	600,00	3,00	2,00	0,00	45,00	47,00	0,96	3,00
9	5,80	35,00	7,00	600,00	0,00	2,00	0,00	61,00	34,00	1,80	3,00
10	5,20	31,00	6,40	600,00	0,00	1,00	0,00	64,00	35,00	1,80	0,00
11	7,50	30,00	7,20	500,00	1,00	1,00	0,00	75,00	20,00	3,75	3,00
12	7,90	34,00	7,20	300,00	0,00	1,00	0,00	60,00	39,00	1,50	0,00
13	10,00	37,00	7,00	400,00	1,00	1,00	0,00	64,00	30,00	2,10	4,00
14	4,80	30,00	7,40	600,00	0,00	0,00	0,00	70,00	30,00	2,30	0,00
15	12,00	30,00	6,20	200,00	1,00	1,00	0,00	65,00	33,00	1,96	0,00
16	5,40	28,00	7,00	400,00	0,00	2,00	0,00	56,00	38,00	1,50	4,00
17	7,20	31,00	6,60	400,00	0,00	1,00	0,00	58,00	41,00	1,40	0,00
18	11,50	42,00	7,20	600,00	0,00	1,00	0,00	62,00	34,00	1,80	3,00
19	6,40	32,00	7,00	400,00	0,00	0,00	0,00	49,00	51,00	0,96	0,00
20	6,80	32,00	7,00	400,00	0,00	1,00	0,00	66,00	32,00	2,00	1,00

Quadro 7: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises da APC dos animais avaliados.

	APC <i>ex-vivo</i> AD	APC <i>ex vivo</i> TT	APC AD	APC AD Lps	APC TT	APC TT Lps
1	22,23	20,56	63,51	67,42	60,03	63,51
2	13,99	15,15	47,11	49,23	54,10	45,17
3	14,55	16,78	22,69	31,07	29,40	35,05
4	47,11	40,19	25,92	23,18	38,77	35,05
5	24,20	29,40	24,77	33,96	26,55	32,94
6	18,48	23,18	24,20	21,37	20,56	29,40
7	21,37	23,18	27,90	31,07	25,32	31,07
8	12,55	22,23	18,48	22,23	20,18	26,55
9	15,81	19,47	45,17	56,91	43,38	60,03
10	15,37	16,53	45,17	56,91	35,05	47,11
11	15,07	18,80	49,23	51,55	54,10	51,55
12	20,56	25,32	25,32	27,21	25,32	27,90
13	24,20	31,98	40,19	43,38	43,38	40,19
14	18,80	23,47	56,91	63,51	56,91	63,51
15	35,05	26,55	24,75	28,63	25,92	31,07
16	17,04	24,20	43,38	41,73	41,73	51,55
17	26,55	31,07	36,21	38,77	33,96	40,19
18	14,17	16,04	45,17	40,19	41,73	43,38
19	22,69	37,44	36,21	41,73	33,96	47,11
20	23,18	22,23	31,07	32,94	26,55	33,96

Quadro 8: Listagem de todos os exames realizados referentes às análises do *TNF* e *NO* dos animais avaliados.

	TNF AD	TNF AD Lps	TNF TT	TNF TT Lps	NO AD	NO AD Lps	NO TT	NO TT Lps
1	150,00	< 0,25	0,25	7,30	< 0,30	18,00	< 0,30	< 0,30
2	172,80	24,40	< 0,25	< 0,25	1,00	0,80	< 0,30	< 0,30
3	132,80	95,70	74,80	65,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
4	< 0,25	76,08	< 0,25	90,00	< 0,30	1,20	< 0,30	< 0,30
5	147,80	72,75	26,08	12,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
6	< 0,25	31,00	< 0,25	45,60	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
7	< 0,25	< 0,25	< 0,25	11,50	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
8	149,40	17,75	56,00	< 0,25	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
9	128,20	< 0,25	57,75	< 0,25	25,30	< 0,30	9,30	< 0,30
10	< 0,25	< 0,25	< 0,25	64,00	5,40	22,60	42,30	3,00
11	129,40	86,10	< 0,25	8,60	< 0,30	0,30	< 0,30	< 0,30
12	190,00	< 0,25	< 0,25	57,00	< 0,30	< 0,30	0,70	< 0,30
13	< 0,25	< 0,25	< 0,25	0,70	2,00	< 0,30	< 0,30	< 0,30
14	196,00	120,00	< 0,25	79,40	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
15	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,25	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
16	42,00	3,60	1,00	< 0,25	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
17	< 0,25	33,20	< 0,25	102,00	< 0,30	< 0,30	8,80	30,00
18	222,00	84,40	121,00	37,80	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
19	187,80	82,80	87,00	40,70	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30
20	235,30	162,30	78,60	81,00	< 0,30	< 0,30	< 0,30	< 0,30